بررسی همراهی ژنوم HHV-8 و HTLV-1 با سارکوم کاپوزی

* دکترمحمود محمودی، ** مریم راستین ، *** دکتر علیرضا خویی

*دانشیار مرکز تحقیقات ایمونولوژی پژوهشکده بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

** دستیار تخصصی ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

*** دانشیار بخش آسیب شناسی بیمارستان امام رضا(ع)، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تاریخ دریافت مقاله: ۸۳/۱۱/۱۵ ، تاریخ پذیرش مقاله: ۸۴/۴/۲۹

چکیده

هدف: سارکوم کاپوزی یک تومور پوستی است که در بیمارانی که سیستم ایمنی تضعیف شده دارند و در دریافت کنندگان پیوند به علت مصرف داروهای سرکوب کننده ایمنی دیده می شود. ویروسهای HTLV-1 وHHV-8 از ویروسهای لنفوتروپیکی هستند که ارتباط آنها با ایجاد بدخیمی‌های مختلف مورد بررسی می باشد. این ویروسها می توانند عوامل اولیه و یا عوامل مساعد کننده در ایجاد بدخیمی ها مانند سارکوم کاپوزی باشند. دراین مطالعه وجود ژنوم ویروس های HTLV-1 و HHV-8 در نمونه های بافتی ضایعات سارکوم کاپوزی تشخیص داده شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار: در این پژوهش ۳۵ نمونه بیوپسی بافت پوست با تشخیص سارکوم کاپوزی در آزمایشگاه آسیب شناسی بیمارستان امام رضا (ع) که با بررسی میکروسکوپی مجدد تشخیص تایید گردیده بود انتخاب شد. پس از تهیه برش های ۵ میکرونی از این نمونه ها و پارافین زدایی، عمل استخراج DNA انجام شد. سپس با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای نواحی tax ، LTR و pol ، ژنوم HTLV-1 و با پرایمرهای اختصاصی برای نواحی ORF-26 و ORFK9-1، ژنوم HHV-8 تکثیر و مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج این مطالعه نشان می دهد که در هیچیک از نمونه های بافتی سارکوم کاپوزی، ژنوم HTLV-1 وجود نداشت در حالی که در تمامی این نمونه ها (۱۰۰٪) حضور ژنوم HHV-8 تایید شد.

نتیجه گیری: بر اساس این یافته ها می‌توان استنباط نمود که آلودگی با ویروس HTLV-1 در ایجاد سارکوم کاپوزی و در فعال شدن عفونت ویروس HHV-8 دخالتی ندارد.

کلمات کلیدی : سارکوم کاپوزی، HHV-8، HTLV-1 .

مقدمه

سارکوم کاپوزی (Kaposi's sarcoma, KS) یک تومور بدخیم عروقی می باشد که نخستین بار توسط آقای کاپوزی (Kaposi) در سال ۱۸۷۲ در پوست با عنوان Idiopathic multiple pigmented sarcoma of the skin معرفی گردید(۴). این بیماری ناشی از تکثیر سرطانی سلولهای مزانشیمی با ایجاد عروق جدید و با انواع بالینی متفاوت می باشد که همگی دارای منشاء مشابه بوده و به صورت تومورهای متعدد پوستی یا احشایی بروز می کنند. علیرغم آنکه هنوز ماهیت دقیق ضایعه مشخص نگردیده، اما چنین پذیرفته شده است که عامل ایجاد بیماری ویروس نبوده (not virus induced) بلکه ممکن است ویروسها همراه با آن گردند (virus associated). همچنین سیر بیماری به شدت تحت تاثیر وضعیت سیستم ایمنی بیمار می‌باشد (۱۷). گروهی از ویروسها در گذشته به عنوان عامل ایجاد کننده بیماری در نظر گرفته شده است که شامل HIV-1 ، CMV و HPV بوده اند. در سال ۱۹۹۴ Chang و همکارانش در سلولهای سارکوم کاپوزی در فرد مبتلا به ایدز ویروسی را کشف نمودند که به عنوان هرپس ویروس همراه با سارکوم کاپوزی(Kaposi's sarcoma associated herpes virus) نام نهادند که امروزه به عنوان HHV-8 (ویروس هرپس انسانی- ۸) شناخته می شود. این ویروس اولین ویروس انسانی از گروه موسوم به رادینوویروسها (Rhadinovirus) می باشد. امروزه شواهد زیادی وجود دارد که HHV-8 به احتمال زیاد در ایجاد سارکوم کاپوزی نقش دارد ولی به نظر می رسد ادامه رشد سارکوم کاپوزی وابسته به مجموعه ای از عوامل

نویسنده مسئول: دکتر محمود محمودی ، تلفن ۱۵-۸۵۱۵۱۱۰-۰۵۱۱، نمابر ۸۵۹۱۹۲۲- ۰۵۱۱

Email: mahmoudi@mums.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

می باشد(۱۷). چهارنوع بالینی متفاوت برای سارکوم کاپوزی گزارش شده است که عبارتنداز:

۱- سارکوم کاپوزی مزمن یا نوع کلاسیک (Chronic or Classic KS)

۲- سارکوم کاپوزی آندمیک یا نوع آفریقایی (Endemic or African KS)

۳- سارکوم کاپوزی بعد پیوند (Transplantation associated KS)

۴- سارکوم کاپوزی وابسته به ایدز (AIDS related KS)

در بین انواع مختلف بالینی سارکوم کاپوزی نمای میکروسکوپی ضایعات تقریبا مشابه بوده و تفاوت اساسی وجود ندارد. سارکوم کاپوزی ازنظر بالینی در پوست دارای سه مرحله پچ (patch)، پلاک (plaque) و ندول (nodule) می باشد. از نظر آسیب شناسی بافتی مشخصه ضایعه، مقاطع عروقی فراوان کوچک و منشعب در ضخامت درم در مرحله پچ می باشد که در مرحله پلاک تعداد آنها افزایش یافته، دستجات کوچکی از سلولهای دوکی شکل به ویژه در اطراف عروق نمایان گردیده وضایعه ممکن است تا عمق درم و هیپودرم گسترش یابد. گرچه تحقیقات مختلف در مورد منشاء این سلول ها (عروق خونی یا لنفی) به نتایج متفاوتی منتج شده است اما شواهد بیشتر به نفع منشاء عروق لنفی دراین تومور است (۱۷).

شروع بیماری سارکوم کاپوزی با اختلال سیستم ایمنی همراه است. به نظر می رسد ایجاد این بیماری نتیجه واکنش پیچیده عوامل متعدد همانند سیتوکاین های نوع Th1 (که در نتیجه عوامل عفونی و یا در اثر عوامل ناشناخته ایجاد می شوند) و اختلال سیستم ایمنی از طرفی و بیان کنترل نشده انکوژن ها و ژنهای سرکوب کننده تومور از طرف دیگر باشد لذا نقش عوامل عفونی مختلفی در ایجاد و یا به عنوان عوامل مستعدکننده ایجاد سارکوم کاپوزی بررسی شده است. ویروس های HTLV-1 و HHV-8 جزو ویروسهای لنفوتروپیکی هستند که ارتباط آنها با ایجاد سارکوم کاپوزی در مراکز تحقیقاتی مورد مطالعه می باشد (۱۵،۱۳،۹،۸،۵،۳،۲).

HHV-8 (Human herpesvirus-8) هرپس ویروس انسانی است که دارای DNA دو رشته ای بوده و قبلا به نام KSHV (kaposi's sarcoma associated herpesvirus) شناخته می شد (۴). این ویروس می تواند عامل اولیه ایجاد بیماری KS باشد و یا در بیمارانی که سیستم ایمنی تضعیف شده دارند (بیماران دریافت کننده پیوند و یا افرادی که با ویروسهای ضعیف کننده سیستم ایمنی آلوده شده اند) ایجاد بیماری نماید. در مراحل اولیه بیماری ویروس HHV-8 سلولهای آندوتلیال را فعال می کند اما در ضایعات پیشرفته بیان ژنهای مرحله دیررس ویروس مثل ژن TR (terminal repeat) با بروز بدون کنترل انکوژنها و ژنهای سرکوب کننده تومور ارتباط داشته و دارای نقش اساسی در ایجاد تغییرات بدخیمی (ترانسفورماسیون) و به وجود آوردن سارکوم حقیقی دارد (۱۴،۷). سیتوکاین های التهابی محرک مهمی برای فعال شدن ویروس HHV-8 در درون سلولهای آلوده بوده و موجبات گسترش و پراکندگی ویروس در بافتها را فراهم می کنند. گسترش عفونت HHV-8 نوعی از پاسخهای ایمنی را تحریک می کند که قادر به کنترل عفونت ویروسی نبوده و بر عکس موجب تحریک، فعال شدن و ایجاد ضایعات سارکوم کاپوزی می شود. علاوه بر این ویروس HHV-8 می تواند با روشهای متعددی همچون جلوگیری از فعال شدن مسیر Fas و یا با کاهش میزان مولکولهایMHC کلاس I از دسترس پاسخهای ایمنی سیتوتوکسیک نیز فرار نماید (۱، ۶).

ویروس HTLV-1 نیز یک رتروویروس لنفوتروپیک است که در مناطق خاصی از جهان انتشار آندمیک دارد. این ویروس درکشور ایران درشمال استان خراسان آندمیک است و حدود ۳٪ از افراد در این مناطق به آن آلوده می باشند. عفونت HTLV-1 موجب ایجاد نقایص ایمنی در میزبان می شود و فرد را مستعد ابتلا به عفونتهای فرصت طلب نموده و در ۵-۱٪ افراد آلوده نیز ایجاد بیماری های ATL و یا HAM/TSP می کند (۲). HTLV-1 با تاثیر برعوامل نسخه برداری سلولی موجب افزایش بیان برخی از ژنهای مهار کننده رشد سلولی مثل IL-2 و IL-2R و افزایش نسخه برداری بدون مهار در سلولهای آلوده می شود و در سلولها تغییر بدخیمی و هیپرپلازی پلی کلونال و منوکلونال ایجاد می کند. علاوه بر این ژن tax ویروس HTLV-1 موجب کاهش بیان ژن آنزیم β- پلیمراز در سلولهای آلوده شده و با افزایش میزان خطا در هنگام نسخه برداری احتمال ایجاد ناهنجاری را افزایش می دهد.

در مطالعه حاضر وجود ژنوم ویروس های HTLV-1 و HHV-8 در نمونه های بافتی ضایعات سارکوم کاپوزی تشخیص داده شده در آزمایشگاه آسیب شناسی بیمارستان امام رضا (ع) را مورد بررسی قرار دادیم.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش کار

در این مطالعه تحلیلی اسلایدهای میکروسکوپی موارد سارکوم کاپوسی موجود در بایگانی بخش آسیب شناسی بیمارستان امام رضا (ع) که در ۲۰ سال گذشته به عنوان سارکوم کاپوزی تشخیص داده شده بودند مورد بررسی مجدد میکروسکوپی قرار گرفته و در صورت لزوم از بافتهای پارافینه برشهای مجدد و رنگ آمیزی اختصاصی به عمل آمد و توسط پاتولوژیست ۳۵ مورد با تشخیص قطعی سارکوم کاپوزی برای مطالعه مولکولی انتخاب شدند. از نمونه های پارافینه برشهای ۵ میکرونی تهیه و در میکروتیوب های استریل قرار گرفته و جهت استخراج DNA و بررسی های ملکولی به آزمایشگاه بیولوژی ملکولی پژوهشکده بوعلی ارسال گردید.

استخراج DNA از بافت پارافینه: نمونه های بافتی برش خورده ۵ میکرونی ابتدا دو بار با استفاده از ۱ میلی‌لیتر اکتان (هر بار۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و سانتریفوژ در دور۸۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه) و دو بار نیز با ۰/۵ میلی‌لیتر اتانل مطلق(سانتریفوژ در دور۸۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه) و ۳-۲ قطره استن و انکوباسیون در دمای ۵۰ °C به مدت ۵-۳ دقیقه پارافین زدایی شدند و بعد از آن توسط ۱۰۰ µl بافر (Tween ٪۰/۵ , EDTA ۱ mM , Tris ۵۰ mM) حاوی ۲۰۰ µg/ml آنزیم پروتئیناز K مورد هضم آنزیمی قرار گرفت (انکوباسیون در طول شب در دمای ۳۷°C) و سپس ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ °C قرار گرفت و بعد از سانتریفوژ در دور ۸۰۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه محلول رویی (supernatant) که حاوی DNA است جمع آوری شده و جهت آزمایش PCR در دمای ۲۰ °C- نگهداری شد.

PCR: ابتدا برای اطمینان از سالم بودن DNA استخراج شده و نبودن مواد مهار کننده (PCR inhibitors) در آزمایش بر روی همه نمونه ها با پرایمرهای بتا اکتین که یکی از ژنهای housekeeping است و در همه افراد بیان می شود آزمایش PCR انجام شد و پس از آن با استفاده از پرایمرهای اختصاصی که برای نواحی tax، pol و LTR ویروس HTLV-1 و نواحی ORF-26 و ORFK9-1 ویروس HHV-8 طراحی شده است PCR اختصاصی انجام گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده و طول قطعات مورد انتظار در PCR در جدول ۱ مشخص شده است.

تکثیر DNA با همه پرایمرها ابتدا در شرایط استاندارد و با حجم نهایی ۲۵ µl انجام و در صورت نیاز برای حذف باندهای غیر اختصاصی برای هر پرایمر عمل بهینه سازی واکنش با تغییر دمای annealing و یا تغییر حجم‌های $MgCl_2$ و dNTPs و پرایمرها صورت گرفت. تکثیر DNA در ترموسایکلر Techne مدل Genius در ۴۵ سیکل انجام شد و دمای annealing مناسب هر سری پرایمر به صورت تجربی تعیین گردید تا باندهای غیر اختصاصی حذف شوند. شرایط بهینه به صورت زیر مشخص شد: (۱ unit Taq DNA pol، ۲۰۰ µm dNTP ، ۴ mM ، ۲µl DNA ، ۰/۳ mM primers ، $MgCl_2$ برای تکثیر DNA مربوط به ناحیه ORF-26 ویروس HHV-8 جهت افزایش حساسیت واختصاصیت واکنش آزمایش PCR به صورت nested-PCR انجام شد. در مرحله دوم این واکنش مقدار ۲ µl از محصول مرحله اول به لوله آزمایش افزوده شد وتعداد سیکلها نیز در مرحله دوم ۳۰ سیکل تعیین گردید. بقیه شرایط همانند مرحله اول انجام شد. پس از اتمام PCR مقدار ۵ µl از محصول بر روی ژل آگارز ۲٪ حاوی ۰/۳٪ اتیدیوم بروماید به مدت یک ساعت الکتروفورز ونتیجه توسط اشعه UV مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای به کار رفته برای بررسی وجود ژنوم HTLV-1 و HHV-8.

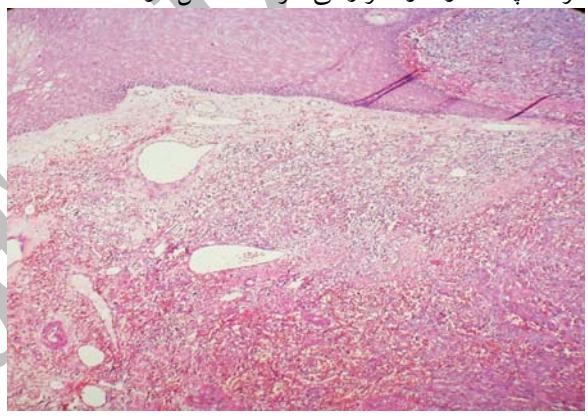
نام پرایمر	ژن مربوطه	توالی	طول قطعه
HT-1	HTLV-1 tax	GGA TAC CCA GTC TAC GTG T	158 bp
HT-2	HTLV-1 tax	GAG CCG ATA ACG CGT CCA TCG	
HT-1	HTLV-1 tax	GGA TAC CCA GTC TAC GTG T	367 bp
HT-4	HTLV-1 tax	GGT CTG GAA AAG ACA GGG TTG	
HP-1	HTLV-1 pol	CCC TAC AAT CCA ACC AGC TCA G	250 bp
HP-4	HTLV-1 pol	AAT ACC AAT GGG TTT GTT T	
LT-1	HTLV-1 LTR	AAA AGC GTG GAG ACA GTT CAG GAG G	451 bp
LT-2	HTLV-1 LTR	TCG TAT CCC GGA CGA GCC CCC AA	
K9F	HHV-8 ORFK9-1	CCC TTT CGC GGA TAT ACA CA	184 bp
K9R	HHV-8 ORFK9-1	AGT GAG GGG AAA GCG TCA AT	
26F(out)	HHV-8 ORF-26	AGC CGA AAG GAT TCC ACC AT	233 bp
26R(out)	HHV-8 ORF-26	TCC GTG TTG TCT ACG TCC AG	
26F(in)	HHV-8 ORF-26	TAT TCT GCA GCA GCT GTT GG	138 bp
26R(in)	HHV-8 ORF-26	TCT ACG TCC AGA CGA TAT GTG C	

Archive of SID

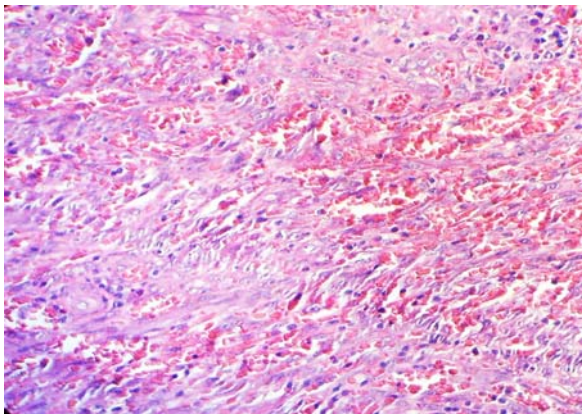
www.SID.ir

نتایج

از نظر پراکندگی محل ضایعات بر اساس اطلاعات موجود ۵۶٪ نمونه ها از ضایعات پا، ۲۶٪ نمونه ها از ضایعات دست و ۱۵٪ از ضایعات سایر نواحی بود. همچنین از نظر پراکندگی سنی اکثر بیماران (۷۸٪) در سنین بالای ۶۰ و فقط ۲۲٪ در سنین زیر ۶۰ سال هستند. ۸۹٪ از نمونه ها متعلق به بیماران مرد و ۱۱٪ متعلق به بیماران زن بود. تمامی نمونه های انتخاب شده دارای نمای مشخص بافتی سارکوم کاپوسی بوده و اغلب در مرحله پلاک و ندول قرار می گرفتند (شکل ۱و۲).



شکل ۱: نمای بافتی سارکوم کاپوسی در مرحله ندولر، رنگ آمیزی H/E ، درشت نمایی ۲۰×۱۰ .



شکل ۲: نمای بافتی سارکوم کاپوسی در مرحله ندولر، رنگ آمیزی H/E، درشت نمایی ۲۰×۱۰ .

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که در هیچ یک از نمونه ها در PCR انجام شده با پرایمرهای tax، pol و LTR ، DNA ویروس HTLV-1 وجود ندارد. در حالی‌که در تمامی نمونه های مورد مطالعه (۱۰۰٪) وجود DNA مربوط به ویروس HHV-8 مشخص گردید (جدول ۲).

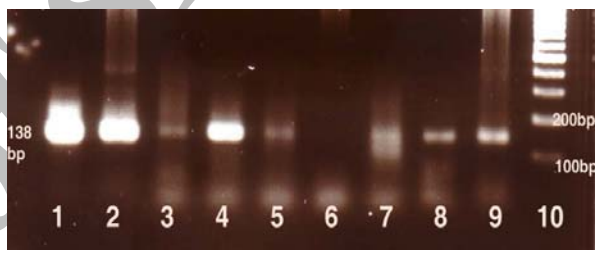
جدول ۲: اطلاعات بیماران ونتایج PCR با پرایمرهای ویروس HHV-8 و ویروس HTLV-1.

مشخصات بیماران			HHV-8 PCR				HTLV-1 PCR		
شماره	جنس	سن (سال)	ORF-26 (out)	ORF-26 (in)	ORFK9-1	LTR	tax	pol
۱	مذکر	۶۵	+	+	–	–	–	–
۲	مذکر	۲۵	+	+	–	–	–	–
۳	مذکر	۴۱	+	+	+	–	–	–
۴	مذکر	۷۹	+	+	+	–	–	–
۵	مذکر	۷۵	+	+	+	–	–	–
۶	مونث	۵۰	+	+	+	–	–	–
۷	مذکر	۶۱	+	+	+	–	–	–
۸	مذکر	۴۵	–	+	+	–	–	–
۹	مذکر	۴۳	+	+	+	–	–	–
۱۰	مذکر	۶۴	+	+	+	–	–	–
۱۱	مذکر	۷۵	+	+	+	–	–	–
۱۲	مذکر	۶۴	+	+	+	–	–	–
۱۳	مذکر	۷۰	+	+	+	–	–	–
۱۴	مذکر	۴۳	+	+	+	–	–	–
۱۵	مذکر	۷۰	–	+	+	–	–	–
۱۶	مذکر	۱۹	+	+	+	–	–	–
۱۷	مذکر	۴۵	+	+	+	–	–	–
۱۸	مذکر	۴۲	–	+	+	–	–	–
۱۹	مذکر	۷۳	+	+	+	–	–	–
۲۰	مذکر	۶۰	–	+	+	–	–	–
۲۱	مذکر	۷۰	+	+	+	–	–	–
۲۲	مونث	۶۰	+	+	+	–	–	–
۲۳	ثبت نشده	ثبت نشده	–	+	+	–	–	–
۲۴	مذکر	۷۵	+	+	+	–	–	–
۲۵	مذکر	۶۸	+	+	+	–	–	–
۲۶	مذکر	۸۹	+	+	–	–	–	–
۲۷	مذکر	۴۳	+	+	+	–	–	–
۲۸	مذکر	۶۰	–	+	+	–	–	–
۲۹	مونث	۷۵	+	+	+	–	–	–
۳۰	مذکر	۸۰	–	+	+	–	–	–
۳۱	مذکر	۶۰	–	+	+	–	–	–
۳۲	مذکر	۶۱	+	+	+	–	–	–
۳۳	مذکر	۶۰	–	+	–	–	–	–
۳۴	مذکر	۶۸	–	+	+	–	–	–
۳۵	مونث	۷۸	+	+	+	–	–	–

Archive of SID

www.SID.ir

همانگونه که در جدول نتایج مشاهده می شود حساسیت پرایمرهای مختلف در تکثیر HHV-8-DNA متفاوت است به گونه ای که در PCR با استفاده از پرایمرهای outer ناحیه ORF-26 در ۲۵ نمونه از ۳۵ نمونه (۷۱٪) نتیجه مثبت شد در حالی که در nested-PCR که به دنبال مرحله اول با استفاده از پرایمرهای inner همین ناحیه ORF-26 انجام شد در تمامی نمونه ها HHV-8-DNA تکثیر و نتیجه PCR مثبت گزارش گردید (۱۰۰٪). به منظور تعیین حساسیت PCR با پرایمرهای مربوط به ناحیه ORFK9-1 نیز صورت پذیرفت که در ۴ نمونه از ۳۵ نمونه (۱۱٪ موارد) نتیجه منفی حاصل گردید . (شکل ۳).



شکل ۳: ژل DNA از محصولات Nested-PCR انجام شده با پرایمرهای HHV-8 ORF-26(in).
ستون‌های ۱ الی٤ و۷ الی ۹: نمونه های بیماران، ستون ۵: کنترل مثبت، ستون٦: کنترل منفی، ستون۱۰: استاندارد وزن ملکولی DNA- (100 bp ladder).

بحث و نتیجه‌گیری

ویروس HHV-8 (Human Herpes virus-8) یک گاماهرپس ویروس ازگروه ویروس های ایجاد کننده تغییرات (ترانسفورماسیون) بدخیمی در سلولها است که توانایی ایجاد تومور در میزبان را دارند (۴). از آنجا که این ویروس در سلولهای آندوتلیال و دوکی شکل ضایعات همه انواع بالینی سارکوم کاپوزی وجود دارد گفته می شود که در ایجاد (پاتوژنز) بیماری نقش دارد اما هنوز مکانیسم عملکرد آن در ایجاد سارکوم کاپوزی مشخص نشده است. در ضمن این ویروس در بافتهای غیر سارکومی بیماران KS یافت نمی شود و در سایر تومورهای عروقی مثل آنژیوم و آنژیوسارکوم و تومورهای پوستی دیگر مثل کارسینوم سلولهای اسکواموس (SSC) و ملانوم نیز وجود ندارد (۱۴). ویروس HHV-8 در سلولهای بیماران فوق به طور نهفته و قدیمی زندگی می کند و در شرایطی که سیستم ایمنی فرد تضعیف شود مثل آلوده شدن فرد با ویروس HIV-1 و یا اگر فرد به علت دریافت پیوند، داروهای سرکوبگر ایمنی مصرف کند، فعال می شود (۱۰، ۱۱، ۱۶).

از آنجا که ویروس HTLV-1 نیز با آلوده کردن لنفوسیتهای Th (سلولهای +CD4) سیستم ایمنی را تضعیف و زمینه را برای ایجاد و یا فعال نمودن عفونت های فرصت طلب فراهم می کند و در ضمن چون با افزایش نسخه برداری بدون مهار موجب افزایش بیان تعدادی از ژنهای مهار کننده رشد سلولها می شود، این امکان وجود دارد که آلودگی با ویروس HTLV-1 از طریق فعال کردن عفونت نهفته HHV-8 یک عامل زمینه ساز در ایجاد سارکوم کاپوسی باشد. از آنجا که شمال خراسان از نواحی آندمیک آلودگی ویروس HTLV-1 می باشد، این مطالعه به منظور بررسی احتمالی همراهی این ویروس در بافت های سارکوم کاپوسی طراحی گردید. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که در هیچ یک از نمونه های مورد بررسی DNA ویروس HTLV-1 وجود ندارد، در حالی که وجود DNA ویروس HHV-8 در همه نمونه ها مشخص گردید. لذا می‌توان گفت که آلودگی با ویروس HTLV-1 در ایجاد سارکوم کاپوزی و در فعال شدن عفونت ویروس HHV-8 دخالتی ندارد و در مطالعات بعدی سایر عوامل زمینه ساز موثر در تضعیف سیستم ایمنی مورد بررسی قرار گیرد.

همانگونه که در جدول نتایج نیز مشاهده شد حساسیت پرایمرهای مختلف در تکثیر HHV-8-DNA متفاوت است به طوری که می توان گفت که nested-PCR ناحیه ORF-26 دارای بیشترین حساسیت برای تکثیر DNA ویروس HHV-8 است چون ناحیه فوق دارای کمترین تغییرتوالی(سکوانس) است. در مطالعات قبلی نیز قطعه ORF-26 بهترین قطعه برای شناسایی HHV-8-DNA معرفی شده است (۱۲) لذا پیشنهاد می گردد که در انجام PCR برای تشخیص HHV-8 از پرایمرهای این ناحیه استفاده شود تا از ایجاد پاسخهای منفی کاذب پیشگیری شود.

Archive of SID
www.SID.ir

تشکر وقدردانی

به این وسیله نویسندگان مراتب تشکر وقدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که با حمایت مالی خود امکان انجام این طرح پژوهشی را فراهم نموده اند ابراز می دارند.

References

1. Coscoy L., Ganem D., 2000, Kaposi's sarcoma - associated herpesvirus encodes two proteins that block cell surface display of MHC class I chains by enhancing their endocytosis, Proc. Natl. Acad. Sci., 97: 8051-6.
2. Daibata M., Chikazawa M., Taguchi H., Miyoshi I., 1998, Human herpesvirus 8 in premalignant and cancerous skin lesions in a Japanese patient with Adult T-cell leukemia, Br. J. Haematol., 100: 802-3.
3. Daibata M., Kawachi Y., Miyoshi I., 1997, Human herpesvirus 8 in Kaposi's sarcoma for HIV-negative Japanese woman with adult T-Cell leukemia, Br. J. Haematol., 97: 507-8.
4. Davidson A. J., 2002, Evolution of the herpesviruses, Vet. Microbiol., 86: 69-88.
5. Ensoli B., Sgadari C., Barillari G., Sirianni M.C., Sturzl M., Monini P., 2001, Biology of Kaposi's sarcoma, Eur. J. Cancer, 37: 1251-69.
6. Ishido S., Wang C., Lec B. S., Cohen G. B., Jung J. U., 2000, Downregulation of major histocompatibility complex class I molecules by Kaposi's sarcoma–associated herpesvirus K3 and K5 proteins, J. Virol., 74: 5300-09.
7. Judde J. G., Lacoste V., Briere J., Kassa-Kelembho E., Clyti E., Couppie P., Buchrieser C., Tulliez M., Morvan J., Gessain A., 2000, Monoclonality or oligoclonality of human herpesvirus 8 terminal repeat sequences in Kaposi's sarcoma and other diseases, J. Natl. Cancer Inst., 92: 729-36.
8. Kohno T., Yamada Y., Tsushima H., Sata T., Matsuyama T., Tomonaga M., Kamihira S., 1997, Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences are not present in adult T-cell leukemia, Int. J. Hematol., 66: 391-2.
9. Lebbe C., Agbalika F., de Cremoux P., Deplanche M., Rybojad M., Masgrau E., Morel P., Calvo F., 1997, Detection of human herpesvirus 8 and human T-cell lymphotropic virus type 1 sequences in Kaposi's sarcoma, Arch. Dermatol., 133: 25-30
10. Luppi M., Barozzi P., Schulz T.F., Setti G., Staskus K., Trovato R., Narni F., Donelli A., Maiorana A, Marasca R., Sandrini S., Torelli G., 2000, Bone marrow failure associated with human herpesvirus 8 infection after transplantation, N. Engl. J. Med., 343: 1378-85.
11. Mendez J. C., Procop G.W., Espy M. J., Smith T. F., McGregor C. G., Paya C.V., 1999, Relationship of HHV8 replication and Kaposi's sarcoma after solid organ transplantation, Transplantation, 67: 1200-1
12. Pan L., Milligan L., Michaeli J., Cesarman E., Knowles D.M., 2001, Polymerase chain reaction detection of Kaposi's Sarcoma-associated herpesvirus optimized protocols and their application to myeloma, J. Mol. Diagn., 3: 32-8.
13. Parfenova T. M., Morozov V. A., Il'in K. V., Chistiakova I. A., Samsonov V. A., Averina A.V., Kakezai I. A., Bykovskii A. F., 1994, Detection of markers of the human T-cell leukemia virus in patients with T-cell lymphoma and Kaposi's Sarcoma, Mol. Gen. Microbiol. Virusol., 5: 13-7.
14. Schulz T. F., Sheldon J., Greensill J., 2002, Kaposi's sarcoma associated herpesvirus (KSHV) or human herpesvirus 8 (HHV8), Virus Res., 82: 115-26.
15. Sirianni M. C., Vincenzi L., Fiorelli V., Topino S., Scala E., Uccini S., Angeloni A., Faggioni A., Cerimele D., Cottoni F., Aiuti F., Ensoli B., 1998, Gamma-interferon production in peripheral blood mononuclear cells and tumor infiltrating lymphocytes from Kaposi's sarcoma patients: correlation with the presence of human herpesvirus-8 in peripheral blood mononuclear cells and lesional macrophages, Blood, 91: 968-76.
16. Touloumi G., Hatzakis A., Potouridou I., Milona I., Strarigos J., Katsambas A., Giraldo G., Beth-Giraldo E., Biggar R. J., Mueller N., Trichopoulos D., 1999, The role of immunosuppression and immune-activation classic Kaposi's sarcoma, Int. J. Cancer, 82: 817-21.
17. Weiss S. W., Goldblum J. R., Enzinger and Weiss's soft tissue tumors, 4th edition, Mosby, St. Louise, 2001, 938-47.

Archive of SID

www.SID.ir