



تعیین میزان شیوع عفونت ویروس HGV در مبتلایان به سرطان خون

رامین یعقوبی^{۱*}، میترا میرزایی^۱، مانی رمزی^۳، مرجان شاه‌ایلی^۴

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

^۲ گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی جهرم

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

^۴ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارسنجان

چکیده

زمینه: عفونت ویروس‌های ایجاد کننده هپاتیت به دلیل پتانسیل ایجاد عفونت‌های حاد و مزمن در لکوسیت‌های خونی و به خصوص لنفوسیت‌ها یکی از علل احتمالی چالش برانگیز در بیماران مبتلا به انواع سرطان‌های خون محسوب می‌گردند. امروزه از میان ویروس‌های مختلف ایجادکننده هپاتیت ویروس HGV به دلیل 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 مراجعه‌کننده 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 HBV، HGV و HCV آنتی‌ژن و آنتی بادی‌های ضد این ویروس‌ها با آزمایش ELISA بررسی گردید. همچنین وجود ویروس HGV با آزمایش Nested-RT-PCR بر روی نمونه‌های افراد بیمار و گروه کنترل آزمایش گردید.

یافته‌ها: آنتی‌بادی ضد آنتی ژن E2 ویروس HGV (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 HBV و HCV 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 HBV (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 خطر ساز و ایجاد عفونت HGV در افراد بیمار روابط معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: در این بررسی میزان شیوع پایین عفونت غیرفعال و فعال 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 جمعیت‌های وسیع‌تر مبتلا به نقص‌ها و بدخیمی‌های خونی به منظور مدیریت تشخیصی و درمانی صحیح‌تر این گروه از سرطان‌ها جلب کند.

واژگان کلیدی: HBV، HGV و HCV، سرطان‌های خون

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

*شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی

E-mail: rayaviro@yahoo.com

مقدمه

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 خطر ساز و تسهیل‌کننده سرطان خون تأکید دارند (۱ و ۲). با توجه به شیوع بالا ویروس‌های HCV و HBV در جامعه بیشتر مطالعات بر روی 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 ایمنولوژیک 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 و پرویده 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 ایکتریک 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 داخل وریدی و همودیالیز منتقل می‌شود. بنابراین گروه‌های در معرض خطر ابتلا به عفونت این ویروس شامل

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 آلوده به عفونت HGV می‌باشند (۸-۱۰). 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 آلوده 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 آلودگی به عفونت HGV در اهدا کنندگان خون در کشورهای مختلف دنیا و از جمله ایران (به غیر 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 ۱۳-۱۱). 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 عفونت‌زایی این ویروس در لکوسیت‌های خونی و به خصوص لنفوسیت‌ها در ایجاد و یا تشدید علائم بالینی مبتلایان به سرطان خون بسیار ناچیز می‌باشد

که در زیر به نمونه‌ای از این مطالعات اشاره می‌گردد: آقای گیانولیس (Giannoulis) و همکاران تأثیر عفونت ویروس‌های HGV و HCV 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 به دلیل حضورش در لنفوسیت‌ها افراد مبتلا به B-NHL یک ویروس Lymphotropic است (۱۴). آقای ایدیلمن (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 مینتون (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 یامادا (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 علائم 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 روش کار

بیماران و نمونه‌ها

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

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. پلاسما 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 علائم بالینی در بیماران مبتلا به انواع سرطان خون هر یک از نمونه‌های 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 bioprobes (ایتالیا) بر اساس دستور کار موجود در کیت انجام شد.

ارزیابی وجود آنتی ژن HBsAg (HBsAg)

سابقه ابتلا به عفونت ویروس HBV در افراد مبتلا به سرطان خون و کنترل از طریق تعیین میزان آنتی ژن سطحی ویروس هپاتیت B یا HBsAg در نمونه پلاسمای جمع آوری شده از این افراد با استفاده از نسل سوم کیت های ELISA، شرکت DIA.PRO (Diagnostic bioprobes 1، 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، شرکت Diagnostic automation آمریکا و بر اساس دستور کار موجود در کیت، مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش های مولکولی استخراج HGV-RNA

برای استخراج ژنوم HGV از نمونه های پلاسما 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 پلاسما با ۵۰۰ میکرولیتر از محلول RNX plus تا زمان حل شدن توده تشکیل شده مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه بر روی یخ 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 (۳۰۰-۲۵۰ میکرولیتر) ایزوپروپانول اضافه و پس از

۳-۵ 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 باقی مانده مقدار ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰ درصد افزوده و پس از ۳-۵ 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 ۳۰-۲۰ دقیقه رسوب باقی مانده 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 ترادف های مربوط به ناحیه 5'-UTR سویه های مختلف ویروس HGV، از بانک اطلاعاتی NCBI جمع آوری و با استفاده از روش multiple alignment و بهره گیری از نرم افزارهای Alignment software ترادف های مورد نظر از نظر 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 Bioneer سفارش داده شد. ترادف جفت پرایمر بیرونی شامل: 5'-GGTCGTAAATCCCGGTCACC-3' و 3'-CCCACTGGTCCTTGTCACACT-5' یک قطعه ۲۶۲ جفت باز را تکثیر می کند. همچنین جفت

پرایمر درونی شامل:

5'-TAGCCACTAGAGGTGGGTCT-3' و
5'-ATTGAAGGGCGACGTGGACC-3' قطعه
داخلی قطعه ابتدایی به طول ۱۸۸ جفت باز را تکثیر
می‌کند.

تولید cDNA

برای تولید cDNA از ژنوم HGV مخلوطی شامل:
مقدار ۴ میکرولیتر از RT-PCR-Buffer با غلظت
یک برابر از Random Hexamer ۱ میکرولیتر،
میکرولیتر از RNase Inhibitor با غلظت ۴۰ واحد
در هر میکرولیتر، مقدار ۲/۵ میکرولیتر از dNTPs با
غلظت ۲۰۰ ماکرومول، مقدار ۰/۷۵ میکرولیتر از آنزیم
ریورس ترانسکریپتاز M-Mulv با غلظت ۲۰۰ واحد
در هر میکرولیتر و مقدار ۸/۲۵ میکرولیتر آب مقطر
تهیه و در میکروتیوب‌های ۰/۵ میکرولیتری ریخته
می‌شد. سپس به مخلوط فوق مقدار ۳ میکرولیتر از
HGV-RNA استخراج شده اضافه و مخلوط می‌شد.
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 تیوپ‌ها بسته شد و در شرایط استریل
میکروتیوب‌ها به دستگاه ترموسایکلر منتقل می‌شدند.
برنامه تولید C-DNA از یک سیکل شامل شرایط ۲۵
درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۴۲ درجه سانتی‌گراد
به مدت ۶۰ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰
دقیقه تشکیل می‌شد.

مرحله اول آزمایش HGV-Nested-RT PCR

با استفاده از پرایمرهای بیرونی یک قطعه ۲۶۲ جفت
باز از cDNA تولید شده از ژنوم HGV با استفاده 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 ۰/۱ میکرومول، مقدار ۰/۲۵ میکرولیتر از آنزیم
Taq polymerase با غلظت ۲/۵ واحد و مقدار ۲
میکرولیتر از cDNA سنتز 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 اول:
دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سیکل
دوم: ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، ۵۵ درجه
سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد
به مدت ۵۰ ثانیه برای ۲۵ سیکل و سیکل سوم: ۷۲
درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه انجام می‌گردید.

مرحله دوم آزمایش 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 تشکیل دهنده مخلوط
مرحله دوم آزمایش Nested-RT-PCR شامل: مقدار
۲/۵ میکرولیتر از PCR-Buffer با غلظت یک واحد،
۰/۷۵ میکرولیتر از MgCl₂ با غلظت ۲ میلی مول، ۰/۵
میکرولیتر از dNTPs با غلظت ۲۰۰ میلی مول، ۰/۵
میکرولیتر از پرایمرهای درونی با غلظت ۰/۱
میلی مول، ۰/۲۵ میکرولیتر از آنزیم
Taq polymerase با غلظت ۲/۵ واحد و ۱
میکرولیتر از محصول PCR مرحله اول به همراه ۱۸
میکرولیتر آب مقطر دیونیزه بود. مخلوط تولید شده

($P < 0.05$) تعیین گردید.

یافته‌ها

یکصد بیمار شرکت داده شده در این تحقیق از نظر نوع سرطان خونی که به آن مبتلا بودند به قرار زیر طبقه‌بندی می‌شوند: ۲۹ نفر مبتلا به لوسمی لنفوی حاد ($ALL, n=29$)، ۱۲ نفر مبتلا به لوسمی لنفوی مزمن ($CLL, n=12$)، ۴۵ نفر مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد ($AML, n=45$)، ۲ نفر مبتلا به لوسمی سلول‌های مویی ($CML, n=2$)، ۶ نفر مبتلا به مالتیپل میلوما ($M.M, n=6$) و ۴ نفر مبتلا به سایر انواع لوسمی ($n=4$) 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 خطر ساز بررسی شده رابطه معنی‌دار مشاهده نگردید.

آلودگی به عفونت HBV

عفونت ویروس HBV از نظر سابقه وجود آنتی‌ژن 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 $PH=7.8$ محصولات مرحله دوم آزمایش HGV-Nested-RT PCR الکتروفورز و با محلول اتیدیوم بروماید باندهای ایجاد شده بر روی ژل رنگ‌آمیزی شده و سپس عکس‌برداری گردیدند.

آنالیز آماری

در این مطالعه میزان شیوع عفونت ویروس HGV در بیماران مبتلا به انواع سرطان خون و همچنین نقش فاکتورهای خطر ساز 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 (USA, IL, Chicago, Inc) نسخه ۱۵ استفاده گردید. روش‌های تحلیلی مورد استفاده شامل: آنالیزهای توصیفی با روش‌های Explore, Crosstab, Frequencies و تعیین روابط معنی‌دار در میان داده‌های 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 سه گانه) ویروس های HBV، HGV و HCV در هیچ یک از افراد گروه کنترل تشخیص داده نشد.

تحلیل آماری رابطه میان نتایج اطلاعات پرسشنامه ای با عفونت ویروس های HBV، HGV و HCV

از میان تمامی عوامل خطرساز مطرح شده در پرسشنامه تنها میان عامل جنسیت و میزان مثبت بودن شاخصه HBs Ag ارتباط معنی دار مشاهده گردید و میان هیچ یک از عوامل خطرساز مانند اعمال جراحی، پیوند مغز استخوان، سابقه عفونت HIV و دریافت خون با شاخصه های سرولوژی و مولکولی عفونت زایی این سه ویروس ارتباط معنی داری مشاهده نگردید.

تحلیل وضعیت مبتلایان به عفونت فعال و گذشته HGV

از ۴ بیمار مبتلا به سرطان خون آلوده 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 ویروس های شایع قابل انتقال از طریق خون و فرآورده های خونی مانند ویروس های هپاتیت و ایدز یعنی سابقه آلودگی به عفونت HBV (HBsAg مثبت) را داشتند. همچنین ۳ نفر از این بیماران جوان و در رده سنی ۲۰-۳۰ سال و تنها یک بیمار پیر و در رده سنی ۵۰-۶۰ سال قرار داشت. هیچ یک از این بیماران سابقه خالکوبی، حجامت، سابقه مصرف مواد مخدر تزریقی و غیر تزریقی، سابقه جراحی شیمیایی و سابقه دیالیز نداشتند. به علاوه هیچ کدام از این بیماران به دلیل ابتلا به سرطان خون تحت

معنی دار ($P=0/02$) مشاهده شد. همچنین به غیر از ارتباط معنی دار شیوع عفونت HBV با فاکتور جنسیت ($P=0/02$) رابطه معنی دار دیگری میان عفونت HBV و فاکتورهای خطرساز بررسی شده مشاهده نگردید.

آلودگی به عفونت HGV

نتایج بررسی میزان 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 سرولوژی آنتی بادی ضد آنتی ژن E2 ویروس HGV (Anti-E2-Ab) تنها در یک نفر (۱ درصد) از مبتلایان به سرطان خون مشاهده شد که این فرد فاقد سابقه ابتلا به عفونت ویروس های HBV و HCV 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 HGV-RNA آلوده بود که سابقه آلودگی به عفونت ویروس های HBV و HCV در این بیمار مشاهده نگردید. همچنین میان عفونت HCV و فاکتورهای خطرساز بررسی شده رابطه معنی دار مشاهده نگردید.

آلودگی به عفونت همزمان ویروس های HBV، HGV و HCV

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

عمل پیوند مغز استخوان قرار نگرفته بودند. همچنین یک بیماری که از نظر سرولوژی سابقه ابتلا به عفونت گذشته ویروس HGV (HGV-Ab) 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 ویروس های شایع از طریق خون و فراورده های خونی مانند ویروس های 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 غیر تزریقی، سابقه جراحی شیمیایی و سابقه دیالیز دیده نشد.

بحث

محققان بر این عقیده اند که عوامل متعددی از قبیل عوامل ژنتیکی، فیزیولوژیکی، جسمانی، بیماری های زمینه ای، عوامل عفونی و غیر عفونی در ایجاد و یا تشدید علائم بالینی بروز کرده در مبتلایان به انواع سرطان خون حاد و مزمن به طور مستقیم و غیر مستقیم تأثیر دارند (۱-۴). به همین منظور بررسی هر یک از عوامل یاد شده در دستور کار محققانی که در زمینه بیماری های هماتولوژی و انکولوژی فعالیت دارند، می باشد.

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 ویروس های ایجاد کننده هپاتیت به دلیل برخورداری از پتانسیل ایجاد عفونت گسترده در جمعیت های گوناگون، قابلیت انتشار سریع از طریق ترشحات مختلف بدن و خون و فراورده های خونی و همچنین توانایی ایجاد عفونت

فعال و یا پایدار در لکوسیت های خونی و به خصوص لمفوسیت ها از جایگاه ویژه ای برخوردار می باشد (۳-۷). در سال های اخیر بیشتر محققان به بررسی نقش و جایگاه ویروس های شایع هپاتیت از جمله ویروس های HBV و HCV در نحوه بروز و یا تشدید بیماری انواع سرطان خون پرداخته (۱۸-۲۰) و بر بررسی مکانیسم ناشناخته پاتوژنز ویروس دیگر هپاتیت یا HGV در روند بیماری بدخیمی های خونی کمتر متمرکز شده اند. بنابراین در این مطالعه به عنوان اولین گام تعیین میزان شیوع سرولوژیکی و مولکولی این ویروس در مبتلایان به لوسمی مورد توجه قرار گرفت. در این بررسی میزان شیوع ژنوم HGV در نمونه های خون افراد کنترل تنها ۱ درصد بود.

همچنین شیوع عفونت فعال و گذشته HGV در دو مطالعه جداگانه در اهداکنندگان 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 نشانه ی عفونت فعال ویروس است ۷-۱ درصد، در کشورهای غربی مانند فرانسه، آلمان، اسپانیا، ایتالیا، چک، یونان، نروژ، اسکاتلند، به ترتیب میزان فراوانی هپاتیت G فعال ۳/۲، ۴-۱/۹، ۷/۹-۰/۵، ۳-۱/۲، ۱۵/۲، ۱۰، ۵/۲ و ۲۵/۲ درصد برآورد گردیده است و در کشورهای آسیایی مثل تایوان، عربستان و چین نیز میزان شیوع هپاتیت G ۳، ۴، ۲-۰/۵ و ۱ درصد گزارش شده است (۴).

در آمریکای جنوبی نیز فراوانی ویروس، آمار متفاوتی دارد به گونه ای که به ترتیب در آرژانتین، بولیوی و برزیل 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.

همچنین در یک مطالعه که بر روی مبتلایان به نقص‌های خونی در تهران انجام شد میزان شیوع ژنوم این ویروس در بیماران تالاسمی به‌ترتیب ۱۲/۹ درصد (۱۱) و در مطالعه دیگر شیوع Anti-E2-Ab ۲۵ درصد تعیین شد (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 قابل انتقال از راه خون تنها در یک بیمار به‌صورت عفونت همزمان HGV و HBV تشخیص داده شد. در صورتی‌که عفونت همزمان این ویروس با HCV در مبتلایان 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

مبتلایان به ویروس HIV نیز گزارش شده است (۱۳). در نهایت، شناسایی عفونت گذشته و فعال HGV در این بررسی که برای اولین بار از نوع خود در بیماران مبتلا 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 جمعیت‌های دیگر و وسیع‌تر مبتلا 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:

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Pagano JS, Blaser M, Buendia MA, et al. Infectious agents and cancer: criteria for causal relation. Semin Cancer Biol 2004; 14: 453-71.
7. Minton J, Iqbal A, Eskitürk A, et al. Hepatitis G virus infection in lymphoma and in blood donors. J Clin Pathol 2005; 51: 675-8.
8. Knipe DM, Howley PM, editors. Fields virology. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007.
9. 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.
10. Kupfer B, Ruf T, Matz B, et al. Comparison of GB virus C, HIV, and HCV infection

- 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 Kafiabad 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. Frequency of active HGV infection in patients with human immunodeficiency 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, Eskitürk 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 Cutan 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.