دوماهنامه طبّ 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)

ISMJ 2014; 17(4): 666-675

بررسی ارتباط بین عفونت ویروس اپشتن بار با بیماری اسکلروز متعدد

رضا طاهرخانی[۱و۲]، فاطمه فرشادپور[۱و۳*]، علی میرجلیلی[۴]، رویا امیری‌نژاد[۲]

[۱] گروه میکروب‌شناسی و انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
[۲] مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
[۳] مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، 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 اپشتین-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 به‌صورت میانگین، درصد و نمودار گزارش شدند و از آزمون t-test و نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۵ برای این منظور استفاده گردید.

یافته‌ها: به‌وسیله آزمون IFA، ۱۰۰ درصد بیماران MS از نظر آنتی‌بادی IgG اختصاصی EBV VCA مثبت بودند در حالی‌که در گروه کنترل ۹۳/۵ درصد مثبت بودند. در گروه کنترل به‌وسیله کیت الایزا تجاری و الایزا طراحی شده به‌ترتیب 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 به‌طور معناداری بالاتر بود که نشان‌دهنده تیتر 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 میکروب شناسی و انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر
E-mail: f.farshadpour@yahoo.com

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-07-18]

مقدمه

اسکلروز 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 خودایمن، 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 دوره‌ای بیماری یک ویژگی برجسته هرپس ویروس‌ها است. این موضوع می‌تواند توجیه کننده 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).

علاوه‌بر 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).

علاوه‌بر این به‌تعویق 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 حالی‌که این میزان در گروه کنترل ۸۴ تا ۹۵ درصد است (۱۰–۸). علاوه‌بر این میانگین هندسی تیتر 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

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-07-18]

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.

بررسی‌های آزمایشگاهی

تمامی نمونه‌های سرمی با سه آزمون, الایزا طراحی شده، الایزا تجاری اکوئی پار-ایتالیا (Equipar Diagnostics -Italy) برای تعیین آنتی‌بادی VCA IgG و آزمون ایمنوفلورسانس غیرمستقیم (IFA) به‌عنوان آزمون استاندار طلایی، برای تعیین آنتی‌بادی IgG مورد آزمایش قرار گرفتند.

در تمامی آزمون‌ها از کنترل منفی و کنترل مثبت استفاده شد همچنین تمامی نمونه‌ها در آزمون الایزا به‌صورت دوبل 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 Inc، Chicago، Il، USA) ویرایش ۱۵ استفاده شد.

جدول ۱) مشخصات بیماران MS

جنس تعداد(درصد)		سن (میانگین / دامنه)	محل سکونت			میزان تحصیلات					شغل (تعداد)			وضعیت تاهل (تعداد)	
مرد	زن	مرد	زن	تهران	شهرستانها	سایر	بیسواد	دیپلم	دیپلم	بالاتر از	خانه دار	کارمند	سایرین	مجرد	متاهل
۵ (۲۳/۸)	۱۶(۷۶/۲)	۴۰(۲۶ تا ۶۸ سال)	۳۹(۲۰ تا ۶۵ سال)	۱۷	۴	۱۰	۷	۸	۷	۵	۱۰	۷	۴	۴	۱۷

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, در حالی‌که ۹۱/۴ درصد از گروه کنترل مثبت بودند. علاوه‌بر این جذب نوری نمونه‌های سرمی بیماران MS در آزمون‌های الایزا بالاتر از جذب نوری نمونه‌های سرمی گروه کنترل است که بیانگر تیتر بالاتر آنتی‌بادی IgG علیه EBV VCA در گروه بیماران می‌باشد.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-07-18]

جدول۲) یافته‌های بررسی آنتی‌بادی IgG علیه آنتی‌ژن کپسید ویروس اپشتین-بار در بیماران اسکلروز متعدد (۲۱ بیمار) و گروه کنترل (۱۰۵ فرد سالم) با سه آزمون الایزا طراحی شده، الایزا تجاری و آزمون ایمنوفلورسنس غیرمستقیم

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

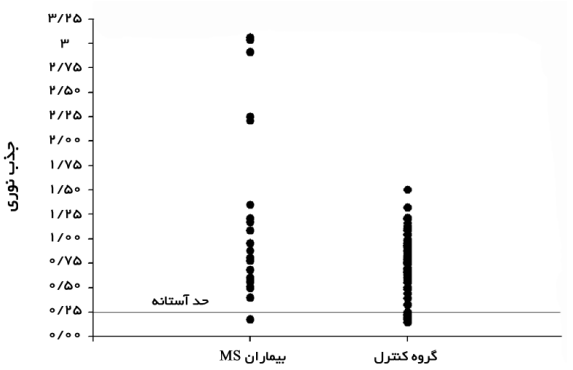
جدول ۳) میزان هم‌خوانی آزمون الایزا طراحی شده در مقایسه با آزمون ایمنوفلورسنس غیرمستقیم (IFA) در گروه کنترل

		آزمون IFA		میزان هم‌خوانی
		+	−	
الایزا طراحی شده	+	۹۵	۰	
	−	۳	۷	٪۹۷/۱

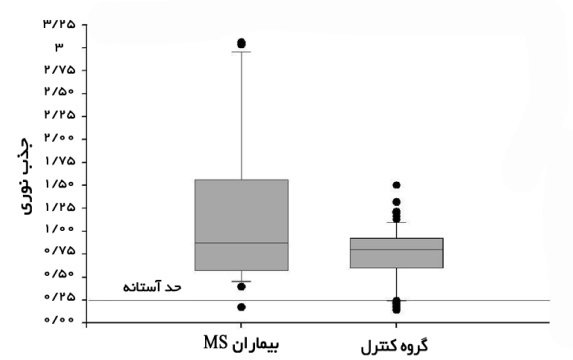
جدول ۴) میزان هم‌خوانی آزمون الایزا تجاری در مقایسه با آزمون ایمنوفلورسنس غیرمستقیم (IFA) در گروه کنترل

		آزمون IFA		میزان هم‌خوانی
		+	−	
نتایج الایزا تجاری	+	۹۵	۱	
	−	۳	۶	٪۹۶/۱

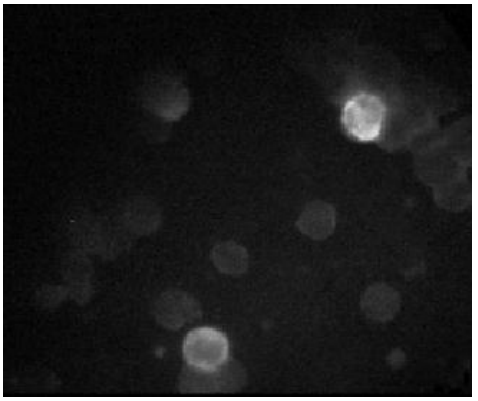
در آزمون IFA سرم بیماران MS با رقت‌های ۱/۱۰ تا ۱/۸۰ آزمایش شدند که در تمام این رقت‌ها حدود ۱۰ درصد از سلول‌ها فلورسنت مثبت بودند در حالی‌که در گروه کنترل که سرم‌ها تنها با رقت ۱/۱۰ استفاده شدند، در بیشتر نمونه‌ها کمتر از ۱۰ درصد سلول‌ها مثبت بودند. به‌منظور بررسی آماری یافته‌های جذب نوری حاصل از سنجش‌های الایزا از آزمون t-test استفاده گردید. فاصله اطمینان (interval Confidence) ۹۵ درصد و (P<۰/۰۰۱) بود و یک اختلاف معنی‌دار آماری در میزان جذب نوری (OD) در گروه بیماران MS در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد (نمودار ۱ و ۲).



نمودار۱) مقایسه جذب نوری (OD) نمونه‌های سرمی در گروه بیماران MS با گروه کنترل در آزمون الایزا تجاری EBV-VCA IgG

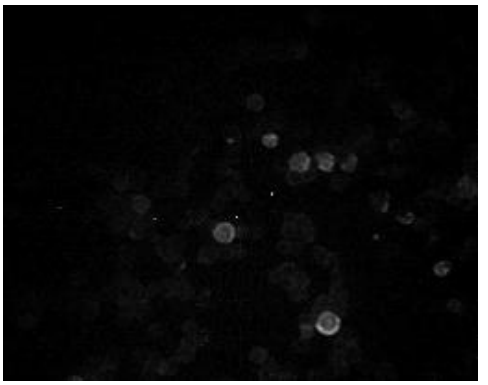


نمودار۲) مقایسه جذب نوری (OD) نمونه‌های سرمی در گروه بیماران MS با گروه کنترل در آزمون الایزا طراحی شده EBV-VCA IgG

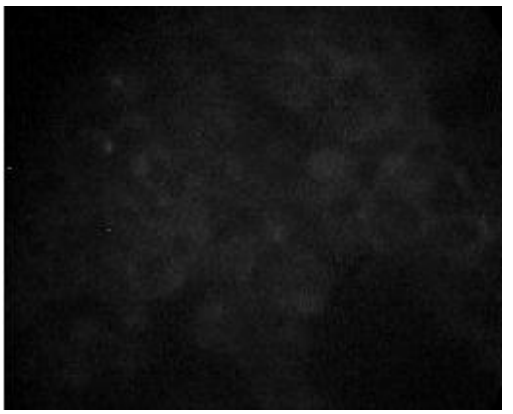


الف) واکنش مثبت آزمون IFA برای آنتی‌بادی IgG اختصاصی EBV VCA در سلول‌های $B_{95.8}$

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-07-18]



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 دِمیلینه 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 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 حالی‌که در گروه کنترل این میزان ۸۱/۲ درصد بود. در حالی‌که شیوع آنتی‌بادی IgG علیه سایر هرپس ویروس‌ها (CMV، HSV و VZV) در بین گروه بیماران و گروه کنترل یکسان بود (۸). الوتایبی (Alotaibi) و همکاران (۲۰۰۴) در پژوهشی موردی-شاهدی مشخص نمودند, که ۸۳ درصد از کودکان اسکلروز 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 حالی‌که در گروه کنترل ۸۴ درصد مثبت بودند، علاوه‌بر آن تیتر 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 وفور بالایی دارد (۲۳).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-07-18]

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 بیمارانی با التهاب عصب بینایی (Optic neuritis)، بیمارانی با ضایعات دِمیلینه عصب و بیماران مولتیپل اسکلروز 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 اسکلروز 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 سرکوب کنندگی 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 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 کهEBV 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 سالمِ 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 آنتی ژن‌های 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

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-07-18]

لنفوبلاستوئید B (B-Lymphoblastoid cell-line) ایجاد شود در حالی‌که 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 حالی‌که 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 الایزا طراحی شده، الایزا تجاری و آزمون ایمنوفلورسانس غیرمستقیم برای تعیین آنتی‌بادی IgG علیه VCA مورد آزمایش قرار گرفتند که میزان هم‌خوانی هر دو آزمون الایزا با آزمون IFA بالا بود.

نتایج بررسی پیش رو تنها بیانگر ارتباط سرواپیدمیولوژیک EBV با بیماری اسکلروز متعدد می‌باشد. همانند پژوهش‌های پیشین که همه بیماران اسکلروز متعدد از نظر آنتی‌بادی علیه EBV مثبت بودند (۵، ۶، ۱۰، ۱۸، ۱۹، ۳۱ و ۳۳).

در این مطالعه نیز همین یافته‌ها به‌دست آمد . افزایش تیتر 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 سویی افزایش تیتر آنتی‌بادی علیه EBV در بیماران مبتلا به اسکلروز 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 الایزا در بیماران MS بالاتر از افراد گروه کنترل بود که بیانگر تیتر بالا آنتی‌بادی علیه EBV در بیماران MS نسبت به گروه کنترل می‌باشد. در نتیجه می‌توان پیشنهاد نمود که وجود تیتر 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 پیشتاز 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: geoepidemiology, 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

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-07-18]

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, Myrmel 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, Lennette ET, et al. Epstein-Barr virus antibodies and risk of

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-07-18]

multiple sclerosis: a prospective study. JAMA 2001; 286: 3083-8.
34.van Noort JM, Bajramovic JJ, Plomp AC, vet 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. Epstain-Barr Virus and Replication. In: Knipe DMHPM, Griffin DE, Martin MA, et al, editors. Fields Virology. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & wilkins; 2007: p. 2657-700.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-07-18]

ISMJ 2014; 17(4): 666-675

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]

[1] Department of Microbiology and Parasitology, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, IRAN
[2] The Persian Gulf Tropical Medicine Research Center, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, IRAN
[3]The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, IRAN
[4] Department 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 Immunfluorescence 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 Immunfluorescence 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

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-07-18]