

بررسی آنتی‌بادی ویروس اپشتاین - بار (EBV) در بیماری هوچکین کودکان در بیمارستان امام خمینی

دکتر زهرا عرفانی، استادیار بیمارستان امام خمینی
دکتر مهرناز ناهید، دکترای علوم آزمایشگاهی بالینی

Epstein - Barr Virus (EBV) Antibody in Childhood Hodgkin's Disease (H.D) at Imam Khomeini Medical Complex ABSTRACT

Association of EBV with the tumor cells of HD has been proven by a variety of the methods, using serologic and immunohistochemical techniques and in the recent years with molecular biologic techniques which can detect EBV genome in tumor biopsies.

In this regard we prompted to perform a case control study on 25 childhood HD cases with respected to their antibodies gainst EBNA and EBV - IgM antibodies in Imam Khomeini Hospital in Tehran.

In our study the ratio of positive titers was significantly higher among HD patients compared with age-and sex - matched healthy controls.

Key Words: Hodgkin; Epstein-Barr Virus; Antibody

چکیده

در این مطالعه ۲۴ بیمار مبتلا به بیماری هوچکین از نظر آنتی‌بادی ضد ویروس EBV با بچه‌های هم سن و هم جنس خود مقایسه شده و نتیجه مطالعه، تیترا بالای آنتی‌بادی EBV را در بیماران مبتلا به بیماری هوچکین نشان می‌دهد.
اژه‌های کلیدی: ویروس اپشتاین بار؛ آنتی‌بادی

مقدمه

این ویروس اولین بار در سال ۱۹۶۴ توسط Epstein-A Barr، Change از کشت لنفوسیت‌های بیماران مبتلا به لنفوم بورکیت بدست آمد.
ویروس اپشتاین یک عامل عفونی از دسته هرپس ویروس‌های انسانی می‌باشد که دارای انتشار گسترده‌ای در تمام دنیا است (۱۷،۵،۳).
تمامی کسانی که یکبار به این ویروس آلوده می‌شوند، عفونت

در آنها تا آخر عمر باقی خواهد ماند. در این افراد، ویروس به فرم خفته (Latent) در سلول‌های اپی‌تلیال اورونازوفارنکس و لنفوسیت‌های B باقیمانده ولی دائماً در سلول‌های اپی‌تلیال Reactivate شده و باعث دفع ویروس از دهان گشته و انتقال بوسیله تماس دهان به دهان صورت می‌گیرد.

بنظر می‌رسد که سن و قدرت ایمنی فرد در زمان عفونت با EBV، علائم کلینیکی بیماری را مشخص می‌نماید (۱۹).
عفونت اولیه با این ویروس در اوایل بچگی معمولاً بدون علامت بوده و یا بصورت یک بیماری خفیف با علائم غیراختصاصی تظاهر می‌نماید. در کسانی که تا زمان بلوغ با این ویروس آلوده می‌گردند، در اکثریت موارد عفونت اولیه بصورت یک سندرم کلینیکی بنام منونوکلئوز تظاهر می‌کند که بسیار خوش‌خیم بوده و بنام Infectious mononucleosis (۱۹،۲) خوانده می‌شود. در افراد دچار نقص ایمنی که قادر به محدود نمودن

در بررسی ما هدف، مطالعه سرواپیدمیولوژیک مورد - شاهد بر روی کودکان مبتلا به بیماری هوچکین، که به بیمارستان امام خمینی (ره) مراجعه کرده بودند، از نظر آنتی‌بادی ضد EBV بوده است.

روش و مواد

۲۵ کودک مبتلا به بیماری هوچکین از بین مراجعان به درمانگاه خون‌شناسی کودکان بیمارستان امام خمینی (ره) انتخاب شدند. کودکان، ۱۲-۴ ساله بوده و متوسط سنی آنها ۸/۳ سال بوده است. ۲۰ نفر از آنها پسر و ۵ نفر دختر بوده‌اند. ۱۵ نفر از آنها Mixed cellularity type و ۶ نفر Nodular sclerosing type و یک نفر Lymphocytic predominant بوده و در سه نفر از آنها ساب‌تایپ Stage I-III و Stage IVb قرار داشتند (۶).

رشد EBV-Infected B cell نیستند، عفونت اولیه با این ویروس کشنده بوده و Fatal infectious mononucleosis ایجاد و یا لنفوپرولیفراسیون پلی‌کلونال در آنها تبدیل به یک لنفوم مونوکلونال می‌گردد (۱۹،۱۴،۱۱،۷).

نمونه‌ای برای دسته اول، کودکان دریافت کننده پیوند عضو که سیکلوسپورین دریافت می‌کنند و در افراد مبتلا به AIDS و در مردان حامل ژن X-Linked lymphoproliferative syndrome در بعضی جوامع شایع می‌باشد. تئوپلاسمهای وابسته به EBV در بعضی جوامع شایع می‌باشد، مانند لنفوم بورکیت در مناطق تروپیکال آفریقا و یا نازوفارنژیال کارسینوما که بدون شک فاکتورهای محیطی و ژنتیکی قوی در بروز این بدخیمی‌ها در شخص انفکته مؤثرند (۱۹،۱۳). از آنجا که بیماری هوچکین دارای مشخصات کلینیکی و اپیدمیولوژیکی خاصی می‌باشد، مطالعات زیادی در جهت ارتباط دادن این بیماری با EBV انجام شده است و بررسی‌های سرولوژیکی و ایمنوهایستوکمیستری و ملکولریبولوژی مخصوصی انجام شده است (۱۸،۱۶،۱۲،۴).

جدول ۱- توزیع فراوانی گروه‌های از نظر تیتر آنتی‌بادی ضد EBV

| *Anti EBNA/IgG Titer | F | subclasses(f) | | staging** (f) | |
|-------------------------|----|---------------|------|---------------|----------|
| | | HDNS | HDMC | I-III A | III B-IV |
| < 1: 21 (Neg) | 5 | 0 | 5 | 0 | 1 |
| 1 : 21 (X1) | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 1 : 42 (X2) | 2 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| 1 : 84 (X4) | 3 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| 1 : 168 (X8) | 4 | 0 | 3 | 1 | 2 |
| 1 : 336 (X16) | 4 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| 1 : 672 (X32) | 5 | 1 | 3 | 3 | 1 |
| 1 : 1344 (X64) | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Hodgkin's disease | 25 | 6 | 15 | 12 | 7 |

** ۶ نفر از نظر staging در پرونده مشخص نشده بودند * نوع هیستولوژیک HD در سه بیمار مشکوک بود

نتایج و بحث

چنانچه جدول‌های ۲، ۳ و نمودار ۱ نشان می‌دهند تیتر آنتی‌بادی EBNA در بیماران مبتلا به هوچکین (GMT = ۱:۱۱۴) بسیار بالاتر از افراد گروه کنترل (GMT = ۱: ۵۳) (Geometric mean titre) بوده است و این اختلاف کاملاً معنی‌دار بوده است.

گروه کنترل، ۲۵ کودک سالم در طیف سنی ۱۲-۴ سال می‌باشند که از نظر جنس نیز مشابه افراد بیمار بوده‌اند و اکثراً به علت شکایات غیراختصاصی به درمانگاه کودکان مراجعه نموده بودند. تکنیک اندازه‌گیری آنتی‌بادی ضد EBNA به روش ELISA و آنتی‌ژن مورد استفاده P72 بوده است. حداقل تیتر قابل قبول برای آنان ۱: ۲۱ و تیترهای کمتر از آن منفی تلقی گردیده بودند (۵).

با توجه به جدول‌های ارائه شده، مشخص است که افراد گروه کنترل که از نظر سن و جنس و حتی وضعیت اجتماعی خود، مشابه افراد بیمار بوده‌اند، درصد بسیار پایینی از آنتی‌بادی را دارا هستند. الگوی افزایش آنتی‌بادی ضد EBV کاملاً مشابه حالتی است که در فردی که قبلاً مبتلا به مونوکلئوز بوده است دیده می‌شود (۶). ویروس EB را بعنوان عامل اتیولوژیک مطرح نموده‌اند که انکوژنسیته آن، وابسته به فاکتورهای ایمنوژنتیکی خاص میزبان می‌باشد. شاید آنالیز سیستم ایمنی سلولی بر علیه EBV در بیماران مبتلا به هوچکین راه صحیح تری برای بررسی باشد.

جدول ۲- توزیع فراوانی گروه شاهد از نظر تیتراژ آنتی‌بادیهای ضد EBV

| Anti EBNA- 1/IgG | f |
|------------------|----|
| < 1 : 21 (Neg) | 19 |
| 1 : 21 (X1) | 1 |
| 1 : 42 (X2) 1 | |
| 1 : 84 (X4) | 3 |
| 1 : 168 (X8) | 1 |
| > 1 : 168 | 0 |
| Normal Control | 25 |

جدول ۳- بررسی شاخصهای GMT Titer > 1:21, % Titer > 1:168 و % در بین گروههای مختلف مبتلا به هوچکین و گروه کنترل

(الف)

| Diagnosis | GMT | t | P | titer > 1:21 | Z | P | titer > 1:168 | Z | P |
|-------------------|---------|------|--------|--------------|------|---------|---------------|---|---------|
| Hodgkin's patient | 1 : 114 | 1.77 | < 0.05 | 80% | 3.96 | < 0.001 | 56% | 4 | < 0.001 |
| healthy control | 1 : 53 | | | 24% | | | 4% | | |

(ب)

| Diagnosis | GMT | t | P | titer > 1:21 | Z | P | titer > 1:168 | Z | P |
|-----------|-----------|------|--------|--------------|------|--------|---------------|------|--------|
| HDNS | 1 : 88.6 | 0.77 | > 0.05 | 100% | 1.66 | < 0.05 | 67% | 0.55 | > 0.05 |
| HDMC | 1 : 156.3 | | | 67% | | | 53% | | |

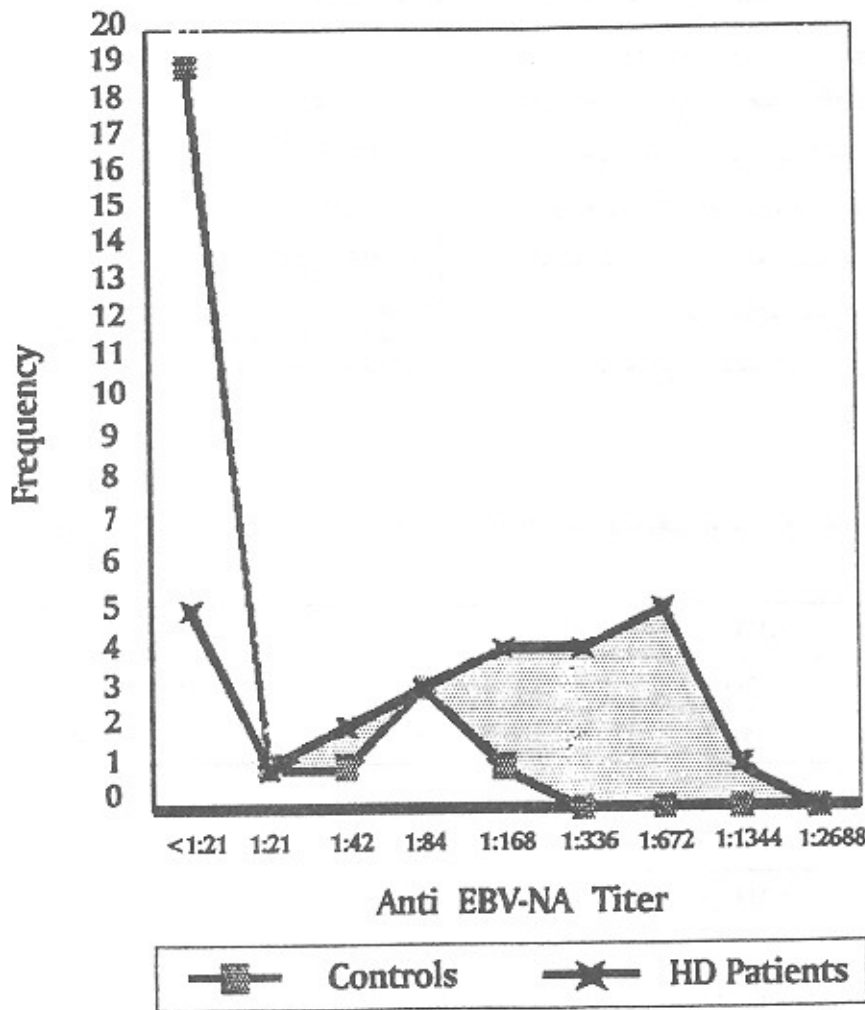
(ج)

| Diagnosis | GMT | t | P | titer > 1:21 | Z | P | titer > 1:168 | Z | P |
|----------------|--------|------|--------|--------------|-----|--------|---------------|-----|--------|
| stage I-III A | 1 : 88 | 0.18 | > 0.05 | 100% | 1.2 | > 0.05 | 58% | 0.5 | > 0.05 |
| stage III B-IV | 1 : 92 | | | 92% | | | 57% | | |

دورهٔ ازدیاد ویروس است) و آنتی‌بادی در جواب EBNA، همراه با فرم LATENT ویروس است (۱۲). آنتی‌بادیهای بر علیه VCA که بعد از مرحله حاد عفونت از بین می‌روند، می‌توانند با فعال شدن ویروس، مجدداً ظاهر شوند. فاکتورهایی، از جمله علائم بالینی بیماری هوچکین که اغلب با تب و آدنوپاتی گردنی شروع می‌شود و سیمای هیستولوژیکی آن، که با وجود سلولهای اشترنبرگ مخلوط با انفیلتراسیون سلولهای آماسی می‌باشد، احتمال درگیری عامل عفونی را در پاتوژن بیماری مطرح می‌نمایند (۸).

همراهی EBV با بعضی از نشو پلاسم‌ها، نظیر کارسینوم نازوفارنکس و لنفوما، بخصوص در مبتلایان به اختلالات ایمنی نشان داده شده است. موقعی که شخص طبیعی با این ویروس عفونی می‌شود پاسخهای ایمنی سلولی و آنتی‌بادیهای مربوطه می‌توانند بررسی و اندازه‌گیری شوند (۷، ۱۱، ۱۴). اندازه‌گیری تیتراژ آنتی‌بادیهای سرم به آنتی‌ژنهای مختلف ویروس در ارزیابی بیماریهای لنفو پرولیفراتیو و نشو پلاسم‌ها، یک روش اپیدمیولوژیکی به شمار می‌رود (۱۲). اندازه‌گیری آنتی‌بادی برای سه آنتی‌ژن اساسی صورت می‌گیرد. آنتی‌بادیهای زودرس در جواب به VCA-EV (این آنتی‌ژن همراه با

منحنی توزیع تیتراژ آنتی‌بادی‌های ضد EBVA-1 در کودکان هرچکینی و مقایسه آن با گروه کنترل



هوچکین بالاست. از طرف دیگر در بیماری هوچکین تیتراژی بالایی از آنتی‌بادیها نسبت به آنتی‌ژنهای EBV موجود است و این شواهد مطرح کننده این است که بیماری هوچکین ممکن است عارضه نادر مونونوکلئوز باشد. اخیراً تکنیک‌های بیولوژی مولکولی می‌توانند ژنوم EBV را در بیوپسی‌های تومورها نشان دهند(۸).

در کشورهای در حال توسعه که تماس با EBV در بچه‌ها بالاست، حداکثر شیوع سنی بیماری هوچکین نیز در این دوران (یعنی بچه‌ها) دیده می‌شود، ولی در کشورهای توسعه یافته، تماس با این ویروس در سنین بالاتر و حداکثر شیوع نیز در بالغین جوان عارض می‌گردد(۶،۱۶). در کسانی که سابقه ابتلاء به بیماری مونونوکلئوز را دارند، شیوع

منابع

- 1- Carde P, Current issues in Cancer: Hodgkin's disease British Medical Journal, Vol. 305, July 1992: 99-102.
- 2- Cheeseman S.H. Infectious mononucleosis Seminars in Haematology. Vol. 25, No. 3, 1988: 261-268.
- 3- Evans A.S. A case control study of Hodgkin's disease in Brazil. American Journal of Epidemiology, Vol. 113, No. 5, 1980: 609-617.
- 4- Gledhill. S. et al. Vitral involvement in Hodgkin's disease : Detection of clonal type A ABV genomes in tumor samples.
- 5- Gorgievski M. et al. Serodiagnosis of infectious mono by using recombinant EBV antigens and ELISA technology. Journal of clinical microbiology, Vol. 28, No. 10, 1990: 2305-2311.
- 6- Gutenson 2 cole, Environment & Hodgkin's disease, New England Journal of Medicine, Vol. 304, 1981: 138-140.
- 7- Harris N.L. Epstein barr virus in lymphoma. American Journal of Clinical Pathology, Vol. 98. No. 3, 1992: 278-281.
- 8- Jarret R.F. Hodgkin's disease & EBV pathogenicity. Baillir, s clinical hematology, Vol. 5, No. 1, 1992: 57-79.

- 9- Jawetz Ernest. Review of medical virology, herpes virus family.
- 10- Levine P.H. Elevated antibody titers to EBV in Hodgkin's disease, *Cancer*, Vol. 27 Feb 1971: 416-421.
- 11- Muller et al. Non Hodgkin's lymphoma & EBV. *International Journal of Cancer*, Vol. 49, 1991: 387-393.
- 12- Muller N. & Evans Se. D. Hodgkin's disease & EBV. Altered antibody pattern before diagnosis. *New England Journal of Medicine*, Vol. 320, No. 11, 1989: 689-95.
- 13- Purtilo D. J. Biology of disease Epstein - barr virus associated lymphoproliferative disorders. *Labiratorp investigation*, Vol. 67, No. 1, 1992: 5-23.
- 14- Putrilo D.J. EBV infection in immunodeficient patients. *Cancer research*, Vol. 41, Nov. 1981: 4230-4234.
- 15- Rose: *Manual of clinical laboratory immunology*.
- 16- Shope J.C. Epstein - barr virus antibody in childhood's hodgking's disease, *American Journal of Disease of children*, Vol. 136, Aug. 1982: 701-703.
- 17- Sullivan J.L. Epstein barr virus & lymphoproliferative disorders. *seminars in hematology*, Vol. 25, No. 3, 1988: 269-279.
- 18- Summaya C. Valent. Endogenous reactivation of EBV infections. *Journal of infectious disease*, Vol. 135, No. 3. 1977: 374-378.
- 19- Thorely - Lawson D.A. Basic virological aspects of Epstein barr virus infections *seminars in hematology* Vol. 25, No. 3, 247-260.
- 20- *Wintrob ed clinical haematology (1993)*.

۲۳/۱۳۷۷