Original Article

تعیین میزان شیوع مولکولی و سرولوژیکی عفونت ویروس‌های هپاتیت نوع B، C و G در مبتلایان به سرطان خون در جنوب استان فارس

کامبیز باقری[1*]، رامین یعقوبی[2]، محمد حسین کریمی[2]، میترا میرزایی[2]، مانی رمزی[3]

۱- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، فارس، ایران.
۲- مرکز تحقیقات پیوند اعضاء، بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، فارس، ایران.
۳- مرکز تحقیقات هماتولوژی، بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، فارس، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۴/۱۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۶/۱۸

چکیده

زمینه و هدف: ویروس HGV عضو خانواده فلاوی ویریده و دارای ژنوم RNA می‌باشد و از نظر شباهت ترادف های نوکلئوتیدی و اسید آمینه‌ای به HCV شباهت زیادی دارد. این ویروس به دلیل توانایی درگیری لنفوسیت ها برای طولانی مدت این امکان را داشته تا در ایجاد و یا پیچیده کردن عوارض بالینی مبتلایان به سرطان خون نقش داشته باشد؛ بنابراین در این مطالعه میزان شیوع عفونت ویروس‌های HGV، HBV و HCV در مبتلایان به سرطان‌های خون مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها: برای بررسی میزان شیوع عفونت‌های ویروسی HGV، HBV و HCV در بیماران مبتلا به انواع سرطان‌های خون و افراد سالم نمونه‌های خون محیطی به همراه EDAT، از ۱۰۰ بیمار و ۱۱۰ فرد سالم که در شهرهای جنوب استان فارس شامل لار، لامرد و گراش ساکن بودند در طی سال‌های ۸۷-۱۳۸۵ جمع آوری و پلاسمای مورد نظر از آن‌ها استخراج گردید و سپس توسط آزمایش‌های سرولوژی (ELISA) و مولکولی (PCR و RT-PCR) در مراکز تحقیقات هماتولوژی و پیوند اعضاء بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان نقش فاکتورهای خطرساز در ایجاد عفونت ویروس‌های فوق مورد تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج: آنتی بادی ضد آنتی ژن E2 ویروس HGV در ۵٪ از مبتلایان به سرطان خون و ۱/۱٪ از افراد سالم تشخیص داده شدند. ویرمی ویروس HGV در ۲٪ از بیماران مبتلا به سرطان خون شناسایی شد. همچنین تفاوت معنی دار میان شیوع آنتی بادی ضد ویروس HGV در میان افراد بیمار و سالم مشاهده گردید (p=۰/۰۳۷). سرواپیدمیولوژی آنتی بادی ضد ویروس HCV در ۷٪ از مبتلایان به سرطان خون شناسایی گردید. همچنین شیوع مولکولی ژنوم HCV در ۴ بیمار مورد بررسی شناسایی گردید. میان ویرمی HCV در افراد بیمار در مقایسه با افراد سالم تفاوت معنی دار (p=۰/۰۲) مشاهده گردید. از طرف دیگر ویرمی ویروس HBV در ۲ بیمار مورد بررسی شناسایی شد.

نتیجه گیری: در این بررسی که برای اولین بار از نوع خود در بیماران مبتلا به سرطان خون در جنوب استان فارس انجام می‌شد بر وجود سابقه عفونت HGV و HCV در مبتلایان به سرطان خون دلالت داشت. البته با توجه به عدم مطالعه عفونت این ویروس در بیماران سایر نقاط کشور، انجام طرحی مشابه در این نقاط پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: سرطان خون، ویروس هپاتیت نوع G، ویروس هپاتیت نوع B، ویروس هپاتیت نوع C

مقدمه

ویروس هپاتیت نوع G (HGV) با عنوان GBV-C نیز شناخته می‌شود. ویروس HGV که در سال ۱۹۹۵ کشف گردید. اولین بار عامل آن از خون یک جراح که در سال ۱۹۵۰ به هپاتیت ایکتریک حاد مبتلا شد بود شناسایی شد (۱ و ۲). ویروس HGV عضو خانواده فلاوی ویریده (Flaviviridae) و دارای ژنوم RNA می‌باشد و از این بابت به ویروس هپاتیت نوع C (HCV) و از نظر شباهت ترادف های نوکلئوتیدی و اسید آمینه‌ای نیز به یکدیگر شباهت زیادی دارند. همچنین کشف ویروس HGV اولین بار در شرایط آزمایشگاهی از طریق کلن نمودن تصادفی ژنوم HCV امکان پذیر گردید (۵-۳).

تشخیص حضور این ویروس در نمونه‌های بالینی از دو طریق شناسایی ژنوم HGV با روش حساس و دقیق RT-PCR ساده یا دوگانه و روش سرولوژیکی تعیین عیار آنتی بادی ضد گلیکوپروتئین پوششی E2 ویروس (Anti-E2Antibody) صورت می‌گیرد (۵ و ۶). با روش‌های فوق محققین توانسته‌اند میزان شیوع و میزان نقش احتمالی این ویروس در افراد و بیماری‌های مختلف را تعیین کنند. به طور کلی عفونت HGV در جوامع مختلف از شیوع متفاوتی بین ۱۰-۱ درصد در دنیا برخوردار می‌باشد (۸-۶). البته این میزان شیوع در افراد با بیماری‌های زمینه‌ای مختلف و در معرض عوامل خطرساز از جمله میزان رعایت مسائل بهداشتی گوناگون می‌تواند بیشتر باشد (۲ و ۴ و ۱۱-۸).

این ویروس با مکانیسم ناشناخته به مدت زیادی در بدن فرد آلوده باقی

* نویسنده مسئول: دانشکده پزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، فارس، ایران.
تلفن: ۰۷۱۱-۸۳۲۳۷۰۲ Email: bagheri_kbz@yahoo.com

می‌ماند و تا کنون نقش دقیق و مستقیم آن در ایجاد بیماری مشخصی اثبات نشده است و در حال حاضر به عنوان یک ویروس یتیم (Orphan Virus) شناخته می‌شود (۲ و ۱۱).

این ویروس می‌تواند از طریق انتقال خون و فرآورده‌های خونی منتقل شود. گروه‌های در معرض خطر ابتلا به HGV گیرندگان مکرر خون، مبتلایان به انواع نقص‌ها و سرطان‌های خون، معتادین تزریقی، گیرندگان پیوند، تماس جنسی با شرکای جنسی متعدد و نوزادان متولد شده از مادران آلوده به ویروس می‌باشند (۸-۱۲). از میان این افراد مبتلایان به سرطان خون به دلیل گستردگی زیاد در مردم جهان (خصوصاً افراد بالغ) مورد توجه محققان قرارگرفته است (۷ و ۱۳ و ۱۴). سرطان خون در اثر عدم فعالیت طبیعی گلبول‌های قرمز خون و یا پلاکت‌ها ایجاد می‌شود. بیماری سرطان خون از دیدگاه کلی به دو گروه حاد (Acute) و مزمن (Chronic) تقسیم بندی می‌شود (۱ و ۱۸-۱۶).

بنابراین در این تحقیق میزان شیوع سرولوژیکی و مولکولی عفونت ویروس‌های هپاتیت از طریق تعیین میزان آنتی بادی ضد ویروس‌های فوق با آزمایش‌های الیزا (ELISA) و تعیین وجود ویرمی این ویروس‌ها با روش RT-PCR و PCR در بیماران مبتلا به سرطان‌های خون شهرستان‌های جنوب استان فارس در حضور گروه کنترل پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

بیماران و نمونه‌ها: تعداد ۱۰۰ بیمار که سرطان خون در آن‌ها تایید شده بود و در طی دو سال از شهرستان‌های لار و لامرد جمع آوری شده بودند و همچنین از میان مراجعه کنندگان به انتقال خون این شهرستان‌ها نیز تعداد ۱۰۰ نفر به صورت تصادفی به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. از بیماران و افراد گروه کنترل یک نمونه خون حاوی EDTA جمع آوری و در این مطالعه شرکت داده شد. پلاسما هر یک از نمونه‌های خون جمع آوری شده پس از جداسازی در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شدند.

تعداد ۵۷ نفر از این بیماران به سرطان خون حاد و بقیه ۴۳ نفر به سرطان خون مزمن مبتلا بودند. از میان ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان خون ۷۲ نفر مرد و ۲۷ نفر زن با میانگین سنی ۳۸ سال و از میان ۱۱۰ نفر گروه کنترل ۶۹ نفر مرد و ۴۱ نفر زن با میانگین سنی ۴۰ سال وجود داشتند. برای هر بیمار نیز یک فرم پرسشنامه با مشخصاتی 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.

آزمایش‌های ایمنوسرولوژی HCV و HGV: برای تشخیص سابقه عفونت HCV در افراد مورد مطالعه در این بررسی، وجود و یا عدم وجود آنتی بادی ضد این ویروس در نمونه پلاسمای جمع‌آوری شده از گروه بیماران و گروه کنترل با استفاده از نسل سوم کیت های ELISA (شرکت DIA.PRO، ایتالیا) بر اساس دستور کار موجود در کیت انجام شد. همچنین عیار آنتی بادی ضد ویروس HGV نیز به کمک نسل سوم کیت های ELISA (شرکت Diagnostic automation، آمریکا) و بر اساس دستور کار موجود در کیت مورد ارزیابی قرار گرفت.

استخراج ژنوم ویروس‌های HGV وHCV : جهت استخراج ژنوم ویروس‌های HCV و HGV از نمونه‌های خون جمع آوری شده از مبتلایان به سرطان خون و افراد سالم اهداء کننده خون، از روش RNX plus که شرح آن در زیر می‌آید استفاده شد. در این روش µL ۱۰۰ از هر یک از نمونه‌های پلاسما با µL ۵۰۰ از محلول RNX plus تا زمان حل شدن توده تشکیل شده مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه بر روی یخ قرار داده شد. سپس µL ۲۰۰ از کلروفرم به محلول به دست آمده اضافه و پس از ۳-۵ ثانیه مخلوط کردن، به مدت ۱۰ دقیقه در rpm ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. به فاز آبی به دست آمده پس از انتقال به میکروتیوب های جدید به میزان هم حجم آن‌ها (µL ۳۰۰-۲۵۰) ایزوپروپانول اضافه و پس از ۳-۵ ثانیه مخلوط کردن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در rpm ۱۲۰۰۰ نمونه‌ها سانتریفیوژ گردیدند. پس از تخلیه فاز آبی ایجاد شده، به رسوب باقی مانده مقدار µL ۲۰۰ اتانول ۷۰٪ افزوده و پس از ۳-۵ ثانیه مخلوط کردن، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در rpm ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. در پایان پس از دور ریختن فاز آبی ایجاد شده، برای مدت ۳۰-۲۰ دقیقه رسوب باقی مانده در دمای اتاق نگه داری شده تا کمی خشک گردد و سپس به هر میکروتیوب مقدار ۳۰ میکرو لیتر آب حاوی DEPC اضافه کرده و RNA استخراج شده تا زمان انجام آزمایش RT-PCR در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه داری شد.

تولید cDNA از ژنوم ویروس‌های HGV و HCV : برای تولید cDNA از ژنوم HGV و HCV مخلوطی شامل: مقدار µL ۴ از RT-PCR-Buffer با غلظت x ۱، µL ۱ از Random Hexamer، µL ۱ از RNAse Inhibitor با غلظت U/µL ۴۰، µL ۲/۵ از dNTPs با غلظت µM ۲۰۰ و µL ۰/۷۵ از آنزیم ریورس ترانسکریپتاز M-Mulv با غلظت U/µL ۲۰۰ و µL ۸/۲۵ آب مقطر تهیه و در میکروتیوب های mL ۰/۵ ریخته شد. سپس به مخلوط فوق مقدار µL ۳ از HCV/HGV-RNA استخراج شده اضافه و مخلوط شد. 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. برنامه تولیدcDNA 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 شد.

مرحله اول آزمایش HCV/HGV-Multiplex-Nested-RT-PCR: مرحله اول واکنش Multiplex-Nested-RT-PCR از ترکیباتی که در زیر می‌آید تکثیر شد: مقدار µL ۲/۵ از PCR-Buffer با غلظت x ۱، µL ۰/۷۵ از $MgCl_2$ با غلظت mM ۱/۵، µL ۰/۵ از dNTPs با غلظت µM ۲۰۰، µL ۰/۲۵ از پرایمر های بیرونی با غلظت µM ۰/۱، µL ۰/۲۵ از آنزیم Taq polymerase با غلظت U ۲/۵ و µL ۲ از cDNA سنتز شده به همراه µL ۱۸ آب مقطر دیونیزه. 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 گردید.

مرحله دوم آزمایش HCV/HGV-Multiplex-Nested-RT-PCR: مواد تشکیل دهنده مخلوط مرحله دوم آزمایش Nested-RT-PCR شامل: مقدار ۲/۵ µL از PCR-Buffer با غلظت ۱ x، ۰/۷۵ µL از $MgCl_2$ با غلظت ۲ mM، ۰/۵ µL از dNTPs با غلظت ۲۰۰ µM، ۰/۵ µL از پرایمر های درونی با غلظت ۰/۱ µM، ۰/۲۵ µL از آنزیم Taq DNA polyme-ase با غلظت ۲/۵ U و ۱ µL از محصول PCR مرحله اول به همراه ۱۸ µL آب مقطر دیونیزه بود.

برنامه ترموسایکلر مرحله دوم واکنش RT-PCR 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. در پایان نتیجه مثبت الکتروفورز مرحله دوم آزمایش HCV/HGV-Multiplex-Nested-RT-PCR با مشاهده دو باند ۱۸۸ جفت باز مربوط به ژنوم HGV و ۲۲۵ جفت باز مربوط به ژنوم HGV مشخص شد.

استخراج ژنوم و آزمایش HBV- PCR: برای استخراج ژنوم ویروس HBV از نمونه‌های افراد بیمار و سالم از روش فنل-کلروفرم استفاده شد. روش کلی در ابتدا روش Spiking می‌باشد که نمونه پلاسمای بیمار با کنترل مثبت به نسبت ۱ به ۱۰ مخلوط شد و استخراج گردید. سپس به کمک کیت تعیین و تشخیص ژنوم HBV (شرکت سیناژن، ایران) امکان وجود ژنوم این ویروس در نمونه‌های مورد آزمایش بررسی شد. نتیجه مثبت آزمایش با مشاهده یک باند ۳۵۳ جفت بازی همراه بود.

الکتروفورز: در پایان آزمایش‌های مولکولی نیز محصولات آزمایش‌های PCR و RT-PCR با استفاده از غلظت ۱/۵٪ ژل آگاروز تهیه شده در بافر TAE و PH= ۷/۸ الکتروفورز و با محلول اتیدیوم بروماید باندهای ایجاد شده بر روی ژل رنگ آمیزی شده و سپس عکس‌برداری گردیدند.

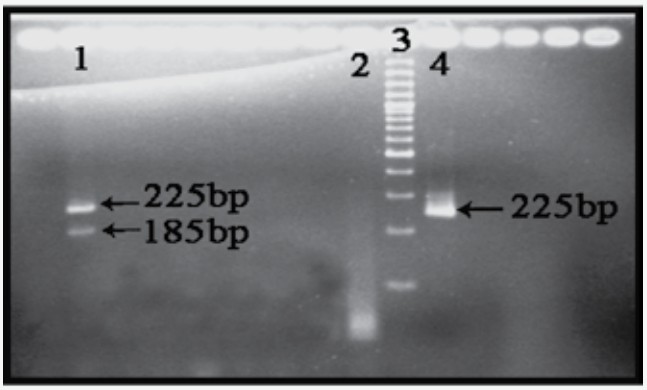
آنالیز آماری: در این مطالعه میزان شیوع عفونت ویروس‌های HCV و HGV در بیماران مبتلا به انواع سرطان خون و همچنین نقش فاکتورهای خطرساز در تشدید و تقویت عفونت این ویروس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. به همین منظور در این تحقیق از روش‌های آنالیز آماری موجود در نسخه ۱۵ نرم افزار کامپیوتری SPSS استفاده گردید. همچنین سطح معنی دار روابط آماری بررسی شده P≥ ۰/۰۵ تعیین گردید.

نتایج

شیوع سرولوژی و مولکولی عفونت HGV: از نظر سرولوژی آنتی بادی ضد آنتی ژن E2 ویروس HGV (Anti-E2-Ab) در ۵ نفر (۵٪) از ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان خون و یک نفر (۱/۱٪) از ۱۱۰ فرد سالم شرکت کرده در این مطالعه تشخیص داده شدند که ۲ نفر از این ۵ بیمار دارای سابقه ابتلا به عفونت ویروس HCV (نتیجه مثبت آزمایش RT-PCR) بودند و یک نفر از این بیماران ویرمی ویروس HBV را نشان دادند. همچنین در فرد سالم آلوده به عفونت HGV نشانه‌های عفونت HBV و HCV مشاهده نشد. همچنین تفاوت معنی دار میان شیوع آنتی بادی ضد ویروس HGV در میان افراد بیمار و سالم مشاهده گردید (P=۰/۰۳۷).

ویرمی ویروس HGV در ۲ بیمار (۲٪) از ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان خون شناسایی شد. همچنین ژنوم این ویروس در هیچ یک از ۱۱۰ فرد سالم شرکت کرده در این مطالعه تشخیص داده نشد (شکل ۱). ویرمی ویروس HCV در یکی از دو بیمار آلوده به HGV-RNA دیده شد اما ویرمی ویروس HBV در هیچ‌یک از دو بیمار مشاهده نشد. عفونت سرولوژی و مولکولی ویروس HGV به طور همزمان در هیچ‌یک از مبتلایان به سرطان خون گزارش نگردید. همچنین تفاوت معنی دار میان شناسایی ژنوم ویروس HGV در میان افراد بیمار و سالم مشاهده نگردید (P=۰/۱۲).

شکل ۱: نتایج حاصل از HCV/HGV-RT-PCR نمونه‌های بیماران



چاهک شماره ۱: نتیجه مثبت HGV و HCV چاهک شماره ۲: کنترل منفی
چاهک شماره ۳: مارکر ۱۰۰ جفت باز چاهک شماره۴: نتیجه مثبت HCV

شیوع سرولوژی و مولکولی عفونت HCV: سرواپیدمیولوژی آنتی بادی ضد ویروس HCV در ۷ نفر (۷٪) از ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان خون شناسایی گردید. اما هیچ یک از ۱۱۰ فرد سالم شرکت کرده در این مطالعه آنتی بادی ضد HCV را نشان ندادند. از طرف دیگر سابقه عفونت HGV و HBV در مبتلایان به سرطان خون دارای آنتی بادی ضد HCV دیده نشد. همچنین تفاوت معنی دار میان شیوع آنتی بادی ضد ویروس HCV در میان افراد بیمار و سالم مشاهده گردید (P=۰/۰۲۵).

شیوع مولکولی ژنوم HCV در ۴ بیمار (۴٪) از ۱۰۰ بیمار مورد بررسی شناسایی گردید (شکل ۱). در هر ۴ بیماری که دارای آلودگی با HCV-RNA بودند حضور آنتی بادی ضد این ویروس نیز تایید شده بود. اما ژنوم HCV در هیچ‌یک از افراد کنترل سالم دیده نشد. همچنین ویرمی همزمان HCV و HBV در هیچ‌یک از افراد مبتلا به سرطان خون تشخیص داده نشد. میان ویرمی HCV در افراد بیمار در مقایسه با افراد سالم تفاوت معنی دار (P=۰/۰۲) مشاهده گردید. میان عفونت HCV و فاکتورهای خطرساز بررسی شده رابطه معنی دار مشاهده نگردید.

شیوع مولکولی عفونت HBV: ویرمی ویروس HBV در ۲ بیمار (۲٪) از ۱۰۰ بیمار مورد بررسی شناسایی شد. اما ژنوم HBV در هیچ‌یک از افراد

کنترل سالم دیده نشد. میان شیوع مولکولی عفونت HBV در افراد بیمار در مقایسه با افراد گروه سالم تفاوت معنی دار (P=۰/۲۳) مشاهده نشد.

تحلیل رابطه میان نتایج اطلاعات پرسشنامه‌ای با عفونت ویروس‌های HGV ، HBV و HCV: هر یک از فاکتور های خطر ساز موثر در ویرمی HBV می‌توانند به نوعی در روند عفونت این ویروس در مبتلایان به سرطان‌های خون موثر باشند؛ اما میان نقش فاکتورهای خطرساز با مولکولار اپیدمیولوژی HBV در مبتلایان به سرطان خون رابطه معنی دار مشاهده نگردید (جدول ۱). همچنین از میان فاکتورهای خطرساز تنها میان دفعات انتقال خون و فراورده‌های خونی (P=۰/۰۵) و سابقه عفونت HGV در مبتلایان به سرطان خون رابطه معنی دار دیده شد (جدول ۱). از طرف دیگر هیچ کدام از فاکتورهای خطرساز با ویرمی و یا پاسخ آنتی بادی علیه عفونت HCV در مبتلایان به سرطان خون رابطه معنی دار نداشتند. نتایج مارکرهای سرولوژی و مولکولی ویروس‌های HBV، HGV و HCV با فاکتورهای خطرساز در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱: نتایج رابطه مارکرهای سرولوژی و مولکولی ویروس‌های HBV، HGV و HCV با فاکتورهای خطرساز پرسشنامه

آزمایش‌های ویروس‌های هپاتیت فاکتور های خطر ساز	HGV-Ab	HGV-RT-PCR	HCV-Ab	HCV-RT-PCR	HBV -PCR
جنسیت	P=۰/۶۲	P=۰/۴۲	P=۰/۲۵	P=۰/۶۷	P=۰/۳۲
تأهل	P=۰/۴۶	P=۰/۲۲	P=۰/۳۵	P=۰/۴۲	P=۰/۴۶
انتقال خون	P=۰/۰۵	P=۰/۸۹	P=۰/۸۲	P=۰/۲۶	P=۰/۱۵
نوع سرطان خون	P=۰/۲۳	P=۰/۹۰	P=۰/۳۲	P=۰/۷۲	P=۰/۳۲
عفونت HIV	P=۰/۱۴	P=۰/۳۴	P=۰/۶۵	P=۰/۵۴	P=۰/۹۲

بحث

سرطان خون که بیشتر در افراد بالغ گزارش می‌گردد به دو صورت حاد و مزمن خود را به بدن انسان تحمیل می‌کند. علت و عامل اصلی و تعیین کننده در ایجاد سرطان خون هنوز شناخته نشده است. از میان عوامل موثر در تشدید شرایط ایجاد و یا بروز انواع حاد و مزمن سرطان خون عفونت‌های ویروسی به دلیل توانایی در آلوده سازی طولانی مدت و سرطان زایی در سلول‌های گوناگون همیشه از جایگاه ویژه‌ای برخوردار بوده‌اند (۱ و ۱۷). از طرف دیگر در گذشته نیز بر نقش بعضی از ویروس‌های حیوانی در ایجاد سرطان خون در حیوانات اشاره شده است. اما محققین تاکنون در مورد همین عملکرد در انسان به نتیجه قطعی دست نیافته‌اند. از طرف دیگر ویروس‌هایی با توانایی ایجاد عفونت تخصصی و با تمایل فراوان در لکوسیت‌های تک هسته‌ای خونی وجود دارند (خاصیت لنفو تروپیسم) که از آن جمله می‌توان به فلاوی ویروس‌های HCV و اخیراً نیز HGV و همچنین HBV اشاره نمود. اما نقش دقیق و اصلی هیچ یک از این ویروس‌ها و به خصوص ویروس HGV در تسهیل شرایط ایجاد و یا بروز انواع حاد و مزمن سرطان خون به اثبات نرسیده و بنابراین در این مطالعه مورد توجه قرار گرفته است (۳ و ۵ و ۱۶ و ۱۹). از میان ویروس‌های مورد بررسی، ویروس HCV به دلیل تمایل به درگیر کردن لنفوسیت‌ها و توانایی بالا در ایجاد عفونت مزمن و ایجاد تغییرات ژنتیکی در این سلول‌ها از نظر بررسی نقش آن در ایجاد و یا پیچیده کردن شرایط بالینی مبتلایان به انواع سرطان خون و لنفوم بیشتر مورد توجه محققان بوده است و نقش آن نیز به دلیل یافتن میزان بالاتر شاخصه‌های عفونت زایی این ویروس در بیماران سرطانی در مقایسه با گروه‌های کنترل بیشتر به اثبات رسیده است (۲ و ۹ و ۱۰ و ۱۳ و ۱۶ و ۱۹ و ۲۰). در این مطالعه نیز بالاترین میزان شیوع از میان عفونت‌های ویروسی بررسی شده به HCV با شناسایی ۷ درصد آلودگی تعلق داشت. از طرف دیگر بیشترین میزان شیوع HBV در بیماران مبتلا به اختلالات خونی است که مقادیر زیادی خون دریافت می‌کنند و داروهای سرکوبگر سیستم ایمنی مصرف می‌کنند (۲ و ۱۹). در مطالعاتی این نقش با بررسی میزان شاخصه‌های سرولوژی و مولکولی HBV ارزیابی کرده و شیوع بیشتر این مارکرها را در مقایسه با افراد فاقد علائم و عوارض سرطان خون یافته‌اند (۲ و ۱۶ و ۱۹ و ۲۱). اما در این مطالعه تنها در ۲ بیمار مبتلا به سرطان خون ویرمی HBV تایید گردید.

اما در مورد HGV که از نظر لنفوتروپیک بودن و شباهت خانوادگی به HCV و همچنین عدم مشخص بودن نقش دقیق این ویروس در ایجاد بیماریی خاص در این مطالعه مورد بیشترین توجه بود کم‌ترین مطالعه انجام شده است (۲۴-۲۲). در ایران تنها یک مطالعه در ساکنین شیراز مبتلا به سرطان خون توسط همین گروه انجام شده بود. در آن مطالعه شیوع ۴ درصدی ویرمی HGV و ۱ درصدی آنتی بادی ضد این ویروس گزارش شده بود (۲۵). در تکمیل آن مطالعه در این بررسی مردم جنوب استان فارس مورد آزمایش قرار گرفته و ویرمی و آنتی بادی ضد HGV به ترتیب در ۵ و ۲ درصد از این افراد شناسایی شد. سایر محققین نیز تأثیر عفونت ویروس HGV به تنهایی و به همراه HCV را در بیماران مبتلا به سرطان خون و لنفوم بررسی کرده و بر شیوع بیشتر عفونت این ویروس و لنفوتروپیسم آن در این بیماران در مقایسه با افراد سالم و دهندگان خون طبیعی تاکید کردند (۱ و ۳ و ۵ و ۱۳ و ۱۴).

بنابراین در این تحقیق به منظور ردیابی عفونت ویروس‌های هپاتیت

نوع B، C و G و تعیین نقش عفونت ویروس‌های فوق در مبتلایان به سرطان خون، وجود یا عدم وجود آنتی ژن‌ها و یا آنتی بادی‌های تولید شده علیه این گروه از ویروس‌ها در سرم و یا پلاسمای افراد مبتلا به انواع سرطان خون انجام شد و همچنین در جهت ارزیابی شیوع این ویروس‌ها در نمونه پلاسما این افراد علاوه بر روش‌های سرولوژی از روش‌های مولکولی مانند PCR و RT-PCR نیز استفاده گردید.

نتیجه گیری

در این بررسی که برای اولین بار از نوع خود در بیماران مبتلا به سرطان خون در جنوب استان فارس انجام می‌شد بر وجود سابقه عفونت HGV در مبتلایان به سرطان خون حاد و مزمن در این منطقه دلالت داشت. البته با توجه به عدم مطالعه عفونت این ویروس در بیماران سایر نقاط کشور انجام طرحی مشابه در این نقاط پیشنهاد می گردد.

References

1. Minton J, Iqbal A, Eskiturk A, Irving W, Davies J. Hepatitis G virus infection in lymphoma and in blood donors. J Clin Pathol. 2005;51:675-678.
2. Visona K, Baez F, Taylor L, Berríos R, León B, Pacheco C, 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;9:622-626.
3. Pavlova BG, Heinz R, Selim U, Tuchler H, Pittermann E, Eder G et al. Association of GB virus C (GBV-C) hepatitis G virus (HGV) with hematological disease of different malignant potential. J Med Virol. 1999;57:361-366.
4. Linnen J, Wages JJ, Zhang-Keck ZY, Fry KE, Krawczynski KZ, Alter H, et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. Science. 1996;271:50-58.
5. Zignego AL, Giannini C, Gentilini P, Bellesi G, Hadziyannis S, Ferri C. Could HGV infection be implicated in lymphomagenesis? Br J Haematol. 1997;98:778-779.
6. Rambusch EG, Wedemeyer H, Tillmann HL, Heringlake S, Manns MP. Significance of co-infection with hepatitis G virus for chronic hepatitis C-a review of the literature. Zeitschrift für Gastroenterologie. 1998;36:41-53.
7. De Renzo A, Persico E, De Marino F, Di Giacomo Russo G, Notaro R, Di Grazia C, et al. High prevalence of hepatitis G virus infection in Hodgkin's disease and Bcell lymphoproliferative disorders: absence of correlation with hepatitis C virus infection. Haematologica. 2002;87:714-718.
8. Skidmore SJ, Collingham KE, Harrison P, Neilson JR, Pillay D, Milligan DW. High prevalence of hepatitis G virus in bone marrow transplant recipients and patients treated for acute leukemia. Blood. 1997;89:3853-3856.
9. keresztes K , takacs M, Horanyi M, Miltényi Z, Illés A, et al. HCV and HGV infection in Hodgkin's disease. Pathol Oncol Res. 2003;9:222-225.
10. Michaelis S, Kazakov D V, Schmid M, Dummer R, Burg G, Kempf W. Hepatitis C and G viruses in B-cell lymphomas of the skin. Journal of Cutaneous Pathology. 2003;30:369-372.
11. Tanaka E, Alter HJ, Nakatsuji Y, Shih JW, Kim JP, Matsumoto A, et al. Effect of hepatitis G virus infection on chronic hepatitis C. Ann Int Med. 1996;125:740-743.
12. Desai MM, Pal RB, Banker DD. GB virus C/hepatitis G virus infection in Indian blood donors and high-risk groups. Transfusion and Apheresis Science. 2004;30:111-117.
13. Giannoulis E, Economopoulos T, Mandraveli K, Giannoulis K, Nikolaides C, Zervou E, et al. The prevalence of hepatitis C and G virus infection in patient with B cell non hodgkin lymphoma in Greece. Acta hematol. 2004;112:189-193.
14. Idelman R , Ustun C, Aslan O, Ozcan M, Arat M, Bozkaya H, et al. The incidence of hepatitis G virus in patients with hematological malignancies. Turk J hematol. 2000;17:67-71.
15. Yamada M, sumazaki O, Koike K, Fukushima T, Matsui A. Persistence and clinical outcome of hepatitis G virus infection in pediatric bone marrow transplantation recipients and children treated for hematological malignancy. Blood. 1999;93:721-727.
16. Pagano JS, Blaser M, Buendia MA, Damania B, Khalili K, Raab-Traub N, et al .Infectious agents and cancer: criteria for causal relation. Semin Cancer Biol. 2004;14:453-471.
17. De Martel C, Franceschi S. Infections and cancer: Established associations and new hypotheses. Crit. Rev Oncol/Hemat. 2009;70:183-184.
18. Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, Pilot-Matias TJ, Muerhoff AS, Schlauder GC, et al. Isolation of a novel virus-like sequence associated with human hepatitis. Nat Med. 1995;1:564-569.
19. Takai S, Tsurumi H, Andok, Kasahara S, Sawada M, Yamada T, et al. Prevalence of hepatitis B and C virus infection in hematological malignancies and liver injury following chemotherapy. Eur J Haematol. 2005;74:158-165.
20. Zignego AL,Giannini C, Ferri C. Hepatitis C virus-related lymphoproliferative disorders: An overview. World J Gastroenterol. 2007;13:2467-2478.
21. Mostafa A, Ebeid E, Mansour T, Amin M, Sidhom I, Khaeiry A. Seroprevalence of hepatitis B and C in pediatric malignancies. J Egypt Nat Cancer Inst. 2003;15:33-42.
22. Gharehbaghian A, Tavakoli S, Amini Kafiabad S, Zarnani AH. Seroepidemiologic HGV in blood donors, haemodialysis patients, hemophiliacs and major thalassemics with history of liver disease. SJIBTO. 2005;2:189-196. [Article in Persian]
23. Amini S, Andalibi-Mahmoodabadi S, Lamian S, Joulaie M, et al. Prevalence of hepatitis G virus (HGV) in high-risk groups and blood donors in Tehran, Iran. Iranian J Publ

Health. 2005;34:41-46. [Article in Persian]
24. Purfatollah AA, Haji Molla Hosseini M, Soheili S, et al. Frequency of active HGV infection in patients with human immune deficiency virus infection in Tehran (1384). Feiz. 2007;11:45-50. [Article in Persian]
25. Ramin Yaghoubi R, Mirzaie M, Ramzi M, Shah Ili M. Determination of the Prevalence of HGV Infection in Leukemia Patients. Iranian South Med J. 2011;14:84-93. [Article in Persian].

Original Article

Determination of Serologic and Molecular Prevalence of Hepatitis Type B, C and G Infections in Patients with Hematological Malignancy in the South of Fars Province, Iran

Bagheri K[1*], Yaghobi R[2], Karimi MH[2], Mirzaei M[2], Ramzi M[3]

1- Department of Immunology, Faculty of medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Fars, Iran.
2- Shiraz Transplant Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Fars, Iran.
3- Hematology Research Center and Bone marrow Transplant Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Fars, Iran.

Abstract

Background & Objective: Hepatitis type G virus (HGV) is a flavivirus with RNA genome which has high nucleotide and amino acid similarity with HCV. HGV can infect blood lymphocytes for long period and may have role in inducing or complicating the clinical outcomes in patients with hematological malignancies. Therefore in this study the prevalence of HGV, HCV, and HBV infections were evaluated in patients with hematological malignancies.

Materials & Methods: In this study EDTA treated blood samples were collected from 100 patients with hematological malignancies and 110 healthy controls of southern cities of Fars province (Lar, Lamerd, Grash) Iran. The serologic and molecular markers of HGV, HCV, and HBV were analyzed by ELISA and PCR and RT-PCR methods, respectively in Hematology Research Center and Transplant Research Center, Namazi hospital, Shiraz University of Medical Sciences. Also the role of some risk factors in pathogenesis of these hepatitis viruses was studied statistically.

Results: Antibody against E2 antigen of HGV was diagnosed in 5% and 1.1% of patients with hematological malignancies and healthy controls, respectively. Significant difference was found between the prevalence of HGV antibodies in patients with hematological malignancies and healthy controls (P=0.037). The HCV antibody and prevalence of HCV- RNA was detected in 7% and 4% of patients with hematological malignancies respectively. Significant difference was found between the prevalence of HCV-RNA in patients with hematological malignancies and healthy controls (P=0.02). Also HBV viremia was found in 2% of patients.

Conclusion: In this study the significant presentation of HGV and HCV were found in patients with hematological malignancies compared with healthy controls. However, the results suggest that similar study should be carryout to evaluate the prevalence of this viral infection in other part of Iran, to control the spreading of these infections to other people.

Keywords: Hematological malignancy, Hepatitis type B virus, Hepatitis type C virus, Hepatitis type G virus.

*** Corresponding author: Bagheri Kambiz,** Department of Immunology, Faculty of medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.
P.O. Box: 73135 – 168.
Tel: +987118323702
Email: bagheri_kbz@yahoo.com