DOI: 10.22122/jims.v39i638.13266 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و نهم/شماره‌ی ۶۳۸/هفته‌ی دوم آبان ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۷ تاریخ چاپ: ۱۴۰۰/۸/۱۴

وجود هم‌زمان سایتومگالوویروس در سرم بیماران مبتلا به لوسمی

ترانه راه‌نو[۱]، محمدحسن شاه‌حسینی[۲]، طاهر محمدیان[۳]، آتوسا فردوسی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: لوسمی با تخریب سلول‌های خون‌ساز مغز استخوان شروع می‌شود و با آشفتگی در خون (تکثیر گلبول‌های نابالغ، اختلال در هموستازی، درجاتی از التهاب، جهش، فقدان ایمنی، فقر آنتی‌اکسیدان‌ها و عوامل عفونی) بروز می‌نماید. سایتومگالوویروس (Cytomegalovirus یا CMV) به عنوان بزرگ‌ترین عضو خانواده‌ی Herpesviridae می‌تواند عفونت نهفته برای تمام عمر ایجاد کند. از این رو، با توجه به آمار بالای ابتلا به لوسمی در ایران، مطالعه‌ی حاضر با هدف ارزیابی فراوانی CMV در موارد ابتلا به لوسمی به روش Polymerase chain reaction (PCR) انجام شد.

روش‌ها: ۱۰۰ نمونه سرم خون افراد مبتلا به لوسمی و ۱۰۰ نمونه‌ی شاهد سالم، از بیمارستان‌های تهران جمع‌آوری و استخراج DNA به روش فنل‌کلروفرم انجام شد. آزمایش PCR تشخیص CMV بهینه و از جهت ویژگی و حد تشخیص (Limit of detection یا LOD) بررسی گردید. آزمایش بهینه بر روی همه‌ی نمونه‌های مورد و شاهد در کنار شاهد مثبت و منفی انجام و محصول PCR به روش آگارز ژل الکتروفورز شناسایی شد.

یافته‌ها: آزمایش PCR بهینه و محصول ۲۵۷ جفت‌باز در آگارز ژل الکتروفورز مشاهده شد. در آزمایش ویژگی، هیچ محصولی به غیر از CMV مشاهده نشد. حد تشخیص 100 Copy/reaction به دست آمد. تمامی نمونه‌های شاهد سالم منفی و ۳۳ درصد از نمونه‌های بیماران، مثبت گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که CMV می‌تواند از عوامل عفونی و تأثیرگذار در لوسمی در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: وجود هم‌زمان؛ سایتومگالوویروس؛ لوسمی؛ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

ارجاع: راه‌نو ترانه، شاه‌حسینی محمدحسن، محمدیان طاهر، فردوسی آتوسا. **وجود هم‌زمان سایتومگالوویروس در سرم بیماران مبتلا به لوسمی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۳۸): ۶۱۶-۶۱۰

مقدمه

لوسمی، پنجمین سرطان شایع در جهان و شایع‌ترین سرطان بعد از سرطان معده در ایران است (۱).از انواع لنفوبلاستی آن، لوسمی لنفوبلاستیک حاد کودکان (Acute lymphoblastic leukemia یا ALL) است که یک بیماری هتروژنی می‌باشد و عوامل مختلفی نظیر میزان بزرگی کبد و طحال، ابتلای سیستم عصبی مرکزی و پاسخ به درمان ابتدایی در تعیین پیش‌آگهی بیماری حایز اهمیت می باشند (۲). نوع دیگر، لوسمی لنفوبلاستیک مزمن (Chronic lymphocytic leukemia یا CLL) از شایع‌ترین بدخیمی‌های لنفوئیدی در کشورهای غربی است و به طور عموم، افراد مسن را از طریق تجمع و تکثیر لنفوسیت‌های B که دارای نشانگرهای CD19+، CD20+، CD5+ و CD23+ هستند، درگیر می‌کند (۳).

از انواع میلوئیدی آن، لوسمی میلوئیدی حاد (AML یا Adult acute myeloid leukemia) است که از عوامل ژنتیکی آن می‌توان آنمی فانکونی، سندرم Shwachman-Diamond و برخی از آلل‌های Human leukocyte antigen (HLA) را به عنوان عوامل ایمنوژنتیک نام برد (۴) و لوسمی میلوئیدی مزمن (CML) که مسؤول ۲۰-۱۵ درصد از لوسمی‌های بزرگسالان است. در مطالعه‌ی انجام شده در ایران بر روی ۴۱۷ بیمار CML، میانگین سن تشخیص ۴۱ سال بود. این میانگین، در آمریکا ۶۴ سال، در اروپا ۵۰-۶۰ سال و در کشورهای آسیایی و آفریقا حدود ۴۰ سال گزارش شده است (۵).

سایتومگالوویروس (Cytomegalovirus) از خانواده‌ی Herpesviridae و زیر خانواده‌ی Betaherpesvirinae است و انتشار

۱- دانشجوی دکتری، گروه میکروبیولوژی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استاد، گروه میکروبیولوژی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: محمدحسن شاه‌حسینی: استاد، گروه میکروبیولوژی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Email: shahhosseiny@yahoo.com

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

جهانی دارد. ژنوم ویروس، قادر به کد نمودن ۲۳۰ نوع پروتئین است که بسیاری از آن‌ها دارای توانایی ایجاد اختلال در پاسخ‌های ایمنی میزبان می‌باشند. بیشترین آلودگی با این ویروس، در سال‌های اولیه‌ی زندگی رخ می‌دهد. CMV بین ۷۰-۶۰ درصد از بزرگسالان در کشورهای صنعتی و نزدیک به ۱۰۰ درصد در کشورهای در حال توسعه را آلوده می‌کند. به طور تقریبی، ۵۹ درصد از جمعیت بالای ۶ سال در معرض CMV قرار گرفته‌اند و با افزایش سن، درصد جمعیت دارای تیتر مثبت سرمی نیز افزایش می‌یابد (۷-۶).

دامنه‌ی میزبان‌های CMV وسیع است و شامل سلول‌های اپی‌تلیال غدد و بافت‌های ماهیچه‌ای، سلول‌های ماهیچه‌ای صاف، فیبروبلاست‌ها، ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک، هپاتوسیت‌ها و سلول‌های آندوتلیال عروق می‌باشد. عفونت با سایتومگالوویروس در ارتباط با سرطان پستان، لنفوم هوچکین و لنفوم غیر هوچکین دیده شده است. شیوع عفونت سایتومگالوویروس در ایران، مشابه دیگر کشورهای در حال توسعه و کمی بالاتر از کشورهای توسعه نیافته است.

سایتومگالوویروس، از علل مهم مرگ و میر افراد در کشورهای با سیستم ایمنی پایین و یا بیماران با سرکوب ایمنی است و می‌تواند در ایمنی افراد بدحال نیز تأثیر منفی بگذارد. همچنین، این ویروس می‌تواند با تشدید اختلال عملکرد ارگان‌ها همراه باشد (۸).

این ویروس، با وجود پروتئین‌های تنظیمی که نقشی مشابه انکوپروتئین‌های ویروسی DNAدار تومورزا ایجاد می‌کنند، می‌تواند در سلول‌های توموری، فرایندهایی همچون تقسیم سلولی، تولید عوامل آنژیوژنیک، آپوپتوز و پرولیفراسیون را تحت تأثیر قرار دهد و با ایجاد فنوتیپ‌های جدید، موجب پیشرفت تومور شود.

بیان ژن "UL"138 Uniqulong در سایتومگالوویروس با مرحله‌ی پنهان ویروس و بیان ژن "IE"1 immediate early با مرحله‌ی همانندسازی و تکثیر ویروس در ارتباط است. این ویروس، پروتئین‌های مهمی دارد، از جمله Us 28 که از پروتئین‌های تنظیمی است و در روند تومورها نقش دارد و ژن‌های UL 133-138 به صورت پلی‌سیسترونیک هستند، به ویژه UL 138 که حضور آن برای حالت نهفتگی در برخی سلول‌ها ضروری است.

از عفونت‌های مهمی که بعد از پیوند آلوژنیک سلول‌های بنیادی خون‌ساز (Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation یا allo-HSCT) رخ می‌دهد، عفونت با سایتومگالوویروس است؛ چون این ویروس پتانسیل مهمی در پاتوژنی دارد، به خصوص در بیمارانی که با داروهای جدید، برای بدخیمی‌های هماتولوژیکال درمان می‌شوند (۹). طبق تحقیقات، شیوع بالای سایتومگالوویروس در متاستاز مغزی بیماران مبتلا به سرطان اولیه‌ی پستان و کولورکتال گزارش شده است. عفونت با این ویروس، ممکن است به طور اختصاصی حتی باعث بعضی سرطان‌های انسانی مثل گلیوما (Glioma) باشد.

در مطالعه‌ای بر روی عفونت داخل رحمی با CMV و رخداد لوسمی لنفوسیتیک حاد (Acute lymphocytic leukemia یا ALL)، مشاهده کردند رونویسی ویروسی در بلاست‌های لوسمی فعال است وبا غربالگری از خون نوزادان تازه متولد شده دریافتند که عفونت این ویروس، به ویژه در افراد اسپانیایی و سپس در سفید پوستان غیر اسپانیایی از نظر ALL شیوع بالا و بااهمیتی داشته است (۱۰). در آزمایش‌های دیگر، نشان داده شده است در کودکی با ALL تحت شیمی‌درمانی، در طول درمان ابتلا به پنومونی ناشی از CMV نیز وجود داشته است (۱۱). هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی وجود هم‌زمان سایتومگالوویروس در سرم بیماران مبتلا به لوسمی با روش مورد تأیید Polymerase chain reaction (PCR) بود.

روش‌ها

تهیه‌ی نمونه و استخراج DNA تعداد ۱۰۰ نمونه‌ی سرم خون افراد مبتلا به لوسمی به عنوان گروه مورد و ۱۰۰ نمونه‌ی سرم افراد سالم به عنوان گروه شاهد از آزمایشگاه‌های تهران جمع‌آوری گردید. استخراج DNA سایتومگالوویروس با روش فنل-کلروفرم از نمونه‌ها به ترتیب زیر انجام شد:

۱۰۰ میکرولیتر سرم خون داخل تیوب ۱/۵ سی‌سی ریخته شد و حجم آن با آب دوبار یونیزه شده (Deuterium-depleted water یا DDW) به ۵۰۰ میکرولیتر رسانده شد. برابر حجم نمونه، فنل افزوده شد. بعد، به مدت یک دقیقه Vortex و ۱۰ بار Invert گردید و سپس، با شتاب ۱۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش رویی به لوله جدید منتقل و هم‌حجم آن کلروفرم افزوده شد و Invert گردید. سپس، با شتاب ۱۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مایع رویی به آرامی به لوله‌ی جدید منتقل شد و به وسیله‌ی اتانول مطلق سرد، رسوب داده و با اتانول ۷۰ درصد شستشو داده شد. مایع رویی تخلیه و جهت خشک شدن لوله‌ها، ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس، رسوب DNA در ۴۰ میکرولیتر بافر Tris-EDTA (TE) حل و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا انجام آزمایش نگهداری گردید.

بهینه نمودن روش PCR انتخاب پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه، ویژه‌ی ناحیه‌ی ژنی گلیکوپروتئین B (Glycoprotein-B) سایتومگالوویروس بود. ترادف پرایمرهای مورد استفاده جهت واکنش PCR، عبارت از Forward 5`-CGGTGGAGATACTGCTGAGGTC-3` و Reverse 5-`CAAGGTGCTGCGTGATATGAAC-3` بودند (۱۲). پروفایل حرارتی از طریق روش گرادیانت انجام و پروفایل نهایی به صورت دمای واسرشته شدن اولیه (Pre Denaturation)دو رشته‌ی DNA

۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، دمای واسرشته شدن (Denaturation) ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای چسبیدن (Annealing) ۶۶ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای پلیمریزاسیون (Extension) ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای پلیمریزاسیون نهایی (Final extension) ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه اعمال شد. این روند، به تعداد ۴۰ چرخه انجام شد.

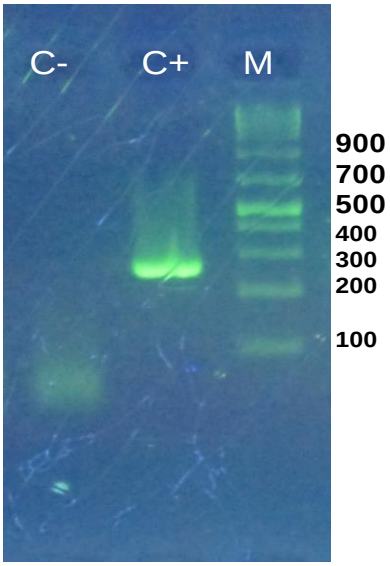
آزمایش PCR در شرایط بهینه شده صورت گرفت و محصول PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز گردید.

ویژگی و حد تشخیص آزمایش PCR: آزمون ویژگی با استفاده از DNA سایتومگالوویروس، انسان، موش، Herpes simplex virus 1 and 2، ویروس هپاتیت B، آدنوویروس و Saccharomyces cerevisiae انجام گردید. حد تشخیص از طریق رقیق‌سازی 10fold یک نمونه‌ی DNAی CMV با تعداد مشخص و انجام آزمایش PCR بر روی رقت‌های حاصل بررسی گردید.

انجام آزمایش PCR روی نمونه‌های مورد و شاهد: تمامی نمونه‌های مورد و شاهد در راندهای متعدد و در کنار شاهد مثبت و منفی و نشانگر اندازه با آزمایش بهینه‌ی PCR بررسی شدند.

یافته‌ها

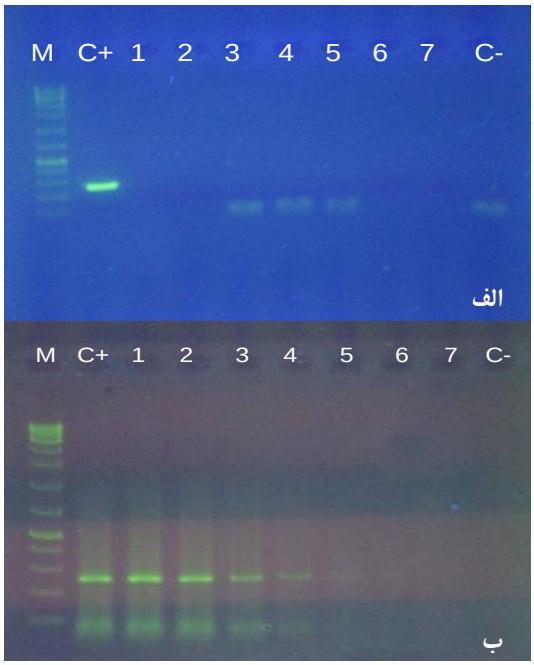
نتایج آزمایش PCR بهینه شده: آزمایش PCR بهینه و محصول PCRبه اندازه‌ی ۲۵۷ جفت‌باز و با استفاده از DNA سوش استاندارد تکثیر و در ژل آگارز ۱/۵ درصد مطابق شکل ۱ مشاهده شد.



شکل ۱. آزمایش Polymerase chain reaction (PCR) بهینه شده‌ی تشخیص سایتومگالوویروس

M: نشانگر اندازه‌ی **DNA** ۱ کیلوبایت **Ladder** (**Bioflux**)، **C+**: شاهد مثبت **CMV** با **DNA** ۲۵۷ جفت‌باز، **C-**: شاهد منفی

نتایج حد تشخیص و ویژگی آزمایش PCR بهینه: در آزمون ویژگی فقط با DNAی سایتومگالوویروس جواب مثبت حاصل شد و با DNAی سایر عوامل مورد آزمایش، جواب‌ها منفی شد که نشان از ویژگی بالای آزمون PCR دارد (شکل ۲-الف). حد تشخیص آزمایش 100 Copy/Reaction به دست آمد (شکل ۲-ب).

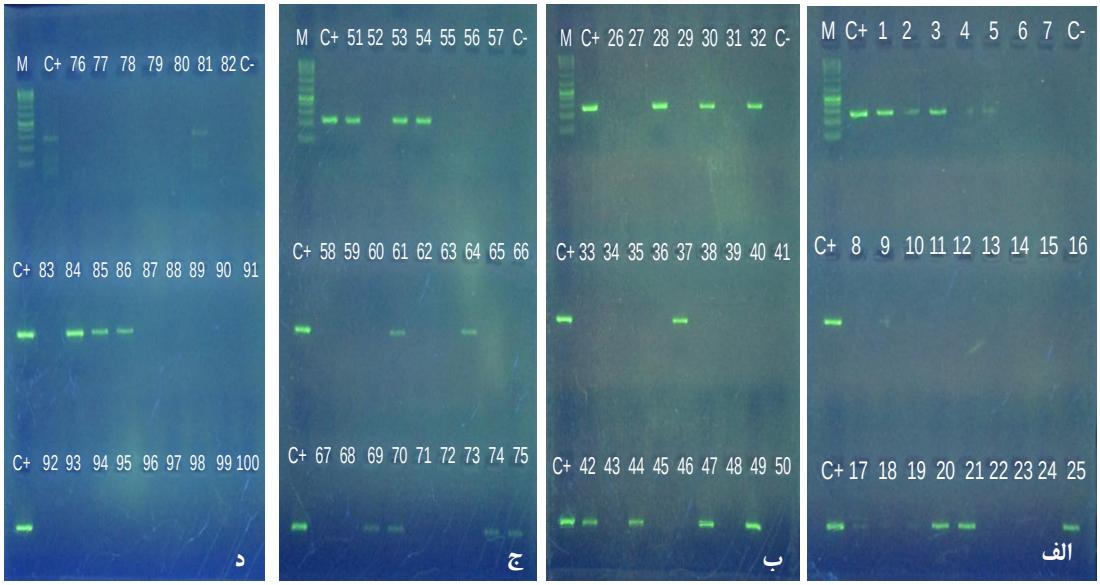


شکل ۲. آزمون ویژگی و حد تشخیص آزمایش Polymerase chain reaction (PCR)

الف) آزمون ویژگی آزمایش **Polymerase chain reaction** (**PCR**)
M: نشانگر اندازه‌ی **DNA** ۱ کیلوبایت **Ladder** (**Bioflux**)، **C+**: شاهد مثبت محصول **PCR** ۲۵۷ جفت‌بازی حاصل از **Cytomegalovirus** (**CMV**)، ۱: **DNA**ی انسان، ۲: **DNA**ی موش، ۳: **DNA**ی **Herpes simplex virus 1**، ۴: **DNA**ی **Herpes simplex virus 2**، ۵: **DNA**ی ویروس هپاتیت **B**، ۶: **DNA**ی آدنوویروس، ۷: **DNA**ی **Saccharomyces cerevisiae**، **C-**: شاهد منفی

ب): آزمون حد تشخیص آزمایش **Polymerase chain reaction** (**PCR**)
M: نشانگر اندازه‌ی **DNA** ۱ کیلوبایت **Ladder** (**Bioflux**)، **C+**: شاهد مثبت محصول **PCR** ۲۵۷ جفت‌بازی حاصل از **Cytomegalovirus** (**CMV**)، ۱: ۱۰۰۰۰۰۰ **Copy/Reaction**، ۲: ۱۰۰۰۰۰ **Copy/Reaction**، ۳: ۱۰۰۰۰ **Copy/Reaction**، ۴: ۱۰۰۰ **Copy/Reaction**، ۵: ۱۰۰ **Copy/Reaction**، ۶: ۱۰ **Copy/Reaction**، ۷: ۱ **Copy/Reaction**، **C-**: شاهد منفی

نتایج حاصل از آزمایش PCR بر روی نمونه‌های مورد و شاهد: از بین ۱۰۰ نمونه‌ی سرم خون افراد مبتلا به لوسمی، ۳۳ نمونه، آلوده به سایتومگالوویروس بودند (شکل‌های ۳-الف، ۳-ب، ۳-ج و ۳-د) و تمامی نمونه‌های شاهد سالم در روش PCR منفی گردید.



شکل ۳. نتایج آزمایش Polymerase chain reaction (PCR) بر روی نمونه‌های بیماران

الف) M: نشانگر اندازه‌ی DNA ۱ کیلوبایت Ladder (Bioflux)، +C: شاهد مثبت محصول PCR ۲۵۷ جفت‌بازی، -C: شاهد منفی، نمونه‌های مثبت: ۵-۱، ۹، ۲۱-۱۷، ۲۵، نمونه‌های منفی: ۸-۶، ۱۶-۱۰، ۲۴-۲۲

ب) M: نشانگر اندازه‌ی Ladder DNA (Bioflux)، +C: شاهد مثبت محصول PCR ۲۵۷ جفت‌بازی، -C: شاهد منفی، نمونه‌های مثبت: ۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳۷، ۴۲، ۴۴، ۴۷، ۴۹، نمونه‌های منفی: ۲۷-۲۶، ۲۹، ۳۱، ۳۳، ۳۶، ۴۱-۳۸، ۴۳، ۴۵، ۴۶، ۴۸، ۵۰

ج) M: نشانگر اندازه‌ی Ladder DNA (Bioflux)، +C: شاهد مثبت محصول PCR ۲۵۷ جفت‌بازی، -C: شاهد منفی، نمونه‌های مثبت: ۵۱، ۵۴-۵۳، ۶۱، ۶۴، ۷۰-۶۹، ۷۵-۷۴، نمونه‌های منفی: ۵۲، ۵۵، ۶۰، ۶۳-۶۲، ۶۸-۶۵، ۷۳-۷۱

د) M: نشانگر اندازه‌ی Ladder DNA (Bioflux)، +C: شاهد مثبت محصول PCR ۲۵۷ جفت‌بازی، -C: شاهد منفی، نمونه‌های مثبت: ۸۱، ۸۶-۸۴، نمونه‌های منفی: ۸۰-۷۶، ۸۳-۸۲، ۸۷، ۱۰۰

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، حضور DNA سایتومگالوویروس (CMV) در ۳۳ نفر از کل ۱۰۰ بیمار مبتلا به لوسمی (۳۳ درصد) مشاهده شد. در این تحقیق، طیف سنی مبتلایان به لوسمی در مردان ۷۳-۲ سال و حداکثر ۷۰-۲۰ سال بود و طیف سنی مبتلایان به لوسمی در زنان ۸۱-۴ سال و حداکثر ۶۰-۴۰ سال بود. در هیچ یک از نمونه‌های شاهد، آزمایش CMV مثبت نگردید.

در سراسر جهان، سرطان خون، شایع‌ترین نوع بدخیمی در کودکان زیر ۵ سال و میزان بروز آن در پسران بیشتر از دختران و بیشترین موارد در سنین ۴-۲ سال است (۱۳). در بین انواع سرطان خون، نوع حاد میلوئیدی، دومین سرطان خون شایع و سومین سرطان خون کشنده در ایران به شمار می‌آید (۱۴). از عوامل خطر محیطی، دود سیگار رایج‌ترین منبع بنزن است و استعمال آن، ابتلا به AML را به میزان سه برابر افزایش می‌دهد (۱۵).

در غرب اروپا و ایالات متحده‌ی امریکا، ۶۰-۴۵ درصد گیرندگان پیوند برای CMV سرم مثبت هستند و این خطری برای فعال‌سازی Endogenous عفونت سایتومگالوویروس تأخیری است (۱۶).

در طی بررسی عفونت‌های هرپس ویروسی، در ۹۵ بیمار با لوسمی حاد که تحت شیمی‌درمانی و فاقد پیوند بودند، از Qualitative multiplex PCR برای Human herpes virus (HHV) و از Real time quantitative PCR برای بررسی کمیت CMV استفاده و مشاهده نمودند که سایتومگالوویروس در مراحل مختلفی از شیمی‌درمانی جدا می‌شود (۱۹/۴ درصد) و بعد به ترتیب HHV6، HHV7، EBV و Herpes simplex virus (HSV) جدا شدند (۱۷).

در مطالعه‌ای برروی ۱۴۳ بیمار با لوسمی حاد و متوسط سن ۷ سال که پیوند سلول‌های بنیادی خون‌ساز شده بودند (Hematopoietic stem cell transplantation یا HSCT) ۱۰۰ روز پس از پیوند، واکاوی‌های چند متغیره نشان داد که سطح بالای فعال‌سازی مجدد CMV همراه با کاهش عود است و یک عامل خطر برای افزایش مرگ و میر بدون عود می‌باشد (۱۸). بررسی دیگری بر روی ۱۱ کودک مبتلا به Juvenile myelomonocytic leukemia به همراه عفونت CMV نشان داد که این بیماران پیش‌آگهی ضعیف داشتند و خیلی سریع به علت پیشرفت بیماری مردند (۱۹).

در مطالعه‌ی Radestad و همکاران، در بیمارانی که سرطان تخمدان (Ovarian cancer 1) داشتند، عفونت با Human cytomegalovirus (HCMV) در واکنش ایمنی و بقای آن‌ها تأثیر داشت؛ به این صورت که پروتئین‌های HCMV در سطوح مختلفی از تومورهای تخمدان و آدنومای خوش‌خیم جدا می‌شوند (۲۰).

در مطالعه‌ای در شهر اهواز بر روی ۳۷ نمونه‌ی بافتی بیماران با کارسینومای مجاری پستان، با استفاده از روش PCR، ۲۰ مورد HCMV DNA مثبت بود. شیوع درصد بالا، به سن بیماران (۴۹-۴۰ سال)، درجه‌ی تومورها (بیشتر درجه‌ی ۳) و سطح تهاجمی تومورها مربوط بود (۲۱).

شاهلی و همکاران، در مطالعات خود از بین ۶۹ بیمار مبتلا به لوسمی، در ۱۱ نفر (۱۶ درصد) عفونت CMV فعال را با روش Immunofluorescence ارزیابی کرد که ۹ نفر از آن‌ها مرد و ۲ نفر زن بودند و با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر فاصله داشت (۲۲).

در یک بررسی بر روی ۵۰ بیمار ALL که پیوند نشده، اما تحت شیمی درمانی بودند، کمیت سطح ویروسی CMV به روش PCR در مراحل مختلف تعیین شد و نتیجه این بود که اغلب عفونت CMV، در مرحله‌ی نگه‌دارنده‌ی شیمی درمانی رخ می‌دهد و کاهش Absolute lymphocyte count (ALC) همراه با سطح ویروسی بالای DNA CMV در خون است (۲۳).

نتیجه‌گیری

طبق نتایج این مطالعه، حضور بالای DNAی سایتومگالوویروس در بیماران مبتلا به لوسمی نسبت به موارد شاهد سالم، مؤید نقش احتمالی این ویروس در ارتباط با سرطان خون ویا درگیری‌های بعدی افراد مبتلا با این نوع عوامل می‌باشد. در ضمن، آزمایش PCR، روش سریعی در ارتباط با تشخیص سایتومگالوویروس در سرطان‌ها می‌باشد و کاربرد آن توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق برگرفته از پایان‌نامه با کد ۲۸۵۴۸۰۰۳۶۷۳۱۹۱۹۱۷۰۵۹۳ و مصوب کمیته‌ی اخلاق در پژوهش به شماره‌ی IR.IAU.PS.REC.1400.224 از دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران می‌باشد. بدین وسیله از سرکار خانم مهسا ملک محمدی کلهرودی سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Seyed Sharifi Kakhki AS, Onsory K. Investigation of gene coding for P-120 RasGTPase activating protein in acute myeloid leukemia. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2018; 25(10): 800-8. [In Persian].
2. Bonakchi H, Farhangi H, Esmaily H, Doosti H, Forouzannejhad M. Factors affecting survival of children with acute lymphoblastic leukemia using competing risks model. J Zanjan Univ Med Sci 2017; 25(110): 123-33. [In Persian].
3. Ghahremanfard F, Aghabeigi A, Manouchehri E, Pashaei M, Mirmohammadkhani M, Shokrollahi Barough M, et al. Effect of berberine on cancer cell viability of chronic lymphocytic leukemia patients in invitro. Koomesh 2017; 19(3): 634-40. [In Persian].
4. Ehsan M, Abroun S, Anjomshoaa A, Rezapour M, Rezaei Z. Association of alleles and haplotypes of HLA-A,-B,-DRB1 patients with Acute Myeloid Leukemia (AML) in Kerman province. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2015; 12(3): 233-43. [In Persian].
5. Zendehdel K, Sharifian R, Mirzania M, Seddigi S, Vaezi M, Doroudi R, et al. Solution of clinical Medicine-Diagnosis care and treatment of chronic myeloid leukemia in Iran. Tehran, Iran: Clinical Knowledge Management of Unit Cancer Institute, Tehran University of Medical Sciences; 2017. [In Persian].
6. Zheng QY, Huynh KT, van Zuylen WJ, Craig ME, Rawlinson WD. Cytomegalovirus infection in day care centres: A systematic review and meta-analysis of prevalence of infection in children. Rev Med Virol 2019; 29(1): e2011.
7. Bartlett AW, Hall BM, Palasanthiran P, McMullan B, Shand AW, Rawlinson WD. Recognition, treatment, and sequelae of congenital cytomegalovirus in Australia: An observational study. J Clin Virol 2018; 108: 121-5.
8. Yari R, Javadi A, Morovvati A, Shakeri T. Rapid detection and prevalence of cytomegalovirus in infants under three weeks by PCR and real time PCR. J Ilam Univ Med Sci 2016; 24(5): 175-84. [In Persian].
9. Ljungman P, de la Camara R, Robin C, Crocchiolo R, Einsele H, Hill JA, et al. Guidelines for the management of cytomegalovirus infection in patients with haematological malignancies and after stem cell transplantation from the 2017 European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL 7). Lancet Infect Dis 2019; 19(8): e260-e272.
10. Francis SS, Wallace AD, Wendt GA, Li L, Liu F, Riley LW, et al. In utero cytomegalovirus infection and development of childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 2017; 129(12): 1680-4.
11. Totadri S, Radhakrishnan V. Successful treatment of cytomegalovirus pneumonia in a child on maintenance chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia without the use of intravenous immunoglobulin. Pediatr Hematol Oncol J 2017; 2(1): 19-20.
12. Omidian J, Sheikhi-Shooshtari F, Fazeli M. Detection of Cytomegalovirus (CMV) in peripheral blood specimens in patients before keratoplasty. Iran J Virol 2016; 10(2): 58-62. [In Persian].
13. Moradi G, Rasouli MA, Fathi F, Ghaderi B, Nikkhoo B, Roshani D, et al. Evaluation of the survival rate and its related factors in patients with leukemia in Kurdistan Province. Sci J Kurdistan Univ Med Sci

2018; 23(2): 12-20. [In Persian].
14. Saffar A, Rahgozar M, Shahi F, Biglarian A. Survival analysis of acute myeloid leukemia. Razi J Med Sci 2015; 22(134): 41-8. [In Persian].
15. Rostami E, mohammadi m, Bagheri S. Investigation of MDM2 gene promoter polymorphism (SNP309) in patients with acute myeloid leukemia in Khuzestan Province. Jundishapur Sci Med J 2018; 17(2): 187-94. [In Persian].
16. van der Heiden P, Marijt E, Falkenburg F, Jedema I. Control of cytomegalovirus viremia after allogeneic stem cell transplantation: A review on CMV-specific T cell reconstitution. Biol Blood Marrow Transplant 2018; 24(9): 1776-82.
17. Handous I, Achour B, Marzouk M, Rouis S, Hazgui O, Brini I, et al. Co-infections of human herpesviruses (CMV, HHV-6, HHV-7 and EBV) in non-transplant acute leukemia patients undergoing chemotherapy. Virol J 2020; 17(1): 37.
18. Inagaki J, Noguchi M, Kurauchi K, Tanioka S, Fukano R, Okamura J. Effect of cytomegalovirus reactivation on relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in pediatric acute leukemia. Biol Blood Marrow Transplant 2016; 22(2): 300-6.
19. Agarwal M, Singh A, Guru V, Seth R. Is coexisting cytomegalovirus infection and juvenile myelomonocytic leukemia associated with poor prognostic outcome? Pediatr Hematol Oncol J 2016; 1: S16.
20. Radestad AF, Estekizadeh A, Cui HL, Kostopoulou ON, Davoudi B, Hirschberg AL, et al. Impact of human cytomegalovirus infection and its immune response on survival of patients with ovarian cancer. Transl Oncol 2018; 11(6): 1292-300.
21. Sepahvand P, Makvandi M, Samarbafzadeh A, Talaei-Zadeh A, Ranjbari N, Nisi N, et al. Human cytomegalovirus DNA among women with breast cancer. Asian Pac J Cancer Prev 2019; 20(8): 2275-9.
22. Shaheli M, Yaghobi R, Rezaeian A, Iravani SM, Ramzi M. Study of the associations between TT virus single and mixed infections with leukemia. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(4): e18212.
23. Phasuk N, Keatkla J, Rattanasiri S, Techasaensiri C, Anurathapan U, Apiwattanakul N. Monitoring of cytomegalovirus infection in non-transplant pediatric acute lymphoblastic leukemia patients during chemotherapy. Medicine (Baltimore) 2019; 98(4): e14256.

DOI: *10.22122/jims.v39i638.13266* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 39, No. 638, 2nd Week, November 2021**

Received: 29.07.2020 Accepted: 09.10.2021 Published: 12.11.2021

Coexistence of Cytomegalovirus in Serum of Patients Suffering from Leukemia

Taraneh Rahenow[1], Mohammad Hassan Shahhosseiny[2], Taher Mohammadian[3], Atousa Ferdosi[3]

Original Article

Abstract

Background: Leukemia begins with the destruction of hematopoietic bone marrow cells, and appears with the turmoil in the blood (immature blood cell proliferation, homeostasis disorder, degrees of inflammation, mutation, immunodeficiency, antioxidant deficiency, and infectious agents). Cytomegalovirus (CMV) as the largest member of the herpes family can cause latent infections for lifetime. Due to its high numbers in Iran, we decided to measure the level of CMV in leukemia by polymerase chain reaction (PCR) method, to quantify its prevalence.

Methods: 100 blood serum samples of people with leukemia and 100 healthy controls were collected from hospitals in Tehran City, Iran, and DNA was extracted by phenol-chloroform method. PCR test of CMV was optimized and evaluated for specificity and limit of detection (LOD). Optimized test was performed on all patient and healthy samples along with positive and negative controls. The PCR product was identified by agarose gel electrophoresis.

Findings: PCR test was optimized, and 257 bp product was observed in agarose gel electrophoresis. In specificity test, no product other than the CMV sample was observed. LOD was 100 copy/reaction. All healthy controls were negative, and 33% of the samples were CMV positive.

Conclusions: This study shows that CMV can be considered as an infectious and influencing factor in leukemia.

Keywords: Coexistent conditions; Cytomegalovirus; Leukemia; Polymerase chain reaction

Citation: Rahenow T, Shahhosseiny MH, Mohammadian T, Ferdosi A. **Coexistence of Cytomegalovirus in Serum of Patients Suffering from Leukemia.** J Isfahan Med Sch 2021; 39(638): 610-16.

1- PhD Student, Department of Microbiology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University. Tehran, Iran
2- Professor, Department of Microbiology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University. Tehran, Iran
3-Assistant Professor, Department of Microbiology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University. Tehran, Iran
Corresponding Author: Mohammad Hassan Shahhosseiny, Professor, Department of Microbiology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University. Tehran, Iran; Email: shahhosseiny@yahoo.com