



ISMJ 2014; 17(4): 666-675

دوماهنامه طب جنوب

پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

سال هفدهم، شماره ۴، صفحه ۶۷۵ - ۶۶۶ (مهر و آبان ۱۳۹۳)

بررسی ارتباط بین عفونت ویروس اپشتن بار با بیماری اسکلروز متعدد

رضا طاهرخانی^۱، فاطمه فرشادپور^{۱*}، علی میرجلیلی^۴، رویا امیری نژاد^۲

^۱ گروه میکروبی شناسی و انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

^۲ مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

^۳ مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

^۴ گروه بیوتکنولوژی، انستیتو تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، البرز، ایران

(دریافت مقاله: ۹۱/۲/۲۳ - پذیرش مقاله: ۹۱/۴/۱)

چکیده

زمینه: اسکلروز متعدد (MS) بیماری دمیلینه کننده‌ی مزمن سیستم عصبی مرکزی است که خودایمنی علیه میلین در بیماری‌زایی آن نقش دارد. عفونت با ویروس‌های شایع خصوصاً ویروس اپشتن-بار (EBV) احتمالاً در پاتوبیولوژی MS نقش دارد. مطالعات اپیدمیولوژی بیانگر ارتباط میان عفونت EBV و خطر بیماری MS می‌باشند. هدف از این پژوهش تعیین شیوع آنتی‌بادی IgG علیه آنتی ژن کپسید EBV در سرم دو گروه بیماران مبتلا به MS و گروه افراد سالم، یکسان نظر سن و جنس، بود.

مواد و روش‌ها: میزان شیوع آنتی‌بادی IgG علیه آنتی‌ژن کپسید (VCA) ویروس اپشتن-بار (EBV) توسط سه آزمون شامل دو آزمون الایزا و یک آزمون ایمنوفلورسنس غیرمستقیم (IFA) در گروه بیماران MS (۲۱ بیمار) و گروه کنترل (۱۰۵ فرد سالم) ارزیابی و با یکدیگر مقایسه گردید. داده‌ها به صورت میانگین، درصد و نمودار گزارش شدند و از آزمون t-test و نرم افزار SPSS ویرایش ۱۵ برای این منظور استفاده گردید.

یافته‌ها: به وسیله آزمون IFA، ۱۰۰ درصد بیماران MS از نظر آنتی‌بادی IgG اختصاصی EBV VCA مثبت بودند در حالی که در گروه کنترل ۹۳/۵ درصد مثبت بودند. در گروه کنترل به وسیله کیت الایزا تجاری و الایزا طراحی شده به ترتیب ۹۱/۴ درصد و ۹۰/۴ درصد مثبت بودند و در گروه بیماران MS با هر دو آزمون الایزا ۹۵/۲ درصد از نظر آنتی‌بادی IgG اختصاصی EBV VCA مثبت بودند. در آزمون‌های الایزا جذب نوری (OD) نمونه‌های سرمی بیماران MS نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بالاتر بود که نشان‌دهنده تیتراژ بالاتر آنتی‌بادی می‌باشد. علاوه بر این در آزمون IFA درصد سلول‌های فلورسنت مثبت در نمونه‌های سرم بیماران MS نسبت به گروه کنترل بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج بیانگر این است که احتمالاً ویروس EBV از نظر سرواپیدمیولوژیکی با بیماری MS در ارتباط می‌باشد.

واژگان کلیدی: ویروس اپشتن-بار، مولتیپل اسکلروز، الایزا، ایمنوفلورسنس

* بوشهر، گروه میکروبی شناسی و انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

مقدمه

علاوه بر این به تعویق افتادن عفونت‌های ویروسی تا دوران بلوغ و پس از آن، مانند EBV، که مربوط به دوران کودکی می‌باشد احتمالاً با بیماری MS همراهی دارد (۷).

در بسیاری از این پژوهش‌ها، پاسخ آنتی‌بادی علیه EBV در ۹۹ تا ۱۰۰ درصد بیماران مبتلا به MS وجود داشته است، در حالی که این میزان در گروه کنترل ۸۴ تا ۹۵ درصد است (۱۰-۸). علاوه بر این میانگین هندسی تیتراژ آنتی‌بادی‌های علیه EBV در بیماران مبتلا به MS نسبت به گروه کنترل بسیار بالاتر بوده است. احتمالاً افزایش سطح این آنتی‌بادی‌ها با افزایش خطر پیشرفت MS نیز مرتبط است (۷ و ۱۱). بنابراین بررسی پاسخ آنتی‌بادی علیه ویروس اپشتن بار در بیماران MS در چارچوب مطالعه‌ای موردی-شاهدی و به‌عنوان اولین مطالعه در ایران ضروری به‌نظر می‌رسد. هدف از این پژوهش تعیین شیوع آنتی‌بادی IgG علیه آنتی ژن کپسید EBV در سرم دو گروه بیماران مبتلا به MS و گروه افراد سالم، یکسان از نظر سن و جنس، بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های سرمی بیماران

بدین‌منظور پس از هماهنگی با مسئول آسایشگاه کهریزک و صحبت با بیماران MS و با جلب رضایت آنها، از ۲۱ بیمار مبتلا به MS اقدام به خونگیری از ورید کوبیتال (Cubital Vein) گردید و بعد از جدا کردن سرم بیماران (در آزمایشگاه کهریزک)، همه سرم‌ها در کنار یخ خشک به موسسه رازی منتقل گردید و در ظرف ۲۴ ساعت مورد آزمایش قرار گرفت. از ۲۱ بیمار مبتلا به MS که بیماری آنها کاملاً تأیید شده بود، ۵ مورد مرد با میانگین سنی ۴۰ سال (از ۲۶ تا ۶۸ سال) و ۱۶ مورد زن با میانگین سنی ۳۹

اسکروز متعدد (Multiple Sclerosis-MS) بیماری التهابی سیستم عصبی مرکزی است، که عمدتاً ماده سفید را درگیر می‌کند و با تخریب میلین و ایجاد ساختاری به نام پلاک همراه است (۱).

مکانیسم شکل‌گیری MS و علل پدیدآورنده آن موضوع پیچیده‌ای می‌باشد. عوامل زیادی مانند واکنش خودایمنی، فاکتورهای محیطی، عوامل عفونی، عوامل ژنتیکی، آسیب به سد خونی-مغزی، اتفاقات بیوشیمیایی در رحم، رژیم غذایی و کمبود ویتامین مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (۲ و ۳).

عوامل ویروسی و باکتریایی زیادی به‌عنوان عامل سببی MS پیشنهاد شده‌اند، اما تاکنون هیچ عامل قطعی برای این بیماری مشخص نشده است (۲ و ۳). با توجه به اینکه در مراحل اولیه بیماری MS دوره‌های عود و بهبودی (Relapsing-remitting) دیده می‌شود، از سویی فعال شدن دوره‌های بیماری یک ویژگی برجسته هرپس ویروس‌ها است. این موضوع می‌تواند توجیه‌کننده نقش احتمالی این ویروس‌ها در بیماری‌زایی MS باشد. با این وجود ویروس‌هایی که بتوانند عفونت پایدار یا نهفته در سیستم عصبی مرکزی یا سیستم ایمنی ایجاد کنند، می‌توانند به‌عنوان عامل احتمالی در ایجاد یک اختلال عصبی مزمن مانند بیماری MS مطرح شوند. عفونت اولیه EBV با تخریب میلین عصب همراه است، بنابراین ویروس EBV می‌تواند به‌عنوان عامل سببی MS پیشنهاد شود (۴ و ۵).

علاوه بر این بررسی‌های اپیدمیولوژیک بیانگر ارتباط EBV و بیماری MS است و افزایش خطر MS در افرادی با یک تاریخچه‌ای از منونوکلئوز عفونی وجود دارد (۶).

سال (از ۲۰ تا ۶۵ سال) بودند و میانگین دوره بیماری آن‌ها ۱۲/۷ سال (از ۲/۸ تا ۲۶ سال) بود.

جمع‌آوری سرم‌ها از گروه کنترل

بدین‌منظور ۱۰۵ نمونه سرمی از افرادی که به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی برای Check up مراجعه کرده بودند و از نظر بیماری MS یا سایر بیماری‌های عصبی منفی بودند دریافت شد و در دما ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز گردید و بعد از کامل شدن تعداد نمونه‌ها، تمامی آن‌ها طی ۴۸ ساعت مورد آزمایش قرار گرفت. در این بررسی به ازای هر نمونه بیمار، ۵ نفر به‌عنوان گروه کنترل انتخاب گردید، که از نظر سن و جنس با گروه مورد (بیماران) یکسان (Matched) بودند.

در تمامی آزمون‌ها از کنترل منفی و کنترل مثبت استفاده شد همچنین تمامی نمونه‌ها در آزمون الایزا به‌صورت دابل آزمایش شدند. در آزمون IFA سرم بیماران در رقت‌های ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ و سرم گروه کنترل در رقت ۱/۱۰ مورد آزمایش قرار گرفت. در آزمون IFA از اسلایدهای حاوی سلول‌های P3HR1 آلوده به EBV (شرکت Virusys Corporation) بنابر دستورالعمل شرکت انجام شد. همچنین از کشت سلول‌های B95.8 و تهیه سوسپانسیون سلولی برای این منظور استفاده گردید (۱۲). داده‌ها به‌صورت میانگین، درصد و نمودار گزارش شدند که برای این منظور از نرم‌افزار SPSS (SPSS USA, II, Chicago, Inc) ویرایش ۱۵ استفاده شد.

بررسی‌های آزمایشگاهی

تمامی نمونه‌های سرمی با سه آزمون، الایزا طراحی شده، الایزا تجاری اکوئی پار-ایتالیا

جدول ۱) مشخصات بیماران MS

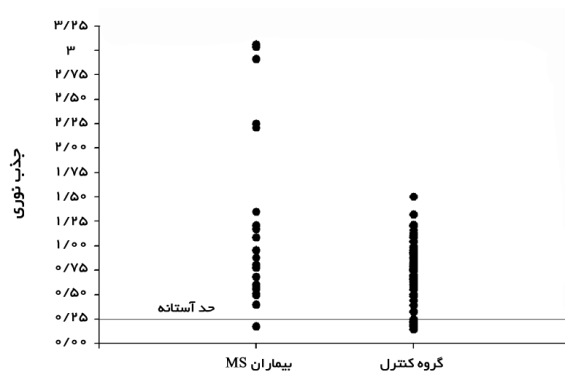
وضعیت تاهل (تعداد)	شغل (تعداد)	میزان تحصیلات	محل سکونت	سن (میانگین / دامنه)	جنس (تعداد/درصد)								
۱۷	۴	۴	۷	۵	۱۰	۸	۱۰	۴	۱۷	۲۳/۸) ۵	۲۶/۲) ۱۶	۴۰) ۲۶ تا ۶۸ سال)	۳۹) ۲۰ تا ۶۵ سال)

یافته‌ها

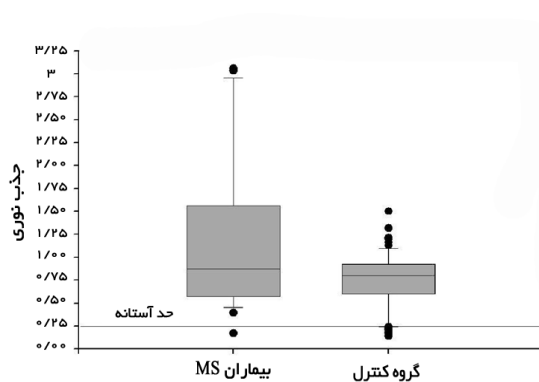
جداول (۲، ۳ و ۴) نتایج هر سه آزمون الایزا طراحی شده، الایزا تجاری اکوئی پار-ایتالیا و آزمون IFA را نشان می‌دهد. در آزمون ایمنوفلورسانس برعکس گروه کنترل، آنتی‌بادی علیه EBV در ۱۰۰ درصد بیماران MS مثبت بود در حالی‌که در گروه کنترل ۹۳/۳ درصد مثبت بودند. در آزمون الایزا طراحی شده ۹۵/۲ درصد از گروه بیماران مثبت بودند، در حالی‌که ۹۰/۴ درصد از گروه

کنترل مثبت بودند. در آزمون الایزا تجاری اکوئی پار-ایتالیا ۹۵/۲ درصد از گروه بیماران مثبت بودند. علاوه‌بر این جذب نوری نمونه‌های سرمی بیماران MS در آزمون‌های الایزا بالاتر از جذب نوری نمونه‌های سرمی گروه کنترل است که بیانگر تیترا بالاتر آنتی‌بادی IgG علیه EBV VCA در گروه بیماران می‌باشد.

نوری (OD) در گروه بیماران MS در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد (نمودار ۱ و ۲).



نمودار (۱) مقایسه جذب نوری (OD) نمونه‌های سرمی در گروه بیماران MS با گروه کنترل در آزمون الایزا تجاری EBV-VCA IgG



نمودار (۲) مقایسه جذب نوری (OD) نمونه‌های سرمی در گروه بیماران MS با گروه کنترل در آزمون الایزا طراحی شده EBV-VCA IgG

جدول ۲) یافته‌های بررسی آنتی‌بادی IgG علیه آنتی‌ژن کپسید ویروس اپشتین-بار در بیماران اسکروز متعدد (۲۱ بیمار) و گروه کنترل (۱۰۵ فرد سالم) با سه آزمون الایزا طراحی شده، الایزا تجاری و آزمون ایمونوفلورسنس غیرمستقیم

روش آزمون	گروه دارای اختصاصی anti-VCA IgG (%)	گروه بیماران MS دارای آنتی‌بادی اختصاصی anti-VCA IgG (%)
آزمون الایزا طراحی شده	۹۵ (۹۰/۴)	۲۰ (۹۵/۲)
آزمون الایزا تجاری کوئی پار	۹۶ (۹۱/۴)	۲۰ (۹۵/۲)
آزمون ایمونوفلورسنس غیرمستقیم	۹۸ (۹۳/۳)	۲۱ (۱۰۰)

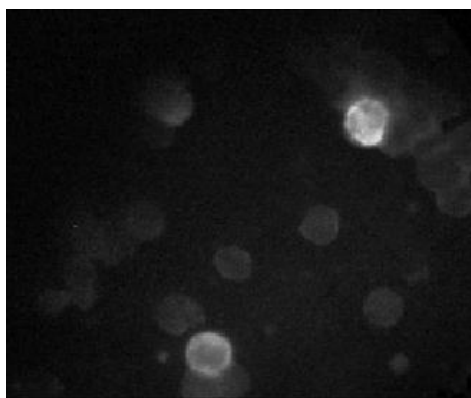
جدول ۳) میزان هم‌خوانی آزمون الایزا طراحی شده در مقایسه با آزمون ایمونوفلورسنس غیرمستقیم (IFA) در گروه کنترل

میزان هم‌خوانی	آزمون IFA		میزان هم‌خوانی
	-	+	
الایزا طراحی شده	۰	۹۵	+
	۷	۳	-
	%۹۷/۱		

جدول ۴) میزان هم‌خوانی آزمون الایزا تجاری در مقایسه با آزمون ایمونوفلورسنس غیرمستقیم (IFA) در گروه کنترل

میزان هم‌خوانی	آزمون IFA		نتایج الایزا تجاری
	-	+	
	۱	۹۵	+
	۶	۳	-
	%۹۶/۱		

در آزمون IFA سرم بیماران MS با رقت‌های ۱/۱۰ تا ۱/۸۰ آزمایش شدند که در تمام این رقت‌ها حدود ۱۰ درصد از سلول‌ها فلورسنت مثبت بودند در حالی که در گروه کنترل که سرم‌ها تنها با رقت ۱/۱۰ استفاده شدند، در بیشتر نمونه‌ها کمتر از ۱۰ درصد سلول‌ها مثبت بودند. به منظور بررسی آماری یافته‌های جذب نوری حاصل از سنجش‌های الایزا از آزمون t-test استفاده گردید. فاصله اطمینان (interval Confidence) ۹۵ درصد و ($P < 0.001$) بود و یک اختلاف معنی‌دار آماری در میزان جذب

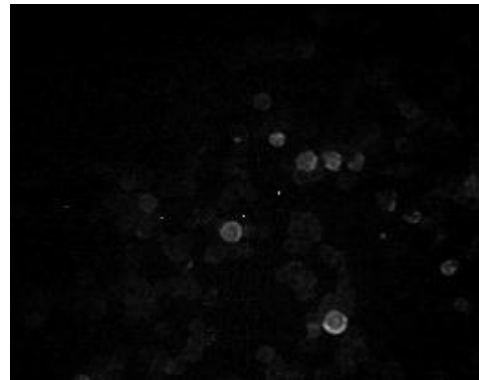


الف) واکنش مثبت آزمون IFA برای آنتی‌بادی IgG اختصاصی EBV VCA در سلول‌های B95.8

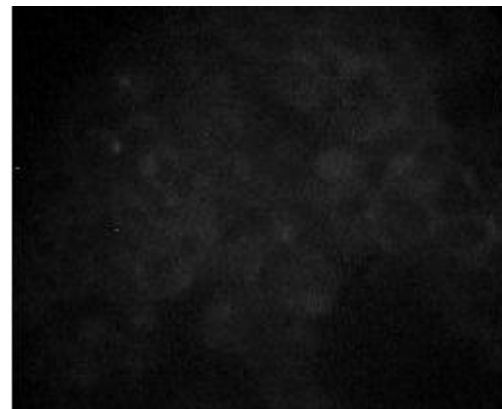
به‌عنوان عامل سببی MS پیشنهاد شود (۱۷-۱۵). متأسفانه در ایران مطالعه‌ای در مورد ارتباط بین EBV و بیماری MS چه از نظر اپیدمیولوژیکی و چه از نظر اتیولوژیکی انجام نشده است و داده‌ای در مورد آن وجود ندارد. حضور آنتی‌بادی IgG در سرم علیه آنتی‌ژن کپسید بیانگر تاریخچه‌ای از عفونت EBV است (۱۸ و ۱۹). اولین بار ارتباط میان EBV و MS ۳۱ سال قبل توسط وارنر (Warne) و همکاران (۱۹۸۱) پیشنهاد شد (۲۰).

در بررسی انجام شده توسط میر (Myhr) و همکاران (۱۹۹۸) مشخص گردید که ۹۷/۹ درصد از بیماران MS آنتی‌بادی IgG علیه آنتی‌ژن EBV VCA را داشتند در حالی که در گروه کنترل این میزان ۸۱/۲ درصد بود. در حالی که شیوع آنتی‌بادی IgG علیه سایر هرپس ویروس‌ها (CMV، HSV و VZV) در بین گروه بیماران و گروه کنترل یکسان بود (۸). الوتایی (Alotaibi) و همکاران (۲۰۰۴) در پژوهشی موردی-شاهدی مشخص نمودند، که ۸۳ درصد از کودکان اسکروز متعدد در مقایسه با ۴۲ درصد از گروه کنترل از نظر عفونت EBV مثبت بودند. یافته‌های این بررسی نیز پیشنهاد کننده‌ی ارتباط EBV و بیماری MS می‌باشد (۲۱).

در بررسی انجام شده توسط لارسن (Larsen) و همکاران با آزمون ایمنوفلورسانس، مشخص گردید که آنتی‌بادی علیه VCA در ۱۰۰ درصد از بیماران MS وجود دارد در حالی که در گروه کنترل ۸۴ درصد مثبت بودند، علاوه بر آن تیتراژ آنتی‌بادی در گروه بیماران به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل است (۲۲). کینونن (Kinnunen) و همکاران مشخص کردند که آنتی‌بادی علیه EBV در دوقلوهای مبتلا به MS نسبت به دوقلوهای سالم و فور بالای دارد (۲۳).



ب) واکنش مثبت آزمون IFA برای آنتی‌بادی IgG اختصاصی EBV VCA در سلول‌های P3HR1



ج) واکنش منفی آزمون IFA برای آنتی‌بادی IgG اختصاصی EBV VCA در سلول‌های B95.8

بحث

بیماری مزمن دمی‌لینه شدن CNS می‌باشد که اتو آنتی‌بادی علیه میلین نقش اصلی را در پاتوژنز بازی می‌کند. مکانیسم شکل‌گیری MS و علل پدیدآورنده‌ی آن موضوع پیچیده‌ای می‌باشد (۱).

عوامل گوناگونی به‌عنوان عوامل سببی MS پیشنهاد شده‌اند از جمله می‌توان به عفونت‌های ویروسی اشاره کرد (۲ و ۳). ویروس‌هایی که بتوانند عفونت پایدار یا نهفته در سیستم عصبی مرکزی یا سیستم ایمنی ایجاد کنند، می‌توانند به‌عنوان عامل احتمالی در ایجاد یک اختلال عصبی مزمن مانند بیماری MS مطرح شوند (۱۳ و ۱۴). عفونت اولیه EBV با تخریب میلین نرون‌ها همراه است، بنابراین ویروس EBV می‌تواند

که MS می‌تواند به‌وسیله عفونت‌های شایع و گسترده (Ubiquitous infection) پس از کودکی یا اوایل جوانی، در افرادی که از نظر ژنتیکی مستعدند در نتیجه القاء یک پاسخ ایمنی ایجاد گردد. این فعال سازی می‌تواند به‌وسیله پپتیدهای EBV که توالی مشابه با اپی‌توپ‌های میلین دارد ایجاد شود (۳۱ و ۳۲). چندین عامل باعث می‌شود که EBV از نظر زیستی به‌عنوان عامل احتمالی در بیماری‌زایی MS نقش بازی کند (۲۸، ۳۲، ۳۴ و ۳۶).

عفونت EBV باعث آلودگی پایدار در لنفوسیت‌های B می‌گردد، سلول‌های T برای تمام عمر لنفوسیت‌های B آلوده را تحت نظر دارد ولی حضور سلول‌های T پاسخ‌دهنده به آنتی‌ژن‌های EBV اساساً بیماری‌زا نیست چون آن‌ها به شکل غیرفعال در بیشتر بالغین سالم EBV مثبت حضور دارند. بیماری‌زایی بالقوه این سلول‌ها احتمالاً نیاز به فعال‌سازی با تقلید مولکولی (Molecular Mimicry) دارد. توالی پنتاپپتیدی در EBNA یافت شده است که توالی آن با یک اپی‌توپ از پروتئین پایه‌ای میلین که یکی از اجزاء اصلی غشاء میلین است شباهت دارد (۲۸ و ۳۲).

علاوه‌بر این EBV بیان سطحی الفا B کریستالین را در لنفوسیت‌های B القاء می‌کند. الفا B کریستالین اخیراً به‌عنوان بخش اصلی اتوآنتی‌ژن شناسایی شده، که به‌طور غیرنرمال در مغز بیماران MS بیان می‌شود. بنابراین قرار گرفتن در معرض عفونت EBV ممکن است منجر به پاسخ ایمنی اشتباه علیه آنتی‌ژن‌های خودی (Self-antigens) در سیستم عصبی مرکزی مانند الفا B کریستالین یا پروتئین پایه‌ای میلین شود (۳۴ و ۳۵).

مشاهده شده که به‌طور خود به‌خودی از سلول‌های تک هسته‌ای بیماران MS، رده‌های سلولی

کامپستون (Compston) و همکاران شیوع پایین‌تری از آنتی‌بادی علیه EBV را در مقایسه با دیگر مطالعات گزارش کردند که ۷۶ درصد در گروه بیماران و ۷۳ درصد در گروه کنترل بود. ولی در این مطالعه گروه بیماران شامل بیماری‌زایی با التهاب عصب بینایی (Optic neuritis)، بیماری‌زایی با ضایعات دمی‌لینه عصب و بیماران مولتیپل اسکروز بودند (۲۴).

به هر حال در سایر مطالعات و در این تحقیق گروه بیماران افرادی بودند که بیماری MS در آن‌ها کاملاً تأیید شده بود. در تعدادی از بررسی‌های موردی-شاهدی مشخص گردید، که بیماران اسکروز متعدد به‌طور معنی‌داری عمدتاً تاریخچه‌ای از عفونت منونوکلئوز عفونی را نسبت به گروه کنترل داشته‌اند. که بیانگر این است که بیماران MS در مقایسه با گروه کنترل در سنین بالاتری در معرض عفونت EBV قرار گرفته‌اند (۶، ۷، ۲۵ و ۲۶).

در بررسی که توسط لوین (Levin) و همکاران انجام گرفت سه میلیون نظامی از نظر عفونت EBV بررسی شدند، یافته‌ها نشان داد که پاسخ قوی از نظر آنتی‌بادی علیه EBV پنج سال پیش از تشخیص MS وجود دارد (۲۷). شیوع سرمی بالا در بیماران MS نسبت به گروه کنترل می‌تواند به‌دلیل تغییر پاسخ ایمنی و یا کاهش فعالیت سرکوب‌کنندگی سیستم ایمنی باشد که در این بیماران توصیف شده است. همچنین می‌تواند بیانگر نقش احتمالی EBV در ایجاد این بیماری باشد (۲۸ و ۲۹). کرگ (Craig) و همکاران گزارش کردند که در بیماران MS، کنترل لنفوسیت‌های T روی لنفوسیت‌های B آلوده به EBV کاهش یافته که ممکن است منجر به فعالیت مجدد عفونت نهفته EBV گردد (۳۰). علاوه‌بر این فعال شدن لنفوسیت‌های T خود واکنش‌گر به‌وسیله EBV این فرضیه را تقویت می‌کند

سرواپیدمیولوژیک EBV با بیماری اسکروز متعدد می‌باشد. همانند پژوهش‌های پیشین که همه بیماران اسکروز متعدد از نظر آنتی‌بادی علیه EBV مثبت بودند (۵، ۶، ۱۰، ۱۸، ۱۹، ۳۱ و ۳۳).

در این مطالعه نیز همین یافته‌ها به دست آمد. افزایش تیتراژ آنتی‌بادی سرم علیه ویروس EBV که چندین سال قبل از تشخیص بیماری رخ می‌دهد باعث گردید که ویروس EBV به‌عنوان عامل احتمالی بیماری‌هایی مانند: لنفوم بورکیت و کارسینوم نازوفارنکس و بیماری هوچکین مطرح شود (۳۹). از سوی افزایش تیتراژ آنتی‌بادی علیه EBV در بیماران مبتلا به اسکروز متعدد (۵، ۱۰ و ۲۱) و همچنین پیش از بروز بیماری MS در این افراد (۶، ۲۷ و ۳۳) مشخص شده است. در این تحقیق میزان جذب نوری در آزمون الیزا در بیماران MS بالاتر از افراد گروه کنترل بود که بیانگر تیتراژ بالا آنتی‌بادی علیه EBV در بیماران MS نسبت به گروه کنترل می‌باشد. در نتیجه می‌توان پیشنهاد نمود که وجود تیتراژ بالایی از آنتی‌بادی علیه EBV و همچنین شیوع بالای آن در بیماران MS احتمالاً بیانگر ارتباط EBV و MS باشد.

سپاس و قدردانی

از همکاری شرکت پیشناز طب زمان و بخش MS مؤسسه سالمندان کهریزک و پرسنل محترم آزمایشگاه تشکر و قدردانی می‌گردد.

References:

1. Pravica V, Popadic D, Savic E, et al. Single nucleotide polymorphisms in multiple sclerosis: disease susceptibility and treatment response biomarkers. *Immunol Res* 2012; 52: 42-52.
2. Loma I, Heyman R. Multiple sclerosis: pathogenesis and treatment. *Curr Neuropharmacol* 2011; 9: 409-16.
3. Milo R, Kahana E. Multiple sclerosis:

لنفوبلاستوئید B (B-Lymphoblastoid cell-line) ایجاد شود در حالی که در افراد سالم ندرتاً این حالت دیده می‌شود که مشخص شده ویروس اپشتن-بار در پایداری لاین‌های سلولی B نقش دارد (۲۸ و ۳۶).

در یکی از بررسی‌های EBV DNA در نمونه‌های سرمی بیماران MS که در دوره‌های عود (Relapsing) بیماری بودند شناسایی گردید در حالی که در بیماران MS که در فاز ثابت بالینی ب قرار دارند EBV DNA در نمونه‌های سرمی آن‌ها وجود ندارد (۳۷). همچنین در پژوهشی کاهش معنی‌داری از وخامت بیماری در بیماران MS در دوره‌های عود و بهبودی (Relapsing-remitting) که با آسیکلوویر درمان شده‌اند، گزارش شده است (۳۸).

بنابراین در صورتی که نقش EBV در بیماری‌زایی MS کاملاً مشخص شود استفاده از دارویی که از تکثیر EBV جلوگیری کند و یا استفاده از واکسن مؤثر و ایمن علیه EBV بایستی از بروز MS یا پیشرفت آن ممانعت کند (۳۸).

در بررسی کنونی تمامی نمونه‌های گروه کنترل و بیماران با سه آزمون الیزا طراحی شده، الیزا تجاری و آزمون ایمنوفلورسانس غیرمستقیم برای تعیین آنتی‌بادی IgG علیه VCA مورد آزمایش قرار گرفتند که میزان هم‌خوانی هر دو آزمون الیزا با آزمون IFA بالا بود.

نتایج بررسی پیش رو تنها بیانگر ارتباط

geopidemiology, genetics and the environment. *Autoimmun Rev* 2010; 9: A387-94.

4. Fujinami RS, von Herrath MG, Christen U, et al. Molecular mimicry, bystander activation, or viral persistence: infections and autoimmune disease. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 80-94.

5. Hon GM, Hassan MS, van Rensburg SJ, et al. Assessment of Epstein-Barr virus in blood

- from patients with multiple sclerosis. *Metab Brain Dis* 2012; 27: 311-8.
6. Simon KC, O'Reilly EJ, Munger KL, et al. Epstein-Barr virus neutralizing antibody levels and risk of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012; 18: 1185-7.
 7. Lucas RM, Hughes AM, Lay ML, et al. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011; 82: 1142-8.
 8. Myhr KM, Riise T, Barrett-Connor E, et al. Altered antibody pattern to Epstein-Barr virus but not to other herpesviruses in multiple sclerosis: a population based case-control study from western Norway. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64: 539-42.
 9. Shirodaria PV, Haire M, Fleming E, Merrett JD, et al. Viral antibody titers. Comparison in patients with multiple sclerosis and rheumatoid arthritis. *Arch Neurol* 1987; 44: 1237-41.
 10. Pohl D, Krone B, Rostasy K, et al. High seroprevalence of Epstein-Barr virus in children with multiple sclerosis. *Neurology* 2006; 67: 2063-5.
 11. Lunemann JD, Edwards N, Muraro PA, et al. Increased frequency and broadened specificity of latent EBV nuclear antigen-1-specific T cells in multiple sclerosis. *Brain* 2006; 129: 1493-506.
 12. Lennete ET. Epstein-barr virus. In: Murry PR BE, Jorgenson JH, Pfaller MA, et al, editors. *Manual Of Clinical Microbiology*. 7th ed. Washington, DC: ASM Press; 2000: p. 905-10.
 13. Christensen T. Human herpesviruses in MS. *Int MS J* 2007; 14: 41-7.
 14. Alvarez-Lafuente R, De las Heras V, Bartolome M, et al. Relapsing-remitting multiple sclerosis and human herpesvirus 6 active infection. *Arch Neurol* 2004; 61: 1523-7.
 15. Goldacre MJ, Wotton CJ, Seagroatt V, et al. Multiple sclerosis after infectious mononucleosis: record linkage study. *J Epidemiol Community Health* 2004; 58: 1032-5.
 16. Torkildsen O, Nyland H, Myrmed H, et al. Epstein-Barr virus reactivation and multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2008; 15: 106-8.
 17. Serafini B, Rosicarelli B, Franciotta D, et al. Dysregulated Epstein-Barr virus infection in the multiple sclerosis brain. *J Exp Med* 2007; 204: 2899-912.
 18. Castellazzi M, Tamborino C, Cani A, et al. Epstein-Barr virus-specific antibody response in cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010; 16: 883-7.
 19. Nielsen TR, Pedersen M, Rostgaard K, et al. Correlations between Epstein-Barr virus antibody levels and risk factors for multiple sclerosis in healthy individuals. *Mult Scler* 2007; 13: 420-3.
 20. Warner HB, Carp RI. Multiple sclerosis and Epstein-Barr virus. *Lancet* 1981; 2: 1290.
 21. Alotaibi S, Kennedy J, Tellier R, et al. Epstein-Barr virus in pediatric multiple sclerosis. *JAMA* 2004; 291: 1875-9.
 22. Larsen PD, Bloomer LC, Bray PF. Epstein-Barr nuclear antigen and viral capsid antigen antibody titers in multiple sclerosis. *Neurology* 1985; 35: 435-8.
 23. Kinnunen E, Valle M, Piirainen L, et al. Viral antibodies in multiple sclerosis. A nationwide co-twin study. *Arch Neurol* 1990; 47: 743-6.
 24. Compston DA, Vakarelis BN, Paul E, et al. Viral infection in patients with multiple sclerosis and HLA-DR matched controls. *Brain* 1986; 109: 325-44.
 25. Marrie RA, Wolfson C, Sturkenboom MC, et al. Multiple sclerosis and antecedent infections: a case-control study. *Neurology* 2000; 54: 2307-10.
 26. Haahr S, Koch-Henriksen N, Moller-Larsen A, et al. Increased risk of multiple sclerosis after late Epstein-Barr virus infection: a historical prospective study. *Mult Scler* 1995; 1: 73-7.
 27. Levin LI, Munger KL, Rubertone MV, et al. Multiple sclerosis and Epstein-Barr virus. *JAMA* 2003; 289: 1533-6.
 28. Lunemann JD, Munz C. EBV in MS: guilty by association? *Trends Immunol* 2009; 30: 243-8.
 29. Sundstrom P, Juto P, Wadell G, et al. An altered immune response to Epstein-Barr virus in multiple sclerosis: a prospective study. *Neurology* 2004; 62: 2277-82.
 30. Craig JC, Haire M, Millar JH, et al. Immunological control of Epstein-Barr virus-transformed lymphocytes in multiple sclerosis. *Clin Immunol Immunopathol* 1983; 29: 86-93.
 31. Salvetti M, Giovannoni G, Aloisi F. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2009; 22: 201-6.
 32. Christensen T. The role of EBV in MS pathogenesis. *Int MS J* 2006; 13: 52-7.
 33. Ascherio A, Munger KL, Lennete ET, et al. Epstein-Barr virus antibodies and risk of

- multiple sclerosis: a prospective study. *JAMA* 2001; 286: 3083-8.
34. van Noort JM, Bajramovic JJ, Plomp AC, et al. Mistaken self, a novel model that links microbial infections with myelin-directed autoimmunity in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2000; 105: 46-57.
35. van Sechel AC, Bajramovic JJ, van Stipdonk MJ, et al. EBV-induced expression and HLA-DR-restricted presentation by human B cells of alpha B-crystallin, a candidate autoantigen in multiple sclerosis. *J Immunol* 1999; 162: 129-35.
36. Haahr S, Munch M. The association between multiple sclerosis and infection with Epstein-Barr virus and retrovirus. *J Neurovirol* 2000; 6: S76-9.
37. Wandinger K, Jabs W, Siekhaus A, et al. Association between clinical disease activity and Epstein-Barr virus reactivation in MS. *Neurology* 2000; 55: 178-84.
38. Lycke J, Svennerholm B, Hjelmquist E, et al. Acyclovir treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis. A randomized, placebo-controlled, double-blind study. *J Neurol* 1996; 243: 214-24.
39. Kieff E. and Rickinson A.B. Epstein-Barr Virus and Replication. In: Knipe DM, Howley P, Griffin DE, Martin MA, et al, editors. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007: p. 2657-700.

Original Article

Determination of the association between Epstein-Barr virus (EBV) infection and Multiple sclerosis (MS) disease

R. Taherkhani ^{1,2}, F. Farshadpour ^{1,3*}, A. Mirjalili ⁴, R. Amirinejad ²

¹Department of Microbiology and Parasitology, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, IRAN

²The Persian Gulf Tropical Medicine Research Center, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, IRAN

³The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, IRAN

⁴Department of Biotechnology, Razi Vaccine & Serum Research Institute, Alborz, IRAN

(Received 12 May, 2012 Accepted 21 Jun, 2012)

Abstract

Background: Multiple sclerosis (MS) is a chronic, demyelinating disease of the CNS in which autoimmunity to myelin plays a role in pathogenesis. Infection with common viruses, particularly Epstein-Barr virus (EBV), is postulated to contribute to the pathobiology of MS. Epidemiological studies suggest an association between infection with EBV and risk of MS. To characterize the IgG antibody to the EBV capsid antigen (EBV VCA), we investigated in a group of 21 patients with MS and 105 age and sex matched controls from Kahrizak.

Material and Methods: The prevalence of anti-EBV VCA IgG was measured by three tests that comprise two Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) and one Indirect Immunofluorescence assay (IFA). The data as mean, percentages and graphs were reported and Student t-test analysis was performed. SPSS software, 15th version, was used for this purpose.

Results: By Indirect Immunofluorescence assay (IFA), the seropositivity rate of anti-EBV VCA IgG in MS patients was 100%, compared with 93.5% in controls. Both our home made ELISA VCA IgG and commercial ELISA VCA IgG kit display in MS patients group 95.2%, compared with 90.4% and 91.4% respectively by two ELISA test in controls group. In ELISA tests, optical density of serum samples was significantly higher in MS patients than in controls. In addition to, in the IFA assay the percentage of positive fluorescent cells with serum samples from MS patients was greater compared to the control group.

Conclusion: The results suggest that EBV has a significant seroepidemiologic association with MS.

Keywords: epstein - Barr virus, ELISA, multiple sclerosis, immunofluorescence

*Address for correspondence: Department of Microbiology and Parasitology, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, IRAN; E-mail: f.farshadpour@yahoo.com