

## Determination of viral load of Epstein-Barr virus in patients with systemic lupus erythematosus in Kashan during 2014-2015

Piroozmand A<sup>1,2</sup>, Zamani B<sup>1,3\*</sup>, Eslami-Ardakani M<sup>4</sup>, Mousavi GH<sup>5</sup>, Erami MZ<sup>6</sup>

1- Autoimmune Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

2- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

3- Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

4- General Physician, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

5- Trauma Research Center, Shahid-Beheshti Hospital, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

6- Shahid-Beheshti Hospital, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received January 24, 2015; Accepted 27 May, 2015

### Abstract:

**Background:** Systemic lupus erythematosus (SLE) is a systemic autoimmune disease and environmental risk factors such as UV radiation, drugs, chemicals and infections, especially Epstein-Barr virus (EBV) are the main causes of the disease. This study aimed to evaluate EBV viral load in serum of patients with SLE.

**Materials and Methods:** In this cross-sectional study, 40 patients with SLE diagnosed based on American college of rheumatology criteria were selected using purposive sampling. After collecting patients' demographic data and obtaining the patients' consent to participate in the study, 10 ml blood samples were taken from patients and Buffy coat was isolated to determine viral load using the real-time polymerase chain reaction method.

**Results:** From a total of 40 patients, 37 cases (92.5%) were woman and 3 (7.5%) were men. Fifty percent of the cases had active and 50% inactive disease. The EBV test was positive in 67.5% of the patients and negative in 32.5% of them. Mean viral load was  $5396 \pm 1891.9$  copy/ml. Mean values of EBV viral load in patients with active and inactive SLE were 6798 and 28.25 copy/ml, respectively ( $P=0.003$ ). Viral loads in women with active and inactive SLE were 5803.3 and 29.73 copy/ml, respectively ( $P=0.003$ ).

**Conclusion:** Epstein-Barr virus infection is high in SLE patients and the viral load in the active disease is higher than inactive one. Thus, EBV virus may have an important role in the pathogenesis and activity of SLE.

**Keywords:** EBV virus, Viral load, SLE, Real-time PCR

\* Corresponding Author.

Email: Batol\_zamani2007@yahoo.com

Tel: 0098 31 5554 0026

Fax: 0098 31 5554 8900

Conflict of Interests: No

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2015; Vol. 19, No 3, Pages 249-254*

Please cite this article as: Piroozmand A, Zamani B, Eslami-Ardakani M, Mousavi GH, Erami MZ. Determination of viral load of Epstein-Barr virus in patients with systemic lupus erythematosus in Kashan during 2014-2015. *Feyz* 2015; 19(3): 249-54.

# تعیین میزان بار سرمی ویروس اپشتاین- بار در بیماران مبتلا به لوپوس اریتماتوز سیستمیک در کاشان طی سال ۱۳۹۳

احمد پیروزمند<sup>۱</sup>، بتول زمانی<sup>۱\*</sup>، مهدیه اسلامی اردکانی<sup>۲</sup>، سید غلامعباس موسوی<sup>۵</sup>، مهزاد ارمی<sup>۶</sup>

## خلاصه:

**سابقه و هدف:** لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE) یک بیماری خودایمنی است که ریسک فاکتورهای محیطی مانند اشعه فرابنفش، داروها و عفونت‌ها مثل ویروس اپشتاین- بار (EBV) در ایجاد آن نقش دارند. این مطالعه با هدف بررسی بار سرمی EBV در بیماری SLE صورت گرفته است.

**مواد و روش‌ها:** مطالعه مقطعی حاضر بر روی ۴۰ بیمار مبتلا به SLE با تشخیص بر اساس معیارهای انجمن روماتولوژیک آمریکا و مراجعه‌کننده به درمانگاه روماتولوژی به صورت سرشماری و مبتنی بر هدف، صورت گرفته است. پس از اخذ یافته‌های دموگرافیک و رضایت آگاهانه، از تمام بیماران ۱۰ میلی‌لیتر خون اخذ شده و بافی کوت آن جدا شده و به روش Real Time-PCR میزان بار ویروس اندازه‌گیری شد.

**نتایج:** در این مطالعه از ۴۰ بیمار لوپوس، ۳۷ نفر (۹۲/۵ درصد) زن و ۳ نفر مرد (۷/۵ درصد) بودند. در ۵۰ درصد افراد بیماری فعال و در ۵۰ درصد باقیمانده بیماری غیرفعال بود. تست EBV در ۶۷/۵ درصد کل بیماران مثبت و در ۳۲/۵ درصد منفی بود. میانگین بار ویروس برابر با  $1891/9 \pm 5396$  کپی در میلی‌لیتر بود. میانگین بار EBV در بیماران با لوپوس فعال و غیرفعال به ترتیب ۶۷۹۸ و ۲۸/۲۵ کپی در میلی‌لیتر بود ( $P=0/003$ ). بار ویروس در زنان با بیماری فعال  $5803/3$  و در فرم غیرفعال  $29/73$  کپی در میلی‌لیتر بود ( $P=0/003$ ).

**نتیجه‌گیری:** میزان عفونت با ویروس EBV در مبتلایان به لوپوس بالا بوده و در افراد دارای بیماری فعال، بار ویروس بالاتر از فرم غیرفعال بیماری بود؛ لذا می‌توان گفت ویروس EBV در ایجاد و فعالیت بیماری لوپوس دخالت دارد.

**واژگان کلیدی:** ویروس اپشتاین- بار، لوپوس اریتماتوز سیستمیک، بار ویروس، ریل تایم پی سی آر

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره نوزدهم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۴، صفحات ۲۴۹-۲۵۴

## مقدمه

ایتولوژی لوپوس چند عاملی و تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی متعدد از قبیل جنس، سن و وضعیت اجتماعی اقتصادی است. سیر معمول بیماری به صورت دوره‌های متناوب شعله‌ور شدن و خاموشی است. از ریسک فاکتورهای محیطی برای SLE می‌توان به اشعه فرابنفش، داروها، مواد شیمیایی خاص و عفونت‌ها به خصوص EBV اشاره کرد [۲، ۱]. EBV را با نام ویروس هرپس انسانی تیپ ۴ (HHV-4) نیز می‌شناسند که یک ویروس DNA دار دو رشته‌ای همراه با کپسید و پوشش است. ویروس EBV یک عامل عفونی است که در سرتاسر جهان وجود داشته و تقریباً به صورت نهفته در ۹۵ درصد جمعیت جهان وجود دارد. ویروس از طریق بزاق منتقل می‌شود و در سطوح مخاط ازوفارنکس و نازوفارنکس به خصوص در ناحیه لوزه‌ها رونویسی می‌شود، سپس وارد بافت زیرین شده و با چسباندن گلیکوپروتئین پوشش خود به گیرنده اختصاصی بر روی لنفوسیت B عفونت ایجاد می‌کند. در بیولوژی ویروس قدرت ویروس برای شیف‌ت کردن از سیکل لیتیک به حالت نهفته وجود دارد [۱]. عفونت با این ویروس در سنین کودکی بی‌علامت است و در نوجوانی ایجاد مونونوکلئوز عفونی با علائم راش پوستی، اگزاتم، آرترالژی، اختلال کلیوی و آنمی

لوپوس اریتماتوز سیستمیک یک بیماری خودایمنی سیستمیک با بروز ۳۵-۶ مورد جدید به ازای هر ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال است و به‌طور عمده در زنان در سنین باروری ظاهر می‌شود [۱]. علائم بیماری شامل راش پروانه‌ای در صورت، راش دیسکوئید، حساسیت به نور، زخم دهان، آرتریت، سروزیت، اختلال کلیوی، عصبی و اختلالات خونی (آنمی، لکوپنی، لنفو-سیتوپنی و ترومبوسیتوپنی) و تست آزمایشگاهی مثبت آنتی‌نوکلئار آنتی بادی (ANA) و آنتی‌بادی Anti-ds DNA هستند [۲].

<sup>۱</sup> دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های اتوایمیون، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

<sup>۳</sup> دانشیار، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

<sup>۴</sup> پزشک عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

<sup>۵</sup> مربی، مرکز تحقیقات تروما، بیمارستان شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

<sup>۶</sup> کارشناس ارشد قارچ‌شناسی، بیمارستان شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

## \* نشانی نویسنده مسئول:

کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب راوندی، بیمارستان شهید بهشتی

تلفن: ۰۳۱ ۵۵۵۴۰۰۲۶ | دورنویس: ۰۳۱ ۵۵۵۴۸۹۰۰

پست الکترونیک: Batol\_zamani2007@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۴ | تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۳/۶

کمک می‌کند. دیده شده است که در افراد نرمال از هر صدهزار تا یک میلیون لئفوسیت B، یک سلول به صورت مخفی به EBV آلوده است، اما در افراد مبتلا به لوپوس تعداد سلول آلوده بیشتر بوده و هر سلول حاوی ۳۰ اپی‌زوم ویروسی است. [۱۲،۱۱]. Katz و همکاران با بررسی ۱۳ بیمار لوپوسی با روش PCR هیچ ژنوم ویروسی در مونونوکلرهای خون محیطی پیدا نکرده‌اند که البته احتمالاً اشکال در نوع روش PCR به‌کار رفته است [۱۳]. با توجه به موارد فوق و وجود مطالعات اندک در زمینه بار سرمی این ویروس در بیماران لوپوس ما بر آن شدید مطالعه‌ای در زمینه میزان بار این ویروس در افراد لوپوس و در دو حالت فعال و غیرفعال بیماری با روش Real-time PCR انجام دهیم تا با فهم نقش این ویروس در ایجاد و فعالیت بیماری و با درمان ویروس در آینده با پیشرفت علم، بتوان از بیماری لوپوس و فعالیت آن جلوگیری نمود.

#### مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی ۴۰ بیمار مبتلا به لوپوس مراجعه کننده به درمانگاه روماتولوژی بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال ۱۳۹۳ که بر اساس معیارهای انجمن روماتولوژی آمریکا برای آنها تشخیص گذاشته شده بود، به صورت سرشماری و مبتنی بر هدف انتخاب و وارد مطالعه شدند. فعالیت بیماری لوپوس به وسیله پرسشنامه استاندارد SLEADI سنجیده شد. این پرسشنامه شامل یک سری علائم بالینی و آزمایشگاهی مربوط به بیماری لوپوس می‌باشد [۲]. بر اساس پرسشنامه، امتیاز کمتر از ۶، بیماری غیر فعال و امتیاز مساوی یا بیشتر از ۶ بیماری فعال محسوب شد. بعد از اخذ رضایت آگاهانه از تمام بیماران و توضیح کافی برای بیماران و اطمینان دادن به آنها از محرمانه بودن اطلاعات، ۱۰ میلی‌لیتر نمونه خون وریدی از آنها گرفته شد و نمونه خون به مرکز PCR بیمارستان شهید بهشتی کاشان ارسال شد. برای بررسی میزان بار سرمی ویروس EBV ابتدا DNA بافی کوت خون با استفاده از High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche, Mannheim, Germany) استخراج گردید و در فریزر -۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. برای بررسی بار ویروسی، DNA استخراج شده به همراه دیگر مواد موجود در master mix و پرایمر/پروب ناحیه ژنی BKRF1 ذکر شده در جدول شماره ۱ مخلوط شده و با روش Taq-Man PCR و با استفاده از دستگاه Real Time-PCR (Applied Bio-systems) مورد سنجش قرار گرفت.

می‌کند [۳]. در طول چرخه لیتیک DNA ویروس رونویسی می‌شود و بیان ژن‌های آنها ۱۰۰۰-۱۰۰۰۰ بار تقویت شده و این سبب ریزش ویروس به بزاق می‌شود که می‌تواند سایر B لئفوسیت‌ها و سلول‌های اپی‌تلیال را عفونی کند. ویروس در پاسخ به ایمنی میزبان به حالت نهفته وارد می‌شود. توسعه عفونی شدن B لئفو-سیت‌ها در طی چرخه لیتیک به صورت اختصاصی با سلول‌های T سیتوتوکسیک کنترل می‌شود که لئفوسیت‌های B عفونی را از بین می‌برد و فاز نهفته را القا می‌کند [۱]. EBV باعث تحریک پرولیفراسیون سلول‌های لئفوسیتی B بعد از عفونت شده و تظاهر طولانی EBV باعث شروع بیماری لوپوس در افراد مستعد از لحاظ ژنتیک می‌شود. از طرف دیگر، لئفوسیت B آلوده شده با ویروس یک منبع مداوم برای تولید اتوآنتی‌ژن و اتوآنتی‌بادی است و نیز بعضی سکانس‌های پروتئین‌های ویروس با اتوآنتی‌ژن‌های انسان همولوژی دارد. همچنین، واکنش آنتی‌نوکلئار ۱ و ۲ آنتی-بادی ایجاد شده بر علیه ویروس، با اتوآنتی‌ژن‌های انسان واکنش داده و ایجاد بیماری لوپوس می‌کند [۴-۶]. تیترا بالای آنتی‌بادی بر علیه EBV و حضور سرمی ویروس در افراد مبتلا به SLE در مقایسه با افراد کنترل دیده شده است. پاسخ آنتی‌بادی در سرم به-تنهایی نمی‌تواند به‌طور مستقیم شرایط وجود ویروس را در بدن نشان دهد، بلکه روش‌های دیگر مثل PCR نمونه بزاق و یا خون محیطی در نشان دادن وجود و فعالیت ویروس، کمک‌کننده هستند [۱]. در Real-time PCR، تجمع محصولات PCR به‌طور عمده با استفاده از یک پروب فلوئوروزنیک اندازه‌گیری می‌شود؛ این روش در حال حاضر جایگزین مناسبی برای دیگر روش‌های PCR کمی گشته است و به‌طور وسیعی در دنیا برای اندازه‌گیری بار ویروس EBV استفاده می‌شود. بیماران لوپوسی حداقل ۱۰ برابر لئفوسیت‌های B عفونی شده بیشتری نسبت به افراد سالم دارند و این افزایش می‌تواند مرتبط با افزایش فعالیت در بیماران لوپوسی نیز باشد [۷]. با استفاده از این تکنیک در یک مطالعه افزایش ۴۰ برابری بار ویروس EBV در بیماران لوپوسی نسبت به افراد سالم گزارش شده است [۸]. در یک مطالعه دیگر افزایش قابل توجه در سطح EBV DNA در سرم ۴۲ درصد بیماران لوپوسی در مقایسه با ۳ درصد از بیماران کنترل مشاهده شده است [۹]. در یک مطالعه دیگر اگرچه تعداد و نوع عفونت با EBV در افراد با لوپوس و افراد کنترل یکسان بوده (۹۴-۹۸/۵ درصد)، اما بار ویروس در سلول‌های مونونوکلر خون محیطی افراد با لوپوس ۱۵ برابر افراد کنترل بوده است [۱۰]. اخیراً گزارش شده است که برخی افراد بعد از ابتلا به عفونت مونونوکلوز عفونی دچار لوپوس شده‌اند، که این به تئوری ابتلا به لوپوس ناشی از EBV

جدول شماره ۱- پرایمرها و پروب مورد استفاده برای بررسی لود ویروس EBV

Primer/probe	Sequence (5'-3')	Viral gene
Forward	CGG TGT GTT CGT ATA TGG AGG TAG TA	BKRF1*
Reverse	AGA CCA TGA AAT AAC AGA CAA TGG AC	BKRF1
3'-Fluorescein probe	AGT CGT CTC CCC TTT GGA ATG GC	BKRF1

۲۹/۷۳ بود که این اختلاف نیز از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P=0/003$ ) (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۲- میانگین و انحراف معیار بار ویروس EBV در زنان مبتلا به لوپوس با تست EBV مثبت برحسب فعال و غیرفعال بودن

بیماری				
تست EBV	لوپوس	تعداد	میانگین	انحراف معیار
مثبت	فعال	۱۷	۷۹۹۷/۶	۹۰۰۳/۵
	غیرفعال	۱۰	۵۶/۵	۴۵/۴۶

\*Kolmogorov-Simrnov Test, Leven's Test and t-test

جدول شماره ۳- میانگین و انحراف معیار بار ویروس EBV در بیماران با لوپوس فعال برحسب شدت فعالیت بیماری

شدت فعالیت لوپوس	تعداد	میانگین	انحراف معیار
خفیف تا متوسط	۷	۶۶۰۸/۶۰	۷۷۶۹/۰۷
شدید	۱۳	۶۹۰۰/۰۰	۹۵۶۳/۷۳

\* Kolmogorov-Simrnov Test, Leven's Test and t-test

جدول شماره ۴- میانگین و انحراف معیار بار ویروس EBV در ۳۷ بیمار زن مبتلا به لوپوس مورد مطالعه برحسب فعال و غیرفعال بودن

بیماری				
لوپوس	تعداد	میانگین	انحراف معیار	P
فعال	۱۸	۵۸۰۳/۳	۷۱۷۸	۰/۰۰۳
غیرفعال	۱۹	۲۹/۷۳	۴۳/۲۸	

\*Leven's Test and t-Test

### بحث

در مطالعه حاضر ۷/۵ درصد از بیماران مبتلا به لوپوس مرد و ۹۲/۵ درصد زن بودند. در فرم‌های مختلف لوپوس نسبت زنان بیشتر از مردان است و در کتب مرجع نیز نسبت درگیری زن به مرد ۹-۱۰ به ۱ ذکر شده است. در فرم فعال گرفتاری زنان و مردان به ترتیب برابر با ۹۰ و ۱۰ درصد و در فرم غیرفعال نیز برابر با ۹۵ و ۵ درصد بود. از طرف دیگر، اکثر زنان (۵۱/۴ درصد) دارای فرم غیرفعال و اکثر مردان (۶۶/۷ درصد) دارای فرم فعال لوپوس بودند، اما این اختلاف‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ توسط Larsen و همکاران در پاریس بر روی ۷۶ بیمار مبتلا به لوپوس غیرفعال و ۴۲ بیمار مبتلا به لوپوس فعال انجام شد، نشان داده شد که زنان بیشتر از

به‌طور خلاصه اینکه ۲۵۰ نانوگرم از DNA حاصل از استخراج ۵ میلی‌لیتر از بافی‌کوت خون به مخلوط PCR شامل:

10 mM Tris (pH 8.3), 50 mM KCl, 10 mM EDTA, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 mM dATP, dCTP, dGTP, and dTTP, 0.2 mM each primer, 0.1 mM TaqMan fluorogenic probe, and 1.25U of AmpliTaq Gold Enzyme (Applied Biosystems)

اضافه گردید. به‌دنبال فعال‌سازی آنزیم Ampli- Taq Gold برای ۱۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۴۵-۵۰ چرخه شامل ۱۵ ثانیه در ۹۵ درجه و ۱ دقیقه در ۶۲ درجه سانتی‌گراد برای انجام PCR در نظر گرفته شد. میانگین بار ویروس EBV در دو گروه با بیماری فعال و غیرفعال به‌دست آمده و به‌صورت Copy/ml بیان شد و سپس با استفاده از آزمون‌های آماری مانند chi-square و Kolmogorov-Smirnov Test, Leven's Test و t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### نتایج

در مطالعه حاضر که بر روی ۴۰ نفر بیمار مبتلا به لوپوس انجام شد، ۳۷ نفر (۹۲/۵ درصد) زن و ۳ نفر (۷/۵ درصد) مرد بودند و فراوانی زن به مرد به نسبت ۹ به یک بود. طول مدت بیماری در ۲۷ نفر (۶۷/۵ درصد) کمتر از ۵ سال، در ۱۲ نفر (۳۰ درصد) بین ۵-۱۰ سال و در ۱ نفر (۲/۵ درصد) بالای ۱۰ سال بود. تست EBV DNA در ۱۳ نفر (۳۲/۵ درصد) منفی و در ۲۷ نفر (۶۷/۵ درصد) مثبت بود. در فرم فعال بیماری لوپوس میزان منفی و مثبت بودن تست EBV به ترتیب ۱۵ و ۸۵ درصد و در فرم غیرفعال بیماری ۵۰ درصد بود (جدول شماره ۲). همچنین، اکثر افراد دارای تست مثبت (۶۳ درصد) فرم فعال بیماری را داشتند و اکثر افراد دارای تست منفی (۷۶/۹ درصد) دارای فرم غیرفعال بیماری لوپوس بودند ( $P=0/018$ ). از لحاظ شدت فعالیت بیماری، در ۱۷/۵ درصد بیماران، فعالیت خفیف و متوسط و در ۳۲/۵ درصد، فعالیت شدید بود (جدول شماره ۳). میانگین بار ویروس EBV در بیماران با لوپوس فعال و غیرفعال به ترتیب ۶۷۹۸ و ۲۸/۲۵ Copy/ml بود که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد ( $P=0/003$ ) میانگین بار ویروس در زنان در فرم فعال بیش از فرم غیرفعال و به ترتیب برابر با ۵۸۰۳/۳ و ۲۸/۲۵ Copy/ml

فعال و غیرفعال به ترتیب ۶۷۹۸ و ۲۸/۲۵ Copy/ml بود که این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار می باشد. به علاوه، در فرم فعال، میانگین بار ویروس در زنان برابر با ۵۸۰۳/۳ Copy/ml و در فرم غیرفعال برابر با ۲۹/۷۳ Copy/ml بود، که میانگین بار ویروس در زنان در فرم فعال بیش از فرم غیرفعال می باشد و این اختلافها از لحاظ آماری معنی دار بود. در مطالعه حاضر به علت کم بودن تعداد مردان در مطالعه، آنالیزهای آماری را بر روی جنس زن انجام دادیم. در مطالعه ای که توسط Gross و همکاران در سال ۲۰۰۵ به منظور بررسی بار ویروس EBV در بیماران مبتلا به لوپوس سیستمیک انجام شده، بار ویروس EBV در بیماران مبتلا نسبت به گروه سالم به شکل معنی داری بالاتر بوده است و مقایسه میانگین بار ویروس در دو گروه نشان داده است که بار ویروس در بیماران لوپوس حدود ۴۰ برابر بیشتر از گروه کنترل سالم می باشد؛ همچنین، در این مطالعه مشخص شد که بار ویروس با شدت فعالیت بیماری رابطه مستقیم دارد [۷] Kang و همکاران نیز بیان کرده اند که افزایش بار ویروس در بیماران مبتلا به لوپوس حدود ۴۰ برابر بیشتر از گروه سالم می باشد و در بیماران با لوپوس فعال بار ویروس EBV بیش از بیماران مبتلا به لوپوس غیرفعال می باشد [۸]. مشابه با یافته های مطالعه حاضر، Larsen و همکاران نشان داده اند که میانگین بار ویروس در بیماران مبتلا به لوپوس فعال ۱۹۳۰۰ Copy/ml (۲۸۰۰-۳۵۴۰۰) و در بیماران مبتلا به لوپوس غیرفعال ۱۷۳۰۰ Copy/ml (۲۹۰۰-۲۸۹۰۰) می باشد، اما در این مطالعه میزان بار ویروس در بیماران غیرفعال بالاتر از مطالعه ما می باشد [۱۴]. مطالعه حاضر نشان داد که میزان بار ویروس EBV در افراد مبتلا به لوپوس فعال خفیف تا متوسط و شدید به ترتیب ۶۶۰۸ و ۷۷۶۹ Copy/ml است که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. در مطالعه ای Mohamed و همکاران که بر روی ۳۳ بیمار مبتلا به لوپوس و ۳۰ فرد سالم در مصر انجام شده است، میزان بار ویروس در بیماران با لوپوس با شدت بالاتر، بیشتر از بقیه بیماران بوده است. نتایج این مطالعه با مطالعه ما متفاوت است [۲۰]. در یک مطالعه دیگر، بار ویروس EBV در بیماران با لوپوس فعال بالاتر از لوپوس غیرفعال بوده و همچنین در بیماران با لوپوس فعال خفیف در مقایسه با لوپوس با فعالیت شدید میزان بار ویروس تفاوت معنی دار داشته و اختلاف در حدود ۵ برابر برآورد شده است که با نتایج مطالعه حاضر متفاوت می باشد [۱۰]. در مطالعه ای Tazi و همکاران نیز نشان داده شده است که میانگین بار ویروس و آنتی بادی ضد ویروس EBV در بیماران مبتلا به لوپوس بالاتر از گروه کنترل بوده و در بیماران با لوپوس شدیدتر میانگین بار ویروس ۳ برابر بیشتر از بیماران با لوپوس

مردان درگیر هر دو فرم فعال و غیرفعال لوپوس می شوند [۱۴]. در یک مطالعه دیگر، از ۲۷ بیمار مبتلا به لوپوس که EBV مثبت داشتند، ۲۴ نفر زن و ۳ نفر مرد بودند و از بیماران مبتلا به لوپوس که تست EBV آنها منفی بود، ۶۸ نفر زن و ۱۴ نفر مرد بودند [۱۵]. در مطالعه ای که توسط Berkun و همکاران در دانمارک بر روی ۱۲۰ بیمار مبتلا به لوپوس انجام شد، ۱۱۹ نفر زن و ۱ نفر مرد وارد مطالعه شدند و ۸۵ درصد زنان لوپوس فعال داشتند [۱۶]. در مطالعه ای Chen و همکاران نیز ۳۴ نفر زن و تنها ۲ نفر مرد حضور داشتند و زنان بیشتر لوپوس فعال داشتند [۱۷]. در یک مطالعه دیگر نیز ۸۲ نفر زن و ۱۴ نفر حاضر بودند و بیشتر بیماران مرد لوپوس غیرفعال و ۹۴ درصد زنان لوپوس فعال داشته و این یافته ها برخلاف یافته های مطالعه ما می باشد [۱۸]. در مطالعه Tazi و همکاران نیز از بین افراد شرکت کننده، ۳۹ نفر زن و ۵ نفر مرد بودند و اکثر افراد از هر دو جنس لوپوس فعال داشتند [۱۹]. در اکثر مطالعات انجام شده در این زمینه، شیوع لوپوس در زنان بیشتر از مردان بوده و از طرفی در این مطالعات نیز مشخص شده است که شیوع لوپوس فعال در زنان بیشتر از مردان است. نتایج این واقعیت را نشان می دهد که شیوع بیماری لوپوس در زنان بیشتر و نسبت زنان به مردان حدود ۹ به ۱ است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیماران مبتلا به لوپوس ۶۷/۵ درصد تست EBV مثبت و ۳۲/۵ درصد منفی داشتند. در فرم فعال درصد منفی و مثبت بودن تست EBV به ترتیب برابر با ۱۵ و ۸۵ درصد و در فرم غیرفعال برابر با ۵۰ درصد بود. اکثر افراد دارای تست مثبت (۶۳ درصد) دارای فرم فعال و اکثر افراد دارای تست منفی (۷۶/۹ درصد) دارای فرم غیرفعال لوپوس بودند که این اختلافها از لحاظ آماری معنی دار بود. Lu و همکاران نشان دادند که در بیماران مبتلا به لوپوس ۳۲/۱ درصد تست ویروس EBV مثبت بوده و در گروه کنترل ۴/۱ درصد بیماران تست مثبت داشتند. هم چنین، در این مطالعه مشخص شد که شیوع EBV در بیماران با لوپوس فعال بیشتر از گروه غیرفعال می باشد [۹]. در مطالعه ای Mohamed و همکاران نیز در بیماران مبتلا به لوپوس ۳۲ نفر (۹۶/۹ درصد) دارای تست EBV مثبت بوده و در گروه کنترل ۲۰ نفر (۶۶/۶ درصد) دارای تست مثبت بودند [۲۰]. نتایج مطالعات ذکر شده با مطالعه حاضر متفاوت می باشد که می تواند علت این تفاوت در روش آزمایشگاهی به کار رفته باشد و در بعضی از این مطالعات فقط از آنتی بادی بر علیه ویروس در سرم استفاده شده که تست دقیقی نمی باشد و میزان مثبت بودن بالاتری را نشان می دهد؛ در مطالعه ما از روش Real Time PCR استفاده شده است که دقیق تر می باشد. میانگین بار ویروس EBV در بیماران با لوپوس

فعالیت و پاتوژنز بیماری می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان و حمایت مرکز تحقیقات بیماری‌های اتوایمیون با شماره طرح ۹۳۳۶ صورت گرفته است. لازم است از معاونت پژوهشی و اعضای آن معاونت تقدیر و تشکر به عمل آید. در ضمن مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه دانشجوی دکتری پزشکی عمومی سرکار خانم مهدیه اسلامی است.

### References:

[1] Draborg AH, Duus K, Houen G. Epstein- Barr Virus and systemic lupus erythematosus. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 370516.

[2] Antony S, Fauci Dis, Kasper DL. *Harrisons internal medicine*. 18<sup>th</sup> ed. MC Gawhill; 2012. P. 2075 -83.

[3] Straus SE, Cohen JI, Tosato G, Meier J. Epstein-Barr virus infections: biology, pathogenesis, and management. *Ann Intern Med* 1993; 118(1): 45-8.

[4] Smith PP, Gordon C. Systemic lupus erythematosus: clinical presentations. *Autoimmun Rev* 2010; 10(1): 43-5.

[5] Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40(9): 1725-1.

[6] Namjou B, Kilpatrick J, Harley JB. Genetics of clinical expression in SLE. *Autoimmunity* 2007; 40(8): 602-12.

[7] Gross AJ, Hochberg D, Rand WM, Thorley-Lawson DA. EBV and systemic lupus erythematosus: a new perspective. *J Immunol* 2005; 174(11): 6599-607.

[8] Kang I, Quan T, Nolasco H, Park SH, Hong MS, Crouch J, et al. Defective control of latent Epstein-Barr virus infection in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2004; 172(2): 1287-94.

[9] Lu JJ, Chen DY, Hsieh CW, Lan JL, Lin FJ, Lin SH. Association of Epstein-Barr virus infection with systemic lupus erythematosus in Taiwan. *Lupus* 2007; 16(3): 168-75.

[10] Moon UY, Park SJ, Oh ST, Kim WU, Park SH, Lee SH, et al. Patients with systemic lupus erythematosus have abnormal elevated Epstein-Barr virus load in blood. *Arthritis Res Ther* 2004; 6(4): 295-302.

[11] Rocchi G, Felici A, Ragona G, Heinz A. Quantitative evaluation of Epstein-Barr virus infected mononuclear peripheral blood leukocyte in infectious mononucleosis. *N Eng J Med* 1977; 296(3): 1342-45.

خفیف می‌باشد. این نتایج با نتایج مطالعه ما متفاوت می‌باشد که این اختلاف در مطالعات می‌تواند به علت استفاده از روش‌های مختلف و دستگاه‌ها با دقت‌های مختلف و یا شاید به علت شرایط جامعه و جامعه نمونه ما باشد [۱۹].

### نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت میزان عفونت با ویروس EBV در افراد مبتلا به لوپوس بالا است و در بیماران مبتلا به لوپوس فعال میزان بار ویروس بالاتر از بیماران مبتلا به فرم غیرفعال بیماری می‌باشد؛ در نتیجه این مشاهدات دال بر نقش ویروس در

[12] Kieff E. Epstein-Barr virus and replication. In: Fields BN, Knipe DM, Homley PM, Chanock RM, Melnick JL. *In fields' virology* Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. P. 2343-69.

[13] Katz BZ, Salimi B, Kim S, Nsiah-Kumi P, Wagner-Weiner L. Epstein-Barr virus burden in adolescents with Systemic lupus erythematosus. *Pediatr Infec Dis J* 2001; 20(2):148-53.

[14] Larsen MI, Sauce D, Deback C, Arnaud L, Mathian A, Miyara M, et al. Exhausted cytotoxic control of Epstein-Barr virus in human lupus. *PLoS Pathog* 2011; 7(10): e1002328.

[15] Ulf-Møller CJ, Nielsen NM, Rostgaard K, Hjalgrim H, Frisch M. Epstein-Barr virus-associated infectious mononucleosis and risk of systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49(9): 1706-12.

[16] Berkun Y, Zandman-Goddard G, Barzilai O, Boaz M, Sherer Y, Larida B, et al. Infectious antibodies in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2009; 18(13): 1129-35.

[17] Chen CJ, Lin KH, Lin SC, Tsai WC, Yen JH, Chang SJ, et al. High prevalence of immunoglobulin A antibody against Epstein-Barr virus capsid antigen in adult patients with lupus with disease flare: case control studies. *J Rheumatol* 2005; 32(1): 44-7.

[18] Chen DY, Chen YM, Lan JL, Chen HH, Hsieh CW, Wey SJ, et al. Polymyositis/ dermatomyositis and nasopharyngeal carcinoma: the Epstein-Barr virus connection? *J Clin Virol* 2010; 49(4): 290-5.

[19] Tazi I, Fehri S, Elghrari K, Ouazzani T, Benchemsi N. Systemic lupus erythematosus and Epstein-Barr virus. *East Mediterr Health J* 2009; 15(3): 01-708.

[20] Mohamed AE, Hasen AM, Mohammed GF, Elmaraghy NN. Real-Time PCR of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in adult Egyptian patients with systemic lupus erythematosus. *Int J Rheum Dis* 2013; 18(1): 16.