

مطالعه مقایسه‌ای سطح آنتی‌بادی و حضور ژنوم سیتومگالوویروس در بیماران اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی

چکیده

دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۱۵ ویرایش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۲ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۹ آنلاین: ۱۳۹۵/۱۱/۳۰

زمینه و هدف: اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی ناخوشی‌های مزمن و پیش‌رونده روانی هستند که هنوز عامل سببی آن‌ها مشخص نشده، ولی عوامل ویروسی مانند سیتومگالوویروس (CMV) به احتمال در پاتوژنز این اختلالات نقش دارند. هدف از مطالعه کنونی بررسی سطح آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس انسانی و نیز پی بردن به بودن یا نبود ژنوم این ویروس در سرم و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی بیماران اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

روش بررسی: این مطالعه از نوع مورد-شاهدی بوده و از مهر تا اسفند ۱۳۹۲ بر روی نمونه سرم و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی ۴۶ بیمار اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی و ۴۶ نفر به‌عنوان کنترل سالم، در گروه ویروس‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. ابتدا با تست الیزا تیتراژ آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس در دو گروه مورد مطالعه، سنجش شد. سپس بر روی نمونه‌های سرولوژی مثبت و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی تست Real-time PCR جهت بررسی حضور ژنوم CMV انجام پذیرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تیتراژ آنتی‌بادی در گروه بیماران روانی نسبت به گروه کنترل سالم به‌طور معناداری بالاتر بود ($P=0/009$)، درحالی‌که پس از انجام Real-time PCR، ژنوم سیتومگالوویروس در هیچ‌کدام از نمونه‌های بیمار و سالم یافت نشد.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه مشاهده شد که تیتراژ آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس در گروه بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی به‌طور معناداری بالاتر از این مقدار در گروه کنترل سالم است. بنابراین احتمال می‌رود که این ویروس در پاتوژنز این اختلالات روانی نقش ایفا کند.

کلمات کلیدی: اسکیزوفرنی، اختلال دوقطبی، سیتومگالوویروس.

فرید سلیمانی محمدی^۱

عباس رحیمی فروشانی^۲، محسن رکنی^۳

محمد فرهمند^۱، کاظم احمدی کیا^۴

آزاده شاداب^۱، حمیدرضا احمد خانیها^۵

ژیلا یاوریان^{۱*}

۱- گروه ویروس‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۲- گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴- گروه قارچ‌شناسی و انگل‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۵- مرکز تحقیقات سلامت روان، گروه روانپزشکی، بیمارستان روانپزشکی ایران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان انقلاب، خیابان قدس، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت
تلفن: ۰۲۱-۴۲۹۳۳۱۰۳۰

E-mail: yavarian@sina.tums.ac.ir

مقدمه

جهان را درگیر کرده است.^۱ اگرچه هنوز عامل سببی قطعی و مشخصی برای بروز این اختلالات روانی تعیین نشده، اما فاکتورهای احتمالی در بروز این اختلالات می‌تواند شامل ژنتیک، فصل تولد، فاکتورهای نورولوژیک و فیزیولوژیک و فاکتورهای محیطی مانند عوامل عفونی باشند.^۲

سیتومگالوویروس (Cytomegalovirus, CMV) یکی از ویروس‌های بزرگ خانواده هرپس ویریده است که متعلق به زیرخانواده بتاهرپس ویرینه (*Betaherpesvirinae*) می‌باشد. این ویروس می‌تواند سلول‌های

اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی از اختلالات روانی مزمن و پیش‌رونده هستند که افراد را به‌ویژه در سنین نوجوانی و جوانی و در سراسر جهان درگیر می‌کنند. علائم شاخص اسکیزوفرنی شامل توهم شنیداری، تفکر بیهوده و غیرمنطقی و علائم اختلال دوقطبی شامل دو فاز افسردگی و شیدایی (جنون) می‌باشد. شیوع جهانی اسکیزوفرنی در حدود ۱٪ تخمین زده شده^۱ و اختلال دوقطبی بیش از ۱٪ جمعیت

حاوی ضد انعقاد سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) به‌وسیله فایکول جداسازی شدند.

جهت بررسی سطح آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس از تست Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) استفاده شد و برای انجام آن از ELISA kit (Viracell, SL, Granada, Spain, Cat # G1004) استفاده گردید. پس از انجام آزمون الایزا بر روی سرم افراد بیمار و کنترل سالم، روی نمونه‌های سرولوژی مثبت و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی استخراج ژنوم انجام شد. جهت استخراج ژنوم از High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche Diagnostics, Germany, Cat # 11858 874 001) استفاده شد. در نهایت برای بررسی بودن ژنوم سیتومگالوویروس تست Real-time PCR به‌کار گرفته شد. کیت این تست از شرکت Primer design ساخت کشور انگلستان تهیه شد. پروتکل دمایی سیکل‌های PCR در این کیت بدین صورت بود: Denaturation اولیه: پنج دقیقه در 95°C ، سپس 40 سیکل به‌صورت: Denaturation 20 ثانیه در 95°C ، Annealing 30 ثانیه در 60°C و در نهایت Extension 30 ثانیه در 72°C .

معیار ورود بیماران در این مطالعه تشخیص نهایی بیماری اسکیزوفرنی و دوقطبی با نظر روانپزشک و معیار خروج آن‌ها سابقه اعتیاد و بیماری‌های زمینه‌ای دیگر بود. معیار ورود گروه کنترل سالم سلامت روانی و معیار خروج سابقه بیماری روانی و هر بیماری زمینه‌ای دیگر بود.

یافته‌ها

تیتراژ آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل سالم به‌طور معناداری بالاتر بود ($P=0/009$) (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه تیتراژ آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس در دو گروه بیمار و سالم

گروه	تعداد	میانگین تیتراژ ± انحراف معیار	P
بیمار	۴۶	$1/9 \pm 1/43$	۰/۰۰۹
سالم	۴۶	$1/6 \pm 1/48$	

آزمون آماری: Student's t-test ($P=0/009$)، $P < 0/05$ معنادار می‌باشد، در نتیجه میانگین اختلاف تیتراژ آنتی‌بادی در دو گروه بیمار و سالم از نظر آماری معنادار است.

مختلف بدن میزبان را درگیر کند: از جمله سلول‌های اندوتلیال، اپی‌تلیال، سلول‌های هماتوپویتیک. سیتومگالوویروس یکی از ویروس‌هایی است که می‌تواند در بدن میزبان وارد فاز نهفتگی شود که این نهفتگی ویروسی بیشتر در سلول‌های رده میلوئیدی میزبان اتفاق می‌افتد.^۴ انتقال این ویروس به‌طور معمول از طریق مایعات بدن (ادرار، شیر مادر، مایعات جنسی و بزاق) رخ می‌دهد. عفونت سیتومگالوویروس در افراد سالم از نظر سیستم ایمنی به‌طور معمول بدون علامت است، درحالی‌که در افراد مبتلا به نارسایی سیستم ایمنی (افراد مبتلا به ایدز و گیرندگان پیوند) و نوزادان متولد شده از مادران آلوده، می‌تواند منجر به مرگ‌ومیر و یا ایجاد عوارض نورولوژیک جدی شود. عوارض نورولوژیک عمده‌ای که عفونت سیتومگالوویروس در نوزادان آلوده شده به‌صورت مادرزادی و بیماران مبتلا به نارسایی سیستم ایمنی ایجاد می‌کند شامل اختلال در شنوایی، بزرگ شدن بطن‌های مغز، هیپوپلازی مخچه، میکروسفالی و آنسفالیته می‌باشد.^۵ ویروس‌های هرپس سیمپلکس به‌دلیل توانایی ایجاد عفونت در سلول‌های عصبی، به‌عنوان یکی از عوامل احتمالی دخیل در پاتوژنز اختلالات روانی مانند اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی مطرح هستند. به‌ویژه، سیتومگالوویروس به‌دلیل توانایی ایجاد عوارض نورولوژیک و درگیر کردن نورون‌ها، به‌عنوان فاکتوری در ایجاد یا شدت گرفتن این اختلالات مطرح می‌باشد.^۳

مطالعات مختلفی با هدف بررسی ارتباط بین سیتومگالوویروس و بروز اختلالات روانی همچون اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی انجام شده است.^{۶-۵} این مطالعه نیز با هدف بررسی اثر سیتومگالوویروس به‌عنوان یک عامل کم‌کننده احتمالی در بروز اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی انجام شد.

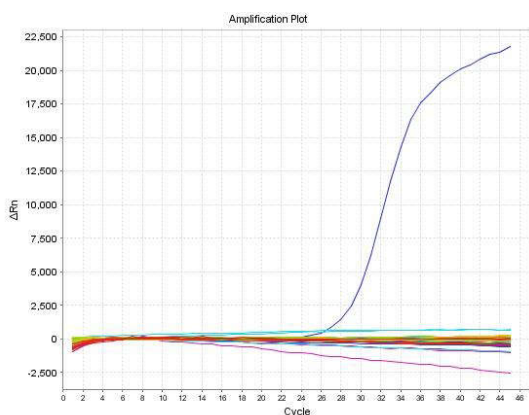
روش بررسی

در این مطالعه که به‌صورت مورد-شاهدی انجام پذیرفت، نمونه خون ۴۶ بیمار اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی که در سال ۱۳۹۲ به بیمارستان روانپزشکی ایران مراجعه کرده بودند، به‌عنوان گروه بیمار و نمونه خون ۴۶ نفر از کارکنان و دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی تهران به‌عنوان کنترل سالم به‌میزان ۱۲ ml جمع‌آوری شد. سپس از ۲ ml خون فاقد ضدانعقاد سرم به‌وسیله سانتریفیوژ و از ۱۰ ml خون

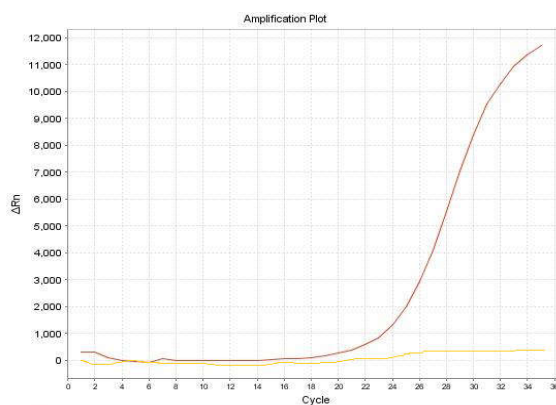
جدول ۲: مقایسه تیر آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس در گروه‌های سنی مختلف

گروه سنی	بیمار	سالم	P
تعداد	میانگین تیر \pm SD	تعداد	میانگین تیر \pm SD
۱۹ تا ۲۵ سال	۸	۶	۰/۵۰۱
۲۶ تا ۴۲ سال	۲۶	۲۹	۰/۰۵۲
۴۳ تا ۶۷ سال	۱۲	۱۱	۰/۱۷

آزمون آماری: ANOVA (P=۰/۱۷، ۰/۰۵۲، ۰/۵۰۱)، P<۰/۰۵ معنادار است. در نتیجه میانگین اختلاف تیر آنتی‌بادی در گروه‌های سنی مختلف از نظر آماری معنادار نمی‌باشد.



نمودار ۲: منحنی Real-time PCR مربوط به نمونه‌های بیمار و سالم برای بررسی حضور ژنوم سیتومگالوویروس



نمودار ۱: منحنی Real-time PCR کنترل مثبت سیتومگالوویروس

جدول ۳: مقایسه تیر آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس در دو گروه بیمار اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی

نوع بیماری	تعداد	میانگین تیر \pm انحراف معیار	P
اسکیزوفرنی	۱۸	۱/۸۶ \pm ۰/۴۵	۰/۶۵۵
اختلال دوقطبی	۲۸	۱/۹۲ \pm ۰/۴۲	

آزمون آماری: Student's t-test، با توجه به سطح معناداری P<۰/۰۵، میانگین اختلاف تیر آنتی‌بادی در دو گروه بیمار از لحاظ آماری معنادار نمی‌باشد (P=۰/۶۵۵).

گروه بیمار اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی مشاهده نشد (جدول ۳). پس از انجام استخراج ژنوم، ابتدا تست Real-time PCR بر روی کنترل مثبت کیت انجام شد (نمودار ۱) (CT=۲۱).

سپس برای رسم منحنی استاندارد، پنج رقت مختلف از کنترل مثبت تهیه شد (۱، ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱). پس از انجام تست Real-time PCR بر روی نمونه سرم و نمونه سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی موارد سرولوژی مثبت، ژنوم سیتومگالوویروس در هیچ‌یک از نمونه‌های دو گروه بیمار و کنترل سالم ردیابی نشد (نمودار ۲).

بحث

در مطالعه کنونی که جهت فهم بهتر نقش احتمالی سیتومگالوویروس

اختلاف تیر آنتی‌بادی در گروه‌های سنی مختلف در دو گروه بیمار و شاهد از نظر آماری معنادار نبود (جدول ۲). اختلاف معناداری از نظر تیر آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس در دو

نشان‌دهنده بودن ژنوم سیتومگالوویروس در ۱۲ مورد از این افراد بود.^۸ در مطالعه Roback و همکارانش، نمونه خون ۱۰۰۰ نفر از دهندگان خون برای ژنوم سیتومگالوویروس مورد مطالعه قرار گرفت که تنها در دو مورد از این ۱۰۰۰ نفر ژنوم ویروسی ردیابی شد.^۹ به طور کلی در مطالعات مختلف نتایج متفاوتی حاصل شده است. این تفاوت‌ها می‌توانند به علت به کارگیری روش‌های مختلف آزمایشگاهی و حساسیت و اختصاصیت متفاوت تست‌ها، تعداد متفاوت نمونه‌های بررسی شده با موقعیت‌های جغرافیایی متغیر باشد.

در این مطالعه مشاهده شد که تیتراژ آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس در گروه بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی به طور معناداری بالاتر از این مقدار در گروه کنترل سالم است. بنابراین احتمال می‌رود که این ویروس در پاتوژنز این اختلالات روانی نقش ایفا کند.

سپاسگزاری: این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد تحت عنوان "بررسی سطح آنتی‌بادی و حضور ژنوم سیتومگالوویروس در بیماران اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی و مقایسه آن با گروه کنترل سالم در تهران" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران در سال ۱۳۹۴ به شماره قرارداد ۲۶۹۴۳ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی دانشگاه علوم پزشکی تهران و همکاری گروه روان‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران اجرا شده است.

در بروز یا عود اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی انجام پذیرفت، مشاهده شد که تیتراژ آنتی‌بادی اختصاصی این ویروس در سرم بیماران اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی به طور معناداری بالاتر از گروه کنترل سالم است. در بررسی بودن ژنوم سیتومگالوویروس در سرم و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی توسط تست Real-time PCR، ژنوم ویروسی در هیچ‌یک از نمونه‌های گروه بیمار و کنترل سالم مشاهده نشد. در مطالعه‌ای که بر روی نمونه سرم بیماران اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی و گروه کنترل سالم انجام شد تیتراژ آنتی‌بادی IgG اختصاصی سیتومگالوویروس با استفاده از تست‌های سرولوژیک مورد سنجش قرار گرفت و نتایج نشان داد که تیتراژ آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس در بیماران روانی به طور معناداری بالاتر از گروه کنترل است.^۳ در مطالعه دیگری که توسط Shirts و همکارانش انجام شد، سرم ۳۲۹ بیمار مبتلا به اسکیزوفرنی جهت بررسی تیتراژ آنتی‌بادی اختصاصی سیتومگالوویروس تست شد و نتایج نشان داد که بالا بودن تیتراژ آنتی‌بادی با اختلال در عملکرد سایکوموتور و حافظه فعال همراه است.^۶ در مطالعه دیگری که بر روی سرم ۱۲۷ بیمار اختلال دوقطبی و ۱۲۷ نفر به عنوان کنترل انجام شد، نتایج نشان‌دهنده عدم اختلاف معنادار در تیتراژ آنتی‌بادی در دو گروه بیمار و سالم بود.^۷ در مطالعه Hamprecht و همکارانش، بودن ژنوم سیتومگالوویروس در نمونه سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی ۲۲۰ نفر از دهندگان خون مورد بررسی قرار گرفت و نتایج

References

- McClellan J, Stock S; American Academy of Child and Adolescent Psychiatry (AACAP) Committee on Quality Issues (CQI). Practice parameter for the assessment and treatment of children and adolescents with schizophrenia. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2013;52(9):976-90.
- Grande I, Berk M, Birmaher B, Vieta E. Bipolar disorder. *Lancet* 2016;387(10027):1561-72.
- Tedla Y, Shibre T, Ali O, Tadele G, Woldeamanuel Y, Asrat D, et al. Serum antibodies to *Toxoplasma gondii* and Herpesviridae family viruses in individuals with schizophrenia and bipolar disorder: a case-control study. *Ethiop Med J* 2011;49(3):211-20.
- Sinclair J. Human cytomegalovirus: Latency and reactivation in the myeloid lineage. *J Clin Virol* 2008;41(3):180-5.
- Lanari M, Capretti MG, Lazzarotto T, Gabrielli L, Rizzollo S, Mostert M, et al. Neuroimaging in CMV congenital infected neonates: how and when. *Early Hum Dev* 2012;88 Suppl 2:S3-5.
- Shirts BH, Prasad KM, Pogue-Geile MF, Dickerson F, Yolken RH, Nimgaonkar VL. Antibodies to cytomegalovirus and Herpes Simplex Virus 1 associated with cognitive function in schizophrenia. *Schizophr Res* 2008;106(2-3):268-74.
- Mortensen PB, Pedersen CB, McGrath JJ, Hougaard DM, Norgaard-Petersen B, Mors O, et al. Neonatal antibodies to infectious agents and risk of bipolar disorder: a population-based case-control study. *Bipolar Disord* 2011;13(7-8):624-9.
- Hamprecht K, Sorg G, Grebenstein A, Boniek M, Jahn G. Detection of human cytomegalovirus (HCMV) DNA from cell-free plasma of immunosuppressed patients by nested PCR: influence of nucleic acid extraction method. *Experientia* 1996;52(4):297.
- Roback JD, Drew WL, Laycock ME, Todd D, Hillyer CD, Busch MP. CMV DNA is rarely detected in healthy blood donors using validated PCR assays. *Transfusion* 2003;43(3):314-21.

Comparative study of cytomegalovirus antibody and viral load in schizophrenia and bipolar patients

Abstract

Received: 05 Aug. 2016 Revised: 10 Feb. 2017 Accepted: 17 Feb. 2017 Available online: 18 Feb. 2017

Farid Suleimani Mohammadi M.Sc.¹
Abbas Rahimi Foroushani Ph.D.²
Mohsen Rokni M.Sc.³
Mohammad Farahmand Ph.D. Student¹
Kazem Ahmadi Kia Ph.D. Student⁴
Azadeh Shadab B.Sc.¹
Hamidreza Ahmadvani M.D.⁵
Jila Yavarian M.D., Ph.D.^{1*}

1- Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- Department of Parasitology and Mycology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

5- Mental Health Research Center, Department of Psychiatry, Iran Psychiatry Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

* Corresponding author: School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Poursina St., Ghods St., Enghelab St., Tehran, Iran.
Tel: +98 21 42933103
E-mail: yavarian@sina.tums.ac.ir

Background: Schizophrenia (SC) and bipolar disorder (BD) are two chronic psychiatric illnesses with worldwide distribution. People could be involved at any age, particularly in early adolescence. Main symptoms of SC are non-affective symptoms such as auditory hallucination and illogical thinking. In contrast, BD represents affective symptoms such as depression and mania. Although the main cause of these mood disorders has been remained elusive, there are some potential contributing factors that could be considered in the pathogenesis of mentioned illnesses including, genetic and environmental factors. Cytomegalovirus (CMV) is one of the probable contributing factors in SC and BD. CMV is a prototype of *herpesviridae* family which may infect different cell types such as endothelial and differentiated hematopoietic cells. CMV infections in immunocompromised patients as well as congenitally infected children represent CNS complication such as microcephaly and hearing loss. This virus has capability to impair the limbic structures in brain.

Methods: This descriptive study was designed to evaluate the role of CMV in these illnesses. We investigated the level of serum IgG antibody and the presence of CMV DNA in serum and peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) samples of 46 SC and BD patients admitted to Iran Psychiatry Hospital Tehran, Iran from 2014 to 2015 as well as 46 healthy control groups at Tehran University of Medical Sciences. First, the level of CMV IgG antibody was evaluated in serum samples, by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Then, DNA extraction conducted by using the high pure viral nucleic acid kit (Roche, Germany). Serologically positive sera along with PBMC samples were tested by Real-time PCR, to investigate the presence of CMV DNA.

Results: Results indicated higher levels of CMV IgG antibody in psychiatric patients, compared with a healthy control group. Afterward, we did not observe the presence of CMV DNA in either case or control groups.

Conclusion: According to the CNS impairment mediated by CMV infection, this virus has been supposed to play an important role in pathogenesis of mental disorders such as SC and BD. We suggest further investigation to be conducted, particularly on other samples such as cerebrospinal fluid.

Keywords: bipolar disorder, cytomegalovirus, schizophrenia.