بررسي حضور ويروس اپشتين بار در لنفوم هوجكين كودكان ايراني توسط هيبريديزاسيون ناحيه اي EBER

ليلا مظفری[1]، سهراب نجفی پور[2*]، محمد حسن مشکی باف[3]، علی مروج[2]

1- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی، جهرم، ایران.

2- گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فارس، ایران.

3- گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فارس، ایران.

چکیده

زمینه: ویروس اپشتین بار (EBV)، هرپس ویروسی تومورزا است و به خانواده DNA ویروس ها تعلق دارد که لنفوسیت های B را در اکثریت انسانها عفونی کرده و پایدار باقی می ماند و با مواردی از لنفوم هوجکین در ارتباط می باشد. هدف از پژوهش حاضر بررسی میزان حضور ویروس اپشتین بار در نمونه های لنفوم هوجکین کودکان می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه، تعداد 16 نمونه بافتی لنفوم هوجکین بصورت بلوک های پارافینه فیکس شده در فرمالین از بایگانی بخش آسیب شناسی علوم پزشکی فسا جمع آوری شد. حضور رونوشت های RNA ی کد شده توسط ویروس با روش هیبریدیزاسیون ناحیه ای EBER (EBER-ISH) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: از بررسی 16 نمونه پارافینه فیکس شده در فرمالین بیماران هوجکین بوسیله هیبریدیزاسیون ناحیه ای EBERs ، 12 نمونه مذکر (75٪) و 4 نمونه مونث (25٪) بودند. محدوده سنی بیماران 12-4 سال (با میانگین سنی 8 سال) بود. در 12 نمونه (75٪) ویروس اپشتین بار حضور داشت. موارد مثبت شامل 9 نمونه مذکر (75٪) و 3 نمونه مونث (75٪) بود. ویروس اپشتین بار در زیر تایپ های مختلف لنفوم هوجکین حضور داشت. 80٪ از زیر تایپ های Mixed cellularity، 67٪ Nodular sclerosis و 100٪Lymphocyte predominance مثبت شدند. حضور ویروس اپشتین بار در گروه های سنی 7-4 سال و 12-8 سال به ترتیب 71/5٪ و 77/8 بود.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش بیانگر ارتباطی قوی بین ویروس اپشتین بار و لنفوم هوجکین در کودکان می باشد. ارتباط لنفوم هوجکین و ویروس اپشتین بار در کودکان ایرانی الگوی مشابهی با دیگر کشور های در حال توسعه را نشان می دهد.

کلمات کلیدی: ویروس اپشتین بار، لنفوم هوجکین، هیبریدیزاسیون ناحیه ای، EBERs

Archive of SID

www.SID.ir

Analysis of the presence of Epstein-Barr virus in Hodgkin's lymphoma in Iranian children by EBER in situ hybridization

Mozafari Leila[1], Najafipour Sohrab[2*], Meshkibaf Mohammad-Hasan[3], Moravej Ali[2]

1- Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran.

2- Department of Microbiology, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Fars, Iran.

3- Department of Biochemistry, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Fars, Iran.

*Corresponding Author: Sohrab Najafipour

E-mail: sohrabnajafipour@yahoo.com

Tel: 0098 917 701 7174

Address: Department of Microbiology, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Fars, Iran.

Archive of SID

Abstract

Background & ***Objectives:*** Epstein-Barr virus (EBV) is a tumorigenic herpes virus and belong to DNA viruses that infects and persists in B lymphocytes with in the majority of humans and is also associated with some of cases of Hodgkin lymphoma (HL). The aim of the present study was to investigate the presence of Epstein-Barr virus in Hodgkin's lymphoma in children.

Materials & Methods: In this study, 16 formalin-fixed paraffin embedded blocks of Hodgkin's lymphoma tissue samples collected from the archive of pathology departments. The presence of RNA transcripts encoded by the virus were examined by EBERs in situ hybridization (EBERs-ISH).

Results: From investigated sixteen formalin-fixed, paraffin-embedded samples of Hodgkin's disease (HD) by EBERs in situ hybridization, 12 samples were from male (75%) and 4 samples were from female (25%). Age range of patients was 4 -12 years (with a median of 8 years). In 12 specimens (75%) Epstein-Barr virus was present. The positive cases included 9 male samples (75%) and 3 female samples (75%). Epstein-Barr virus was present in different subtypes of Hodgkin's lymphoma. 80% of Mixed Cellularity (MC), 67% of Nodular Sclerosis (NS) and 100% of Lymphocyte Predominance (LP) subtypes were positive. The presence of Epstein-Barr virus in the age groups of 4-7 and 8-12 years were 71.5% and 77.8%, respectively.

Conclusion: Results show strong association between Epstein-Barr virus and Hodgkin lymphoma in children. Epstein-Barr virus and Hodgkin lymphoma association in Iranian children show similar pattern with other developing countries.

Keywords: Epstein-Barr Virus, Hodgkin's lymphoma, in situ hybridization, EBERs

www.SID.ir

مقدمه

لنفوم هوجکین (HL) برای اولین بار توسط توماس هوجکین در سال 1832 شرح داده شد (1). این لنفوم یک نئوپلاسم بدخیم مرتبط با سلول های B می باشد که از نظر پاتولوژی، بر طبق تقسیم بندی سازمان جهانی بهداشت (WHO) دو تایپ اصلی برای آن در نظر گرفته شده است که شامل لنفوم هوجکین کلاسیک (CHL) و لنفوم هوجکین غیرکلاسیک می باشد که بر اساس تفاوت های مورفولوژیکی، فنوتیپی، مشخصات مولکولی و کلینیکی از یکدیگر متمایز شده اند. لنفوسیت پرودامیننت (Lymphocyte Predominance) نشاندهنده لنفوم هوجکین غیرکلاسیک می باشد در حالیکه لنفوم هوجکین کلاسیک عبارتند از: میکس سلولاریتی (Mixed Cellularity)، نودولار اسکلروزیس (Nodular Sclerosis)، لنفوسیت دپلیتد (Lymphocyte Depleted) و لنفوسیت ریچ (Lymphocyte Rich) (2). اگر چه علت بیماریزایی لنفوم هوجکین هنوز ناشناخته است ولی تعدادی از مطالعات انجام گرفته، استعداد ژنتیکی افراد را در ارتباط با ابتلا به بیماری نشان داده اند همچنین ارتباطی بین لنفوم هوجکین و آنتی ژن های خاص HLA انسانی گزارش شده است (3). آنالیز پلی مورفیسم های HLA کلاس I نشان می دهد که نقص در عرضه آنتی ژن با خطر ابتلا به لنفوم هوجکین EBV مثبت در ارتباط می باشد (4). مطالعات سرولوژیکی در سال 1970 نشان داد که عفونت با ویروس اپشتین بار ارتباط قوی با لنفوم هوجکین نشان می دهد پس از آن با استفاده از تکنیک ساترن بلات حضور این ویروس در نمونه های لنفوم هوجکین تشخیص داده شد (5). عفونت با ویروس اپشتین بار توسط تماس با ترشحات بزاقی فرد آلوده به افراد دیگر انتقال می یابد، سیر عفونت به سطوح اجتماعی- اقتصادی، عوامل ژنتیکی، مناطق جغرافیایی و سن فرد در زمان اولین برخورد با ویروس بستگی دارد (6-7). بررسی های سرواپیدمیولوژیکی در مقیاس جهانی بیانگر انتشار گسترده ویروس اپشتین بار در مناطق مختلف جغرافیایی دنیا می باشد یافته ها نشان می دهد که در کشور های در حال توسعه اکثر کودکان تا سنین 6 سالگی به ویروس اپشتین بار آلوده می شوند و دارای تیتر آنتی بادی علیه آن می باشند در حالیکه در کشور های توسعه یافته بیش از 50٪ افراد تا سن بلوغ نسبت به ویروس اپشتین بار حساس باقی می مانند. در کودکان عفونت اولیه با ویروس اپشتین بار اغلب پنهان و بدون علایم بالینی یا دارای علایم غیراختصاصی می باشد اما در 75- 35٪ نوجوانان و بالغین جوان این ویروس ایجاد مئونوکلئوز عفونی می کند (8). مطالعات نشان داده است که ویروس اپشتین بار تقریبا با یک سوم لنفوم هوجکین در کشور های توسعه یافته مرتبط بوده در حالیکه میزان بالاتری از ارتباط با ویروس در کشور های در حال توسعه گزارش شده است و ویروس اپشتین بار در این کشور ها اغلب با لنفوم هوجکین از نوع میکس سلولاریتی نسبت به نوع نودولار اسکلروزیس مرتبط می باشد و در کودکان و افراد مسن متداول تر است (9). در مطالعه ای که توسط آل بویه و همکاران در سال 1373 بر روی 139 نمونه ی لنفوم هوجکین کودکان ایرانی انجام گرفت میزان حضور ویروس اپشتین بار در بیماران 73٪ گزارش گردید (10). نجفی پور و همکاران در سال 1382 با مطالعه روی 55 نمونه ی لنفوم هوجکین توسط روش هیبریدیزاسیون ناحیه ای حضور ویروس اپشتین بار در بیماران هوجکین را حدود 73٪ گزارش کرده اند (11). کاتبی و همکاران در سال 1388 با مطالعه بر روی30 مورد لنفوم هوجکین توسط روش ایمنوهیستوشیمی 93٪ حضور ویروس اپشتین بار را در نمونه های لنفوم هوجکین گزارش نموده اند (12). در مطالعه دیگری که توسط جدلی و همکاران در سال 1388 بر روی 36 نمونه لنفوم هوجکین کودکان ایرانی توسط دو روش هیبریدیزاسیون ناحیه ای و ایمنوهیستوشیمی صورت گرفت حضور ویروس اپشتین بار بترتیب 44٪ و 58٪ گزارش گردید (13). ویروس به شدت سلول های سرطانی هوجکین- ریداشتنبرگ (HRS) را ترانسفورم کرده و در این سلول ها انواع مختلفی از پروتئین های نهفته را بیان می کند این پروتئین ها شامل شش آنتی ژن هسته ای (EBNA -1، 2، 3A، 3B، 3C، EBNA-LP) و سه پروتئین نهفته غشایی (LMP -1، LMP-2A، LMP-2B) و دو RNA ی غیر قابل ترجمه (EBER-1، EBER-2) می باشند (14). روش های گوناگونی برای شناسایی ویروس اپشتین بار در سلول های سرطانی وجود دارد که در بین این روش ها تکنیک اختصاصی و حساس هیبریدیزاسیون ناحیه ای (in situ hybridization) برتری دارد و قادر است محصولات ژنی نهفته ویروس (EBERs) را در سلول های بدخیم ریداشتنبرگ شناسایی کند و از آنجایی که رونوشت های EBERs به تعداد زیادی در حدود 1 میلیون کپی بیان می شوند این تکنیک بسیار حساس و دقیق می باشد (15). هدف کلی از این تحقیق، بررسی حضور ویروس اپشتین بار در نمونه های لنفوم هوجکین کودکان با استفاده از تکنیک هیبریدیزاسیون ناحیه ای می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش ها

این پژوهش طی شش ماه در سال 1391 در دانشگاه علوم پزشکی واحد فسا انجام گردید. در این بررسی تعداد 24 نمونه بافتی لنفوم هوجکین از بایگانی بخش آسیب شناسی دانشگاه علوم پزشکی فسا استخراج گردید. نمونه ها به صورت بلوکهای پارافینه فیکس شده در فرمالین بودند. پس از باز بینی مجدد نمونه ها توسط پاتولوژیست از این تعداد حدود 16 نمونه که لنفوم هوجکین آنها تایید گردیده بود برای این بررسی انتخاب شدند و بقیه نمونه ها بدلیل نداشتن اطلاعات مورد نظر از فرد بیمار، عدم وجود بافت کافی در مطالعه وارد نشدند. دامنه سنی بیماران مورد بررسی بین 12–4 سال بود. از بین 16مورد لنفوم هوجکین، 12 مورد مذکر (75٪) و 4 مورد مونث (25٪) بودند. از بلوک های پارافینه اسلاید هایی برای رنگ آمیزی H&E (هماتوکسیلین- ائوزین) تهیه گردید. با استفاده از این رنگ آمیزی می توان لنفوم هوجکین و زیر تایپ های هیستولوژیکی آن را تایید کرد. برای تهیه اسلاید از نمونه های بافتی پارافینه با استفاده از دستگاه میکروتوم برش هایی به ضخامت 4 میکرومتر صورت گرفت و برش های بافتی روی اسلاید های پوشش دار قرار داده شدند سپس این اسلاید ها به مدت 1 ساعت در دمای 70 درجه سانتیگراد قرار گرفتند. این اسلاید ها در محلول های زایلن و الکل اتانول پارافین زدایی و آبگیری شده و با آب جاری شستشو داده شدند سپس اسلاید ها رنگ آمیزی گردید و زیر میکروسکوپ توسط پاتولوژیست مورد بررسی قرار گرفت و لنفوم هوجکین و زیر تایپ های آن مشخص شد.

هیبریدیزاسیون ناحیه ای با استفاده از پروب های الیگونوکلئوتیدی نشاندار شده با فلورسین (Novacastra, NCL-EBV-K) که با رونوشت های RNA ی (EBERs) کد شده توسط ویروس اپشتین بار هیبرید تشکیل می دهد، انجام گرفت. در این روش اسلاید ها به مدت 3 دقیقه در محلول های زایلن و الکل اتانول 99٪ V/V و 95٪ به ترتیب پارافین زدایی و آبدهی شدند. سپس با استفاده از قلم داکو (Dako Denmark A/S - آلمان) حدود بافت مشخص گردید و توسط سمپلر 100 میکرولیتر محلول پروتئیناز K رقیق شده در بافر تریس به بافت ها اضافه شد، اسلاید ها در اتاقک مرطوب قرار گرفته و به مدت 30 دقیقه در دمای 37 درجه سانتیگراد انکوبه شدند. بعد از انکوباسیون، اسلاید ها در آب دیونیزه به مدت 3 دقیقه شستشو داده شد و در اتانول های 95٪ V/V و 99٪ آبگیری انجام گرفت. در مرحله هیبریدیزاسیون 20 میکرولیتر محلول هیبریدیزاسیون پروب (NCL-EBV probe– شرکت Leica انگلیس) به بافت ها اضافه شد و اسلاید ها ابتدا به مدت 15 دقیقه در دمای 65 درجه سانتیگراد و سپس به مدت 2 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد انکوبه گردید. بعد از اتمام انکوباسیون، اسلاید ها در TBS حاوی 0/1٪ V/V Triton x-100 به مدت 3 دقیقه شسته شدند. در مرحله تشخیص، 100 میکرولیتر محلول بلوک کننده (سرم خرگوش رقیق شده در 0/1٪ V/V Triton x-100 و W/V BSA 3٪ TBS,) به بافت ها اضافه گردید و 10 دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد، سپس محلول بلوک کننده روی بافت ها بیرون ریخته شد و Vial A (rabbit f(ab) anti-FITC/AP) با رقت 1 به 180 در محلول رقیق کننده (V/V Triton x-100 0/1٪ و W/V BSA 3٪ TBS,) به اسلاید ها اضافه گردید و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. در مرحله بعد اسلاید ها ابتدا در TBS و پس از آن در بافر سوبسترای آلکالین فسفاتاز شستشو شدند، اسلاید ها تمام شب با محلول حاوی آنزیم سوبسترا (Vial B) که با رقت 1 به 50 در بافر سوبسترای آلکالین فسفاتاز تهیه شده و 1 میکرولیتر مهار کننده Levamisol hydrochloride نیز به آن اضافه گردیده بود، پوشانده شد و در دمای اتاق انکوبه شدند. پس از انکوباسیون به مدت 1 شب، اسلاید ها با آب شستشو شد و با هماتوکسیلین مایر رنگ آمیزی گردید سپس اسلاید ها مانت شدند و توسط پاتولوژیست زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند، موارد مثبت معمولا به صورت سلول های سرطانی دو هسته ای قهوه ای رنگ مشاهده شدند (شکل 1).

تجزیه و تحلیل آماری:

داده ها به وسیله ی نرم افزار آماری spss 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقادیر به دست آمده با استفاده از fisher exact test مقایسه گردید و سطح معنی دار آماری 0/05 در نظر گرفته شد.

نتایج

در این مطالعه تعداد 16 کودک مبتلا به لنفوم هوجکین مورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد 12 بیمار مذکر (75٪) و 4 بیمار مونث (25٪) بودند و نسبت مبتلایان مذکر به مونث (M/F ratio) معادل ۳:۱ می باشد. از نظر دامنه سنی بیماران مورد مطالعه بین 12–4 سال بودند و میانگین سنی معادل 8 محاسبه گردید. بیماران از نظر گروه سنی به دو دسته تقسیم شدند، گروه سنی اول کودکان بین 7–4

Archive of SID

www.SID.ir

سال (43/75 ٪) و گروه سنی دوم کودکان بین 12–8 سال (56/25 ٪) را شامل می شدند. از لحاظ بررسی هـای هیسـتوپاتولوژیکی، 5 بیمار (31/25 ٪) در زیر تایپ میکس سلولاریتی، 9 بیمار (56/25 ٪) در زیر تایپ نودولار اسکلروزیس و 2 بیمار (12/5 ٪) در زیر تایپ لنفوسیت پرودامیننت قرار داشتند. نتایج بررسی حضور ویروس اپشتین بار در نمونه های لنفوم هوجکین توسط تست هیبریدیزاسـیون ناحیـه ای EBER در جداول 1 و 2 نشان داده شده است. با استفاده از این تست حضور ویروس در سلول های سرطانی ریداشتنبرگ 75٪ (12 مورد مثبت از 16 مورد کل) شناسایی شد. بر اساس جنسیت، میزان حضور ویروس اپشتین بـار در مـذکر هـا 75٪ (9 مـورد مثبـت از 12 مورد) و در مونث ها 75٪ (3 مورد مثبت از 4 مورد) بدست آمد و ارتباط بین نتایج آزمایش هیبریدیزاسیون ناحیه ای EBER در دو گـروه لنفوم هوجکین کودکان مونث و مذکر بوسیله آزمون دقیق فیشر بررسی گردید و آنالیز آماری تفاوت معنی داری را بین دو جنس نشان نـداد (p-value: 1/000). میزان حضور ویروس اپشتین بار در زیر تایپ های هیستولوژیکی لنفـوم هـوجکین بـه ترتیـب 80٪ در زیـر تایـپ میکس سلولاریتی (4 مورد مثبت از 5 مورد کل)، 67٪ زیر تایپ نودولار اسکلروزیس (6 مورد مثبت از 9 مورد کـل) و 100٪ زیـر تایـپ لنفوسیت پرودامیننت (2 مورد مثبت از 2 مورد کل) تعیین شد و ارتباط بین نتایج آزمایش هیبریدیزاسیون ناحیـه ای EBER در ایـن زیـر تایپ ها با آزمون دقیق فیشر بررسی گردید و هیچ گونه تفاوت معنی داری بین زیر تایپ ها مشاهده نشد (p-value: 0/826). همچنـین در مطالعه حاضر میزان حضور ویروس در زیر تایپ میکس سلولاریتی نسبت به نودولار اسکلروزیس شـایع تـر مـی باشـد و مـوارد EBV مثبت در گروه سنی 7–4 سال (71/5 ٪) و در گروه سنی 12–8 سال (77/8 ٪) بود و بر اساس آزمون آماری دقیق فیشر تفـاوت معنـی داری بین این دو گروه سنی مشاهده نشد (p-value: 1/000) جدول 1.

بحث

لنفوم هوجکین در سراسر دنیا اتفاق می افتد و دارای اپیدمیولوژی پیچیده ای است که احتمالا بیانگر اتیولوژی چند عاملی نظیر برهمکنش بین فاکتور های ژنتیکی و محیطی می باشد (16–17). سهم ویروس اپشتین بار در اتیولوژی لنفوم هوجکین بر اساس گروه های سنی و منشا جغرافیایی متفاوت است بطوریکه سن افراد در زمان عفونت اولیه با این ویروس به همراه زمینه های ژنتیکی از عوامل مهمی در ایجاد تظاهرات بالینی عفونت به حساب می آیند (17). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که لنفوم هوجکین در کودکان ایرانی با عفونت ویروس اپشتین بار در سلول های بدخیم هوجکین–ریداشتنبرگ ارتباط دارد. اغلب مطالعات صورت گرفته روی لنفوم هوجکین تفاوت های اپیدمیولوژیکی را بین کشور های توسعه یافته و در حال توسعه نشان می دهد. بر اساس مطالعات، توزیع سنی این لنفوم در کشور های توسعه یافته از یک الگوی دو کوهانه پیروی می کند که دارای دو پیک سنی 35–15 سال و بالای 50 سال است (18–19). در حالیکه در کشور های در حال توسعه این دو پیک سنی در کودکان زیر 15 سال و افراد بالای 50 سال وجود دارد (17–20). عفونت ویروس اپشتین بار در تمام جوامع انسانی دیده می شود اما سن ابتلا به عفونت اولیه در جوامع فقیر و پر جمعیت پایین می باشد بطوریکه در نواحی آفریقا، جنوب شرق آسیا و آمریکای لاتین معمولا بیماری هوجکین در اوایل دوران کودکی (تا سنین 5 سالگی) رخ می دهد ولی در کشور های توسعه یافته سن مبتلا شدن به عفونت اولیه بالا تر بوده و منونوکلئوز عفونی در جوانان دیده می شود (21). علاوه بر این وجود یک عامل زمینه ای سرکوب سیستم ایمنی به عنوان دلیلی برای شیوع بالای موارد لنفوم هوجکین EBV مثبت در کشور های در حال توسعه پیشنهاد شده است. عفونت های گوناگون از جمله عفونت با ویروس نقص سیستم ایمنی انسانی (HIV) و سوء تغذیه برخی از علل احتمالی سرکوب سیستم ایمنی در این کشور ها می باشند (22). در کشور های در حال توسعه بطور معمول عفونت اولیه در کودکی رخ داده و لنفوم هوجکین با ویروس اپشتین بار مرتبط بوده و زیر تایپ میکس سلولاریتی در این کشور ها شایع تر می باشد. در حالیکه در کشور های توسعه یافته و صنعتی لنفوم هوجکین در جوانان دارای شیوع بیشتری است و زیر تایپ نودولار اسکلروزیس غالب می باشد (19–23). توده های توموری لنفوم هوجکین از حدود 2٪ سلول های بدخیم هوجکین–ریداشتنبرگ و 98٪ سلول های غیر سرطانی ارتشاحی تشکیل شده است (24). تحقیقات متعددی در زمینه ی تعیین ارتباط و حضور ویروس اپشتین بار با سرطان های مختلف مانند لنفوم بورکیت، لنفوم سلول های B در بیماران ایدزی و پیوندی، کارسینومای نازوفارنکس و لنفوم هوجکین در سرتاسر دنیا در حال انجام می باشد. در ایران نیز چندین تحقیق در مورد حضور و ارتباط داشتن این ویروس و لنفوم هوجکین صورت گرفته است. بسط و گسترش این تحقیقات باعث پدیدار شدن تصویر کاملی از وضعیت ارتباط لنفوم هوجکین و ویروس اپشتین بار در مناطق مختلف جغرافیایی و گروه های مختلف سنی خواهد شد. این مطالعه نیز با استفاده از 16 نمونه پارافینه از کودکان مبتلا به لنفوم هوجکین در علوم پزشکی فسا صورت گرفته است کیفیت نامناسب برخی از نمونه های پارافینه و عدم همکاری گروههای آسیب شناسی در اجازه استفاده از نمونه های مربوطه از جمله .محدودیتهایی بود که در انجام این مطالعه وجود داشت. نمونه ها از بیمارستان امام خمینی تهران و بیمارستان شریعتی جمع آوری شد. ویروس اپشتین بار در 12 مورد از 16 مورد کل لنفوم هوجکین کودکان بین سنین 12–4 سال مشاهده شد و این لنفوم در مطالعه

Archive of SID

www.SID.ir

حاضر به میزان 75٪ با ویروس اپشتین بار ارتباط داشت که تقریبا با سایر مطالعات قبلی انجام شده بر روی کودکان در دیگر کشور های در حال توسعه نظیر پرو (99٪)، جنوب آفریقا (68٪)، چین (72٪)، هند (96٪)، مالزی (93٪)، تایلند (92/8٪)، اردن (47٪) و کویت (79٪) مطابقت دارد و ارتباط قویی را بین لنفوم هوجکین درکودکان ایرانی با عفونت ویروس اپشتین بار نشان می دهد (20، 25-26). شیوع لنفوم هوجکین در مذکر ها بیش تر از مونث ها می باشد که در این مطالعه نیز لنفوم هوجکین در مذکر ها بیشتر بود و نسبت مبتلایان مذکر به مونث 3:۱ محاسبه گردید ولی آنالیز آماری تفاوت معنی داری بین دو جنس نشان نداد بنابراین از نظر شیوع جنسی تفاوت ناچیزی وجود داشت (11،27،28،29،30،31،32) و این می تواند بدلیل کم بودن تعداد نمونه ها باشد. در این مطالعه همچنین آنالیز نتایج بر اساس زیر تایپ های مختلف لنفوم هوجکین نشان داد که حضور ویروس اپشتین بار در زیر تایپ میکس سلولاریتی نسبت به زیر تایپ نودولار اسکلروزیس بالا تر می باشد که با سایر مطالعات قبلی صورت گرفته در کشور های در حال توسعه مطابقت دارد (11،26،27،29،32،33). در کشور های در حال توسعه اولین بروز سنی لنفوم هوجکین در سنین 7 تا 12 سالگی رخ می دهد در حالیکه در کشور های توسعه یافته شیوع اولیه با تاخیر در اوایل بلوغ یا بزرگسالی اتفاق می افتد. گزارش های قابل توجهی مبنی بر نقش ویروس اپشتین بار در درصد بالایی (گاهی تا صد در صد) از نمونه های لنفوم هوجکین بویژه در کشور های در حال توسعه مشاهده شده است و علاوه بر آن فاکتور های متعددی از جمله شرایط ژنتیکی یا محیطی، موقعیت های جغرافیایی و اقتصادی در ایجاد بیماری دخالت دارند و در این مطالعه نیز مشابه مطالعات قبلی شیوع لنفوم هوجکین کودکان در هر دو گروه سنی 7-4 سال و 12-8 سال مشاهده شد و تا حدودی در گروه سنی 12-8 سال بیشتر بود (32-34). با بررسی سایر مقالات و مطالعات مشابه که تاکنون در این زمینه انجام گرفته است مشخص می شود که عدم ایجاد تغییرات آماری معنا دار در برخی از بخش های مطالعه حاضر می تواند بدلیل کم بودن تعداد نمونه های موجود باشد حال آنکه در اکثر مقالات و مطالعات مشابه تعداد نمونه های مورد بررسی بسیار بیشتر بوده است.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه، میزان ارتباط ویروس اپشتین بار با نمونه های لنفوم هوجکین در کودکان زیر 14 سال 75٪ مشاهده شد که این نتایج بیانگر ارتباط قوی بین ویروس اپشتین بار با لنفوم هوجکین در کودکان ایرانی می باشد و الگویی مشابه با سایر کشور های در حال توسعه نشان می دهد.

Refrences

1. Hodgkin T. On some morbid appearances of the absorbent glands and spleen. Med Chirurg Trans. 1832; 17:69-97.

2. Stein H, Delsol G, Pileri S, et al:Hodgkin Lymphoma In: Jaffe ES, Harris NL, Stain H, Vardiman JW. Pathology and genetics of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press. Lyon. 2001; pp. 237-253.

3. Kaufman D, Longo L. Hodgkin's disease in: E.Lenhord R, T.Osteen R, Gansler T. Clinical oncology. 2nd ed. United states of America: Churchill livingstone; 2000 Chapter 90. P. 2620-2648.

4. Diepstra A, Niens M, Vellenga E, et al. Association with HLA class I in Epstein-Barrvirus-positive and with HLA class III in Epstein-Barr-virusnegative Hodgkin's lymphoma. Lancet. 2005; 365(9478):2216-2224.

5. Rezk SA, Weiss LM. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders. Hum Pathol. 2007; 38:1293-1304.

6. Maeda E, Akahane M, Kiryu S, et al. Spectrum of Epstein-Barr virus-related diseases: a pictorial review. Jpn J Radiol. 2009; 27:4-19.

Archive of SID

www.SID.ir

7. Talaro KP, Talaro A. Foundations in microbiology. 4th ed. New York: McGraw-Hill; 2002.

8. Modarres Sh, Modarres Sh. A survey of Epstein-Barr virus (EBV) infection in children and adults in Tehran. Iranian Journal of Public Health. 2000; 29(1-4):53-60. [Article in Persian].

9. Mohammed S. Saeed. Epstein-Barr virus in Hodgkin's lymphoma - immunohistochemical case series study. Ann Coll Med Mosul. 2009; 35(2):93-103.

10. Alebouyeh M, Vossough P. Hodgkin disease in Iranian children. Eur J Pediatr. 1993; 152(1):21-3. [Article in Persian].

11. Najafipour S, Mokhtari Azad T, Kousari F, Mahmoodi M, Nategh R. Association of Epstein-Barr Virus and Hodgkin's Disease. Acta Medica Iranica. 2003;41(1):1-10.

12. Katebi M, Sharifi N, Tarhini M, et al. Frequency of Epstein-Barr virus expression in various histological subtypes of Hodgkin's lymphoma. Histo pathol. 2008; 52:775-776. [Article in Persian].

13. Jadali F, Karimi A, Fallah F, Habibi G, et al. Detection of Epstein-Barr virus in Pediatric Hodgkin's Lymphoma in Iran by immunohistochemistry and in situ hybridization. Cancer Therapy. 2008; 6:665-672. [Article in Persian].

14. Young LS, Murray P G. Epstein–Barr virus and oncogenesis: from latent genes to tumours. Oncogene. 2003; 22:5108-5121.

15. Wu TC, Mann RB, Charache P, et al. Detection of EBV gene expression in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. Int J Cancer. 1990; 46:801-804.

16. Nakatsuka S, Aozasa K. Epidemiology and pathologic features of Hodgkin lymphoma. Int J Hematol. 2006; 83(5):391-397.

17. Massini G, Siemer D, Hohaus S. EBV in Hodgkin Lymphoma. Medit J Hemat Infect Dis. 2009; 1(2), Open Journal System. Review

18. MacMahn B. Epidemiology of Hodgkin's disease. Cancer Res. 1966; 26:1189-200.

19. Almars NM. Hodgkin's lymphoma in North Jordan. Saudi Med J. 2004; 25:1917-1921.

20. Zhou XG, Sandvej K, Li PJ, et al. Epstein-Barr Virus (EBV) in Chinese Pediatric Hodgkin Disease. Cancer. 2001; 92:1621-1631.

21. Figueira-Silva CM, Pereira FE. Prevalence of Epstein-Barr virus antibodies in healthy children and adolescents in Vitoria, state of Espirito santo, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2004; 37(5):409-412.

22. Adelusola KA, Titiloye NA, Rotimi O, et al. Epstein Barr virus latent membrane protein-1 in Hodgkin's lymphoma in Nigerians. Afr Health Sci. 2009; 9(3):174-178.

23. Hjalgrim H, Engels EA. Infectious aetiology of Hodgkin and non-Hodgkin lymphomas: a review of the epidemiological evidence. J Intern Med. 2008; 264(6):537-548. Review

Archive of SID

www.SID.ir

24. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. Blood. 1994; 84(5):1361-1392.

25. Staratschek-Jox A, Sascha Kotkowski S, Belge G, et al. Detection of Epstein- Barr Virus in Hodgkin-Reed-Sternberg Cells. Am J Pathol. 2000; 156:209-216.

26. Dinand V, Dawar R, Arya LS, et al. Hodgkin's lymphoma in Indian children, prevalence and significance of Epstein-Barr virus detection in Hodgkin's and Reed-Sternberg cells. Eur J ancer. 2007; 43:161-168.

27. Makar RR, Saji T, Junaid TA. Epstein-Barr Virus Expression in Hodgkin's Lymphoma in Kuwait. Pathol Oncol Res. 2003; 9(3):159-165.

28. Azzam SA. High Incidence of Hodgkin's disease in children in Lebanon. Cancer Research. 1966; 26:1202-1203.

29. Gad-El-Mawla N, El-Deeb BB, Abu-Gabal A, et al. Pediatric Hodgkin's Disease in Egypt. Cancer. 1983; 52: 1129-1131.

30. Engel M, Essop M F , Close P, et al. Improved prognosis of Epstein-Barr virus associated childhood Hodgkin's lymphoma: study of 47 South African cases. J Clin Pathol. 2000; 53:182-186.

31. Armstrong AA, Alexander FE, Paes RP, et al. Association of Epstein-Barr virus with pediatric Hodgkin's disease. Am J Pathol. 1993; 142:1683-1688.

32. Hemsrichart V, Pintong J. Association of the Epstein-Barr viruses with Hodgkin Lymphoma: An Analysis of Pediatric Cases in Thailand. J Med Assoc Thai. 2005; 88(6):782-787.

33. Al-Salam S, John A, Daoud S, et al. Expression of Epstein–Barr virus in Hodgkin lymphoma in a population of United Arab Emirates nationals. Leuk Lymphoma. 2008; 49(9):1769-1777.

34. Karimi M, Yarmohammadi H, Ghavanini AA, et al. Epidemiological surveillance of pediatric Hodgkin's disease in southern Iran. Med Sci Monit. 2002; 8:572-575. [Article in Persian].

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره 1: فراوانی لنفوم هوجکین EBV مثبت بر اساس جنسیت و سن

	نمونه های لنفوم هوجکین (%)	EBER-ISH (% +EBV)
جنسیت بیماران		
مذکر	12 (٪75)	9 (٪75)
مونث	4 (٪25)	3 (٪75)
سن بیماران		
4–7 سال	7 (٪43/75)	5 (٪71/5)
8–12 سال	9 (٪56/25)	7 (٪77/8)
جمع	16 (100)	12 (٪75)

Archive of SID

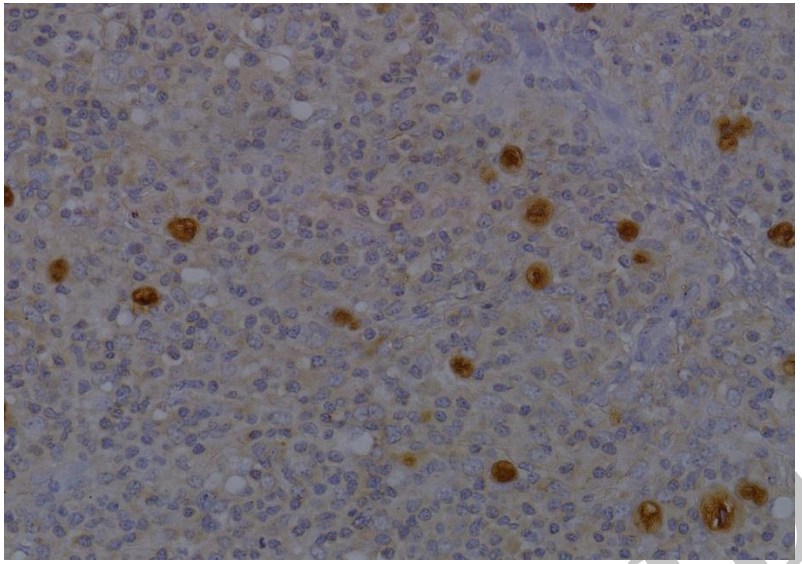
www.SID.ir

جدول شماره 2: فراوانی لنفوم هوجکین EBV مثبت بر اساس زیر تایپ های هیستولوژیکی مختلف

زیر تایپ های هیستولوژیکی	نمونه های لنفوم هوجکین (%)	EBER-ISH (% +EBV)
میکس سلولاریتی	5 (٪31/25)	4 (٪80)
نودولار اسکلروزیس	9 (٪56/25)	6 (٪67)
لنفوسیت پرودامیننت	2 (٪12/5)	2 (٪100)
جمع	16 (100)	12 (٪75)

Archive of SID

www.SID.ir



شکل 1: هیبریدیزاسیون ناحیه ای EBERs در نمونه های لنفوم هوجکین