



بررسی ارتباط احتمالی بیماری نورومیلیتیس اپتیک با تیتر آنتی‌بادی علیه عفونت ویروس اوریون در اصفهان

محبوبه جزینی: کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

(D) رسول روغنیان: دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران (*نوبنده مسئول) r.roghanian@sci.ui.ac.ir

سید حمید زرکش اصفهانی: دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

وحید شایگان نژاد: استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و گروه نورولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

امید میرمسیب: مرکز تحقیقات علوم اعصاب و گروه نورولوژی، دانشکده پزشکی و کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

نورومیلیتیس اپتیکا،

ویروس اوریون،

الایزا،

MS

IgG

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۲۸

زمینه و هدف: نورومیلیتیس اپتیک (Neuromyelitis optica-NMO) نوعی التهاب خودایمن تضعیف‌کننده اعصاب مرکزی می‌باشد که آنتی‌بادی‌های خودی علیه آکوآپورین^۴ (کاتال‌های آبی سلول‌های آستروسیت) واکنش داده و با التهاب میلین و عصب بینایی تشخیص داده می‌شود. ویروس‌ها می‌توانند عامل التهاب در مغز باشند، در اثر تغییرات التهابی ناشی از آن‌ها عبور آنتی‌بادی‌های خودی از سد مغزی-نخاعی تسهیل می‌شود. بنابراین تعیین عفونت ویروسی مرتبط با بیماری می‌تواند ما را در به کارگیری راهکارهای پیشگیری و درمان یاری رساند. مطالعه به منظور بررسی ارتباط احتمالی عفونت ویروسی اوریون در بروز بیماری با سنجش آنتی‌بادی‌های IgG و IgM در سال ۱۳۹۴ در اصفهان انجام شده است.

روش کار: این مطالعه توصیفی بر روی ۲۵ بیمار NMO، ۳۰ بیمار مالتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis- MS) و ۳۰ فرد سالم مراجعه کننده به آزمایشگاه میلاد اصفهان انجام شد. میزان IgG و IgM علیه ویروس اوریون با روش الایزا و کیت (Euroimmun، ساخت آلمان) ارزیابی و محاسبات آماری با آزمون ANNOVA و نرمافزار SPSS16 انجام شد.

یافته‌ها: تیتر IgG در ۲۵ بیمار NMO در ۱۹ بیمار (۷۶٪)، ۳۰ بیمار MS در ۱۶ بیمار (۵۳٪) و ۳۰ فرد سالم در ۱۴ نمونه (۴۶٪) مثبت بود. پس از محاسبات آماری، در تیتر IgG بین گروه بیماران NMO با گروه سالم و MS اختلاف معناداری وجود داشت ($p=0.031$)، اما تیتر IgM در گروه‌های مورد مطالعه اختلاف معناداری را نشان نداد ($p=0.610$).

نتیجه‌گیری: وجود اختلاف معنادار در تیتر IgG علیه ویروس اوریون در بیماران NMO در مقایسه با سایر گروه‌ها و پایین بودن تیتر IgM می‌تواند بیانگر سابقه ابتلای بیماران NMO به این ویروس در طول زندگی و ارتباط احتمالی بیماری با عفونت ویروسی باشد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: دانشگاه اصفهان

شیوه استناد به این مقاله:

Jazini M, Roghanian R, Zarkesh Esfahani SH, Shaygan nejad V, Mirmosayyeb O. Evaluation of the possible relation between neuromyelitis optica and mumps infection in Isfahan, Iran. Razi J Med Sci. 2019;26(1):50-58.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 1.0 صورت گرفته است.



Original Article

Evaluation of the possible relation between neuromyelitis optica and mumps infection in Isfahan, Iran

Mahboobeh Jazini, MA in Microbiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Esfahan University, Esfahan, Iran

 **Rasoul Roghanian**, Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Esfahan University, Esfahan, Iran

(*Corresponding author) r.roghanian@sci.ui.ac.ir

Seyed Hamid Zarkesh Esfahani, Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Esfahan University, Esfahan, Iran

Vahid Shaygan nejad, Professor, Nuroscines Centre, Neurology Department, Faculty of Medicine, Esfahan University of Medical Sciences, Esfahan, Iran

Omid Mirmosayeb, Nuroscines Centre, Neurology Department, Faculty of Medicine, & Student Research Committee, Esfahan University of Medical Sciences, Esfahan, Iran

Abstract

Background: Neuromyelitis Optica (NMO) is an autoimmune inflammation of central nervous system in which autoantibodies are released against AQP-4 (astrocytic water channels) and diagnosed with transverse myelitis and optic neuritis. Viral infections could be pro-inflammatory agents in body organs including nervous system. Due to such inflammatory reactions, autoantibodies would cross the blood brain barrier. Therefore, recognizing the viral agents may help us to prevent and treat NMO. The aim of the present study was to assess the possible association between NMO and mumps virus.

Methods: This observational study was conducted on 25 NMO patients, 30 Multiple Sclerosis (MS) patients and 30 healthy individuals. Serum IgG and IgM antibodies against mumps, was detected by ELISA using Euroimmun kit (manufactured by Germany). Statistical analysis was performed by SPSS software.

Results: IgG titer was positive in 76, 53 and 46% of NMO patients, MS patients and healthy individuals, respectively. Statistical analysis demonstrated that level of IgG was significantly higher among groups, However, IgM levels showed no significant difference.

Conclusion: Significant increase of IgG titer against mumps virus in NMO patients and low level of IgM may indicate that an old infection of mumps in NMO patients' life could have a possible role in the pathogenesis of NMO.

Keywords

Neuromyelitis optica,

Mumps virus,

ELISA

MS

IgG

Received: 06/12/2018

Accepted: 17/02/2019

Conflicts of interest: None

Funding: University of Isfahan

Cite this article as:

Jazini M, Roghanian R, Zarkesh Esfahani SH, Shaygan nejad V, Mirmosayeb O. Evaluation of the possible relation between neuromyelitis optica and mumps infection in Isfahan, Iran. Razi J Med Sci. 2019;26(1):50-58.

This work is published under CC BY-NC-SA 1.0 licence.



NMO و ویروس اوریون بیان کردند که در ۲۵ درصد (۲ نمونه از ۸ نمونه) از افراد بیمار، ویروس اوریون آشکار شد و تفاوت معناداری میان گروه بیمار و گروه کنترل وجود داشت که ممکن است به دلیل تاثیر این ویروس در بروز بیماری NMO باشد (۱۰ و ۹۱).

هدف اصلی این تحقیق، بررسی وجود ارتباط احتمالی بین عفونت ویروس اوریون و بروز بیماری NMO به روش الایزا به صورت سنجش آنتی بادی های IgG و IgM علیه ویروس اوریون است. با توجه به سبب شناسی پیچیده‌ی NMO و نقش عوامل عفونت‌زا نظری ویروس‌ها در ایجاد این بیماری و همچنین شیوع نسبتاً بالای بیماری‌های خودایمن عصبی نظری MS و NMO و آمار رو به افزایش مبتلایان به این چنین بیماری‌هایی در شهر اصفهان لزوم انجام مطالعاتی درباره ارتباط احتمالی برخی از عوامل عفونت‌زا و ابتلا به بیماری NMO و MS احساس می‌شود. از عوامل عفونی مطرح در ایجاد بیماری، ویروس اوریون می‌باشد که گرچه در برخی از کشورها مورد مطالعه قرار گرفته است اما در ایران با توجه به بررسی‌های به عمل آمده تاکنون هیچ پژوهشی در مورد ارتباط احتمالی این ویروس و بیماری NMO یافت نشد.

روش کار

اطلاعات بیماران: این مطالعه توصیفی-مقطعی از تابستان ۱۳۹۵ تا پاییز ۱۳۹۵ در بین بیماران مبتلا به NMO و MS و افراد سالم مراجعه کننده به آزمایشگاه تشخیص طبی میلاد انجام شد. در این مطالعه ۸۵ نفر در سه گروه شامل ۲۵ نمونه مربوط به بیماران مبتلا به NMO، ۳۰ نمونه بیماران MS و ۳۰ نمونه سرم افراد سالم به عنوان کنترل حضور داشتند. تشخیص بیماری‌های NMO و MS توسط متخصص مغز و اعصاب به ترتیب براساس معیار Wingerchuk و معیار مک دونالد انجام شده بود وارد مطالعه گردیدند (۱۱). اطلاعات دموگرافیک شامل سن و جنسیت از بیماران و افراد سالم جمع‌آوری شد.

تست الایزا: تست الایزا جهت سنجش تیتر IgG علیه

Neuromyelitis optica optica (NMO)، ترکیبی از میلیتیس به معنای التهاب میلین و نوریتیس اپتیکا به معنای التهاب در اعصاب بینایی نوعی بیماری خودایمن است که عمداً توسط آسیب به اعصاب بینایی و طناب نخاعی تشخیص داده می‌شود (۱-۳). این بیماری اولین بار توسط Eugene Devic در سال ۱۸۹۴ نامگذاری شد. NMO در برخی از علائم کلینیکی با مالتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis-MS) شباهت دارد، به همین دلیل در گذشته تصور می‌شد که نوعی از MS است اما در سال ۲۰۰۴ آنتی بادی اختصاصی علیه آکواپورین ۴ در سرم بیماران NMO کشف شد که باعث تمایز دو بیماری می‌شود. این آنتی بادی با نام AQP4-IgG (آنتی بادی IgG علیه آکواپورین ۴) شناخته شده و نقش کلیدی در بیماری-زایی ایغا می‌کند و قادر به شناسایی اپی توپ‌های خارج سلولی کاتال آبی سلول‌های آستروسیت به نام Aquaporin-4 (آکواپورین ۴) می‌باشد و نسبت به آن واکنش نشان داده و منجر به تخریب آن‌ها می‌گردد (۴ و ۵).

در حقیقت عامل اصلی برای تحریک آسیب به واسطه آنتی بادی ضد آکواپورین ۴ تغییرات التهابی سد مغزی-نخاعی است. بنابراین عفونت‌های ویروسی و باکتریایی می‌توانند به عنوان عوامل محیطی در بروز التهاب در ماده سفید و خاکستری مغز مطرح شوند. در اثر التهاب ناشی از آن‌ها، عبور آنتی بادی‌های خودی ضد آکواپورین ۴ از سد مغزی-نخاعی تسهیل شده باعث آسیب به بافت‌های غنی از آکواپورین ۴ و افزایش ارائه آنتی زن خودی و فعل شدن بیش از حد سلول‌های T و B می‌گردد (۶-۸).

طبق مطالعه انجام شده توسط کوگا و همکاران در زمینه علت بروز بیماری NMO، ۲۴ عامل عفونی مورد مطالعه قرار گرفت که در این بیماران ویروس‌های اوریون و هرپس ویروس فراوانی بیشتری داشتند. موری و همکاران با انجام روش مولکولی Nested PCR نمونه‌های مایع نخاع جهت بررسی ارتباط بیماری

Ratio ≥ 0.8 to < 1.1	Border Line	
Ratio ≥ 1.1	Positive	
همچنین تست الایزا جهت سنجش تیتر IgM علیه ویروس اوریون براساس دستورالعمل شرکت تولیدکننده کیت (Euroimmun - ساخت آلمان) بر روی ۲۵ نمونه سرم بیماران NMO، ۳۰ نمونه سرم بیماران MS و ۳۰ نمونه سرم از افراد سالم به عنوان کنترل انجام شد.		
همانند سنجش تیتر IgG، مراحل انجام شد. نتایج با محاسبه نسبتی از جذب نوری، نمونه کنترل به جذب نوری کالیبراتور به دست می‌آید و به صورتی که در زیر آمده است تفسیر می‌گردد.		
<u>Extinction of the control or patient sample</u>		
Extinction of calibrator		
Ratio < 0.8	Negative	
Ratio ≥ 0.8 to < 1.1	Border Line	
Ratio ≥ 1.1	Positive	
محاسبات آماری: محاسبات آماری مربوط به مقایسه گروههای بیماران NMO، MS و افراد سالم در آزمون IgG علیه ویروس اوریون توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت. بدین صورت که نرمالیته داده‌ها با آزمون آگر مقدار P بدست آمده کوچکتر از 0.05 باشد فرض نرمال بودن رد شده و برای مقایسه داده‌ها باید از آزمون‌های ناپارامتری استفاده کرد. نتیجه‌ی آزمون در سطح 0.05 ($p=0.05 < 0.13$) بود که نتیجه‌ی فوق نشان می‌دهد که فرضیه‌ی صفر در آزمون که عبارت است از پیروی داده‌ها از توزیع نرمال پذیرفته می‌شود و توزیع داده‌ها منطبق بر توزیع نرمال قلمداد می‌گردد. از آزمون لیون برای بررسی همگونی واریانس‌ها استفاده شد. مقدار P حاصل از آزمون همگونی واریانس‌ها بیشتر از 0.05 است و در نتیجه فرض همگونی پذیرفته شد $P=0.05 < 0.05$. با انجام آزمون ANNOVA، مقدار P برای متغیر حاصل از آزمون کمتر از 0.05 است پس فرض آزمون که یکسان بودن میانگین IgG در سه گروه بوده است، رد شد. یعنی میانگین سه گروه با هم تفاوت معناداری دارند. ($p=0.031 < 0.05$). برای نشان دادن این که بین کدام سه گروه تفاوت وجود داشته است از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.		

ویروس اوریون براساس دستورالعمل شرکت تولیدکننده کیت (Euroimmun - ساخت آلمان) بر روی ۲۵ نمونه سرم بیماران NMO، ۳۰ نمونه سرم بیماران MS و ۳۰ نمونه سرم از افراد سالم به عنوان کنترل انجام شد. بعد از جمع آوری نمونه‌های سرم، این نمونه‌ها به نسبت $1/101$ با محلول رقیق‌کننده رفیق شدند. برای رقیق کردن $10 \mu\text{l}$ میکرولیتر از سرم را با $1000 \mu\text{l}$ میکرولیتر بافر محلول کرده و با ورتسکس مخلوط شد که مرحله رقیق کردن قبل از شروع آزمایش الایزا انجام شده و به مدت 30 دقیقه در دمای اتفاق انکوبه می‌شود. $100 \mu\text{l}$ میکرولیتر از سه محلول کالیبراتور و سپس کنترل مثبت و منفی به ترتیب در $5 \mu\text{l}$ چاهک اول و همچنین نمونه‌های سرم رقیق شده به چاهک‌ها اضافه شدند. بعد از 30 دقیقه انکوباسیون در دمای اتفاق چاهک‌ها سه مرتبه با $300 \mu\text{l}$ میکرولیتر از بافر شستشو داده شد. بعد از اتمام شستشو $100 \mu\text{l}$ میکرولیتر از آنزیم کونژوگه به هر چاهک اضافه شده و به مدت 30 دقیقه در دمای اتفاق قرار شد. بعد از این مدت سه مرتبه مرحله شستشو انجام شد. $100 \mu\text{l}$ میکرولیتر از محلول سوبسترا-کوروموژن به تمام چاهک‌ها اضافه شده و میکروپلیت به مدت 15 دقیقه در دمای اتفاق در مکان تاریک قرار داده که نمونه‌های مثبت آبی رنگ می‌شوند. بعد از آن $100 \mu\text{l}$ میکرولیتر از محلول متوقف کننده حاوی اسید سولفوریک به همه چاهک‌ها ریخته شده تا واکنش آنزیمی متوقف شود. شدت رنگ در هر چاهک با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (ساخت شرکت Awareness Techmology) با طول موج 450 نانومتر و با فیلتر 630 نانومتر اندازه گیری شد. مرحله خواندن نباید بیشتر از 30 دقیقه بعد از افزودن اسید به طول انجامد زیرا در غیر این صورت ممکن است اکسیداسیون خودبخودی ماده رنگ زا باعث ایجاد رنگ زمینه قوی شود.

نتایج حاصل از آزمایش الایزا به صورت نیمه کمی گزارش شدند. نتایج با محاسبه نسبتی از جذب نوری، نمونه کنترل به جذب نوری کالیبراتور 2 به دست می‌آید و به صورتی که در زیر آمده است تفسیر می‌گردد.

Extinction of the control or patient sample

Extinction of calibrator 2

Ratio < 0.8	Negative
---------------	----------

معناداری بین میانگین سن افراد سه گروه شرکت کننده در مطالعه یافت نشد.

با مقایسه جنسیت در بین سه گروه مورد مطالعه مشخص شده که، تفاوت معناداری بین جنسیت سه گروه وجود ندارد ($p=0.0599 > 0.05$) (جدول ۱).

با انجام محاسبات آماری و آزمون ANNOVA در تیتر G علیه ویروس اوریون بین گروه بیماران مبتلا به NMO با گروه سالم و مبتلا به MS اختلاف معناداری وجود داشت ($p=0.031$), از طرف دیگر بررسی میزان آنتی‌بادی IgM علیه ویروس اوریون بین گروه بیماران مبتلا به NMO با گروه سالم و MS تفاوت چشمگیری نشان داده نشد ($p=0.710$). بنابراین به دلیل وجود اختلاف معنادار در تیتر G، از نظر جنسیت و سن بین گروه بیماران NMO با افراد سالم و بیماران MS و افراد سالم مقایسه آماری انجام گرفت.

درصد نمونه‌های مثبت در بیماران NMO در آزمون IgG، ۷۶ درصد می‌باشد که از میان این تعداد هیچ کدام از افراد زیر ۲۰ سال و بالای ۵۰ سال نبودند. بیشترین میزان ۱۱ نفر (۴٪) بین ۲۱–۳۰ سال، بعد

اطلاعات دموگرافیک در این مطالعه با استفاده از نرمافزار SPSS نسخه ۱۶ و با آزمون مجدد کای آنالیز گردید.

یافته‌ها

در بین ۲۵ بیمار مبتلا به ۷۶٪ NMO (۱۹ نفر)، ۳۰٪ بیمار مبتلا به ۵۳٪ MS (۱۶ نفر) و ۳۰ فرد سالم ۴۶٪ (۱۴ نفر)، تیتر G علیه ویروس اوریون نشان داده شد که در این میان بیماران مبتلا به NMO با ۷۶٪ (۱۹ نفر) بیشترین تعداد را به خود اختصاص داده است. تیتر IgM علیه ویروس اوریون در بین ۲۵ بیمار مبتلا به MS ۳٪ (۱ نفر)، ۱ بیمار (۰.۳٪) و ۳ فرد سالم (۰.۱٪) نشان داده شد.

در این مطالعه ۸۵ نفر در سه گروه (گروه بیماران مبتلا به NMO با ۲۵ نفر، گروه بیماران مبتلا به MS با ۳۰ نفر و افراد سالم با ۳۰ نفر) با میانگین سنی هر گروه به ترتیب 34.0 ± 10.0 و 32.8 ± 8.75 و 30.0 ± 11.50 قرار داشتند. با توجه به مقدار (۰.۳۳٪) که بیشتر از ۵٪ شده است تفاوت

جدول ۱- مقایسه جنسیت بین سه گروه مورد مطالعه

گروه	زن	مرد	p
گروه Devic	(٪ ۶۸) ۱۷	(٪ ۳۲) ۸	.۰۵۹۹
گروه MS	(٪ ۷۶) ۲۳	(٪ ۲۳) ۷	
گروه افراد سالم	(٪ ۷۰) ۲۱	(٪ ۳۰) ۹	

با مقایسه جنسیت در بین سه گروه مورد مطالعه مشخص شده که تفاوت معناداری بین جنسیت سه گروه وجود ندارد. ($p=0.599 > 0.05$).

جدول ۲- مقایسه گروههای سنی افراد بیمار و سالم

*p	سن و گروه	درصد نمونه‌های مثبت افراد سالم در هر بازه سنی	درصد نمونه‌های مثبت بیماران NMO یا MS در هر بازه سنی
.۰/۳	۱۰-۲۰ سال بین بیماران NMO و افراد سالم	۳ نفر (٪ ۱۰)	.
.۰/۰۳	۲۱-۳۰ سال بین بیماران NMO و افراد سالم	۴ نفر (٪ ۱۳)	۱۱ نفر (٪ ۴۴)
.۰/۵	۳۱-۴۰ سال بین بیماران NMO و افراد سالم	۸ نفر (٪ ۲۶)	۴ نفر (٪ ۱۶)
.۰/۵	۴۱-۵۰ سال بین بیماران NMO و افراد سالم	۴ نفر (٪ ۱۳)	۴ نفر (٪ ۱۶)
-	بالای ۵۰ سال بین بیماران NMO و افراد سالم	۲ نفر (٪ ۶)	.
.۰/۳	۱۰-۲۰ سال بین بیماران MS و افراد سالم	۳ نفر (٪ ۱۰)	(٪ ۳/۱۱ نفر)
.۰/۷	۲۱-۳۰ سال بین بیماران MS و افراد سالم	۴ نفر (٪ ۱۳)	(٪ ۱۳/۴ نفر)
.۰/۰۹	۳۱-۴۰ سال بین بیماران MS و افراد سالم	۸ نفر (٪ ۲۶)	(٪ ۲۶/۸ نفر)
.۰/۶	۴۱-۵۰ سال بین بیماران MS و افراد سالم	۴ نفر (٪ ۱۳)	(٪ ۱۳/۴ نفر)
.۰/۱	بالای ۵۰ سال بین بیماران MS و افراد سالم	۲ نفر (٪ ۶)	(٪ ۶/۲ نفر)

در بین افراد ۲۱-۳۰ سال بیماران NMO و افراد سالم اختلاف معناداری وجود دارد ($p=0.030$), به عبارت دیگر تعداد افراد مثبت از نظر آنتی‌بادی IgG علیه ویروس اوریون در بیماران NMO در رده سنی ۲۱-۳۰ سال از افراد سالم بیشتر است و بیشترین میزان فراوانی افزایش آنتی‌بادی در گروه بیماران NMO در این رده سنی (۳۰-۲۱ سال) قرار دارد.

جدول ۳- مقایسه آماری آزمون IgG در گروههای سنی مختلف با تفکیک جنسیت

*P	مونث (فراوانی)	ذکر (فراوانی)	گروه سنی (سال)
.۰/۰۲	(٪۸۰) ۸/۱۰	(٪۲۰) ۲/۱۰	۲۱-۳۰
.۰/۴۸۵	(٪۷۵) ۳/۴	(٪۲۵) ۱/۴	۳۱-۴۰
۱	(٪۵۰) ۲/۴	(٪۵۰) ۲/۴	۴۱-۵۰

مطابق با جدول ۳ تیتر IgG در افراد مؤنث به طور معناداری از افراد ذکر بالاتر است. ممکن است در گروه سنی ۲۱-۳۰ سال اختلاف معناداری بین افراد مؤنث و ذکر مشاهده شده است و احتمال ابتلای افراد مؤنث نسبت به افراد ذکر بیشتر است.

معناداری وجود دارد که این مقدار کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد ($p=0/009$).^{*}

مقایسه آماری آزمون IgG در بیماران NMO در گروههای سنی مختلف با تفکیک جنسیت انجام شده است. این جدول بیانگر آن است که فراوانی تیتر IgG در افراد مؤنث بیشتر بوده و در گروه سنی ۲۱-۳۰ سال اختلاف معناداری بین افراد ذکر و مؤنث قابل مشاهده است، به عبارت دیگر در این گروه سنی (۲۱-۳۰ سال)، تیتر IgG در افراد مؤنث به طور معناداری از افراد ذکر بالاتر است. ممکن است در گروه سنی ۲۱-۳۰ سال احتمال ابتلای افراد مؤنث نسبت به افراد ذکر بیشتر است (جدول ۳).

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از این مطالعه، بررسی وجود ارتباط احتمالی بین عفونت ویروسی اوریون و بروز بیماری NMO با روش الایزا و سنجش سطح آنتی‌بادی IgM و IgG است. از آنجایی که عوامل عفونت‌زا مانند ویروس‌ها در ایجاد بیماری‌های عصبی نقش دارند و شیوع نسبتاً بالای بیماری‌های خودایمیں عصبی وجود دارد، درک مناسب از ارتباط بین عفونت و بیماری NMO در درمان و پیشگیری این بیماری حائز اهمیت است. با توجه به مسربی بودن عفونت ویروسی اوریون و بررسی ارتباط احتمالی بیماری NMO با این عفونت ویروسی اهمیت بالارفتن سطح بهداشت جوامع قابل توجه می‌باشد روش الایزا نسبت به روش‌های مولکولی از هزینه و زمان کمتر و سرعت بالاتری برخوردار است بنابراین در تشخیص عفونت ویروسی اوریون با روش الایزا بر روی سرم بیماران و درمان عفونت قادر به کاهش شیوع و علائم بیماری می‌شویم.

در این مطالعه، تیتر IgG علیه ویروس اوریون در بیماران مبتلا به NMO، بیماران مبتلا به MS و افراد

از آن ۴ نفر (٪۱۶) بین ۳۱-۴۰ سال و ۴ نفر (٪۱۶) بین ۴۱-۵۰ سال می‌باشد.

درصد نمونه‌های مثبت در بیماران MS در آزمون IgG ۵۶ درصد ارزیابی شد که ۱ نفر (٪۳) بین ۱۰-۲۰ سال، ۴ نفر (٪۱۳) بین ۲۱-۳۰ سال، ۸ نفر (٪۲۶) بین ۳۱-۴۰ سال، ۴ نفر (٪۱۳) بین ۴۱-۵۰ سال و ۲ نفر (٪۶) بالای ۵۰ سال بودند.

درصد افراد سالم که در آزمون IgG مثبت بودند ۴۶ درصد ارزیابی شد که در این میان، ۳ نفر (٪۱۰) بین ۱۰-۲۰ سال، ۵ نفر (٪۱۶) بین ۲۱-۳۰ سال، ۳ نفر (٪۱۰) بین ۳۱-۴۰ سال، ۳ نفر بین ۴۱-۵۰ سال و بالای ۵۰ سال موردی یافت نشد.

با انجام تجزیه و تحلیل آماری نشان داده شد که در بین افراد ۲۱-۳۰ سال بیماران NMO و افراد سالم اختلاف معناداری وجود دارد ($p=0/030$), به عبارت دیگر تعداد افراد مثبت در بیماران NMO در آزمون IgG علیه ویروس اوریون در رده سنی ۲۱-۳۰ سال از افراد سالم بیشتر است و همچنین بیشترین میزان فراوانی آنتی‌بادی در گروه بیماران NMO در این رده سنی قرار دارد و همچنین بیشترین تعداد افراد بیمار در بیماران MS در بازه سنی ۳۱-۴۰ سال قابل تشخیص است (جدول ۲).

از میان ۲۵ بیمار NMO ۱۷ زن (٪۶۸) حضور داشتند که در این میان ۱۴ زن (٪۸۲) از نظر تیتر IgG علیه ویروس اوریون مثبت بودند. ۲۳ نفر (٪۷۶) از بیماران مبتلا به MS، زن بودند که در بین آن‌ها ۱۲ زن (٪۵۲) از نظر تیتر IgG مثبت بودند و در میان افراد سالم ۹ زن از نظر تیتر IgG مثبت (٪۴۰) بودند. تعداد افراد مثبت در هر یک از گروههای بیمار با تعداد افراد سالم از نظر جنسیت مقایسه شده اند و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته است که در فقط بین افراد مبتلا به NMO و افراد سالم از نظر جنسیت اختلاف

علائم بیماری NMO را نشان دادند. در این ۲ بیمار خانم، آنتی‌بادی ضد ویروس اوریون با روش الیزا ارزیابی شد که آنتی‌بادی IgG سرم مثبت بوده اما آنتی‌بادی IgM سرم و IgM مایع معزی- نخاعی منفی می‌باشد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۱۰).

سایر مطالعاتی که در زمینه NMO و ارتباط آن با ویروس اوریون انجام شده است به صورت گزارش موردنی مطرح می‌باشند که شامل: گزارش ارائه شده توسط هایاکاوا و همکاران در سال ۲۰۰۸ از فرد بیماری که التهاب عصب بینایی و میلین بعد از التهاب معزی با ویروس اوریون، نشان داده است. بر همین اساس، علائم بیماری NMO مانند التهاب عصب بینایی و التهاب میلین متعاقب عفونت با ویروس اوریون گزارش شده است (۱۲).

در سال ۱۹۹۸ گزارشی توسط بانازال و همکاران از پسر ۱۰ ساله با عفونت اوریونکه در تصاویر MRI علائم بیماری NMO (مانند التهاب میلین حاد و گسترش آسیب طناب نخاعی در طول بیش از سه قطعه می‌باشد) نشان داده شده بود که این علائم در اثر عفونت با این ویروس گسترش یافته بود (۱۳).

در مطالعه حاضر به بررسی مقایسه بیماران NMO در گروه‌های سنی مختلف با افراد سالم از نظر سنی از جهت تیتر آنتی‌بادی IgG علیه ویروس اوریون پرداخته شده است و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت که نتایج نشان داد در بین افراد در رده سنی ۲۱-۳۰ سال بیماران NMO و افراد سالم اختلاف معناداری وجود دارد به عبارت دیگر بیشترین میزان تیتر IgG در بیماران NMO در بازه سنی ۲۱-۳۰ سال دیده شد که در مقایسه با کارهای انجام شده مطابقت دارد. کاشی‌پز و همکاران در سال ۲۰۱۵ در خوزستان سن شروع بیماری را ۲۹ سالگی بیان کردند که با مطالعه حاضر مطابقت دارد به عبارت دیگر در مطالعه حاضر بیشترین میزان تیتر IgG علیه ویروس اوریون در بیماران NMO در رده سنی ۲۱-۳۰ سال نشان داده شد (۱۴).

طبق مطالعه اپیدمیولوژی انجام شده توسط اعتمادی‌فر و همکاران در سال ۲۰۱۴ در اصفهان سن شروع بیماری ۳۰ سالگی اعلام شد (۱۵). صحراویان و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تهران متوسط سن شروع بیماری را ۲۷ سالگی گزارش کردند (۱۶). متوسط سن

سالم به ترتیب ۷۶٪ (۱۶ نفر)، ۵۳٪ (۱۶ نفر)، ۴۶٪ (۱۴ نفر) بود. در تیتر IgG علیه ویروس اوریون تفاوت معناداری بین بیماران NMO با گروه بیماران MS افراد سالم وجود داشت ($p=0.031$)، اما از نظر تیتر IgM علیه ویروس اختلاف معناداری مشاهده نشد ($p=0.710$). شناسایی آنتی‌بادی IgG نشان دهنده مرحله مزمن بیماری می‌باشد. از آنجایی که طبق مطالعه حاضر میزان افزایش تیتر آنتی‌بادی IgG در بیماران NMO به طور معناداری از گروه کنترل بالاتر است بیانگر مرحله مزمن بیماری و عفونت می‌باشد و همچنان ویروس‌هایی که در ایجاد عفونت‌های پایدار و راجعه نقش دارند می‌توانند به عنوان عوامل احتمالی در ایجاد التهاب سیستم اعصاب مرکزی مطرح باشند اما ارزیابی آنتی‌بادی IgM اختصاصی ویروس، عفونت ویروسی حاد را نشان می‌دهد که پس از مدتی این نوع آنتی‌بادی ناپدید می‌شود.

برای اولین بار در سال ۲۰۱۱، کوگا و همکاران ۱۹ بیمار مبتلا به NMO را مورد آزمایش قرار دادند. در بین عوامل احتمالی در زمینه بروز بیماری، تیتر IgM ۲۴ عامل عفونی مورد مطالعه قرار گرفت که در بین عوامل عفونی موردنظر ویروس اوریون و هرپس ویروس با فراوانی بیشتری گزارش شدند. از بین ۱۹ بیمار انتخاب شده در مطالعه کوگا و همکاران در سه نمونه (٪۱۶) تیتر IgM علیه ویروس اوریون نشان داده شد اما اختلاف معناداری در تیتر IgM در گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد که با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۹).

همچنانی در سال ۲۰۱۱، موری و همکاران جهت بررسی ارتباط بین بیماری NMO و ویروس اوریون با انجام روش مولکولی Nested PCR بر روی نمونه‌های مایع نخاع بیان کردند که در ۲۵٪ نمونه از ۸ نمونه (بیمار) از افراد بیمار، ویروس اوریون آشکار شد. ژنوم ویروس در ۲۵٪ نمونه از ۸ نمونه بیمار مشاهده شده است و در گروه کنترل این ویروس یافت نشد و تفاوت معناداری میان گروه بیمار و گروه کنترل وجود دارد که می‌تواند بیانگر تاثیر این ویروس در بروز بیماری NMO باشد. در این مطالعه هر دو بیمار که از نظر ویروس اوریون مثبت نشان داده شدند، خانم بودند که با توجه به خصوصیات آزمایشگاهی و کلینیکی با

اختلاف معنادار در افزایش تیتر آنتی‌بادی علیه IgG ویروس اوریون احتمالاً عفونت‌های پایدار ویروسی می‌توانند در پیش‌برد بیماری NMO ایفای نقش کنند، اما هنوز اهمیت ویروس‌ها به عنوان یک فاکتور سبب شناسی در بروز بیماری‌های خودایمنی یک موضوع چالش برانگیز بوده و نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد (۱۸).

از آنجایی که پژوهش حاضر حاصل پایان‌نامه دانشجویی و مشمول محدودیت زمانی و مالی بوده است انجام طرحی مشابه در محدوده زمانی طولانی‌تر با تعداد نمونه سرم بیشتر و بررسی سایر عوامل عفونی مرتبط با بیماری جهت نتیجه‌گیری بهتر در مورد ارتباط عوامل عفونی و بیماری NMO پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه این پژوهش تا حدودی می‌تواند وجود ارتباط بین عفونت ویروسی با بیماری NMO را بررسی کرده و راه‌گشایی پژوهش‌های بعدی در این زمینه باشد.

نتیجه الیزا جهت بررسی سطح آنتی‌بادی IgG علیه ویروس اوریون اختلاف معناداری را بین گروه بیماران NMO و گروه سالم و بیماران MS نشان داد. از آنجایی که شناسایی آنتی‌بادی‌های IgG بیانگر مراحل مزمن عفونت می‌باشد و همچنین ویروس‌هایی که دارای توانایی در ایجاد عفونت‌های پایدار هستند، گزینه‌های مناسبی در بروز بیماری‌های عصبی می‌باشند اما ارتباط معناداری بین آنتی‌بادی IgM علیه ویروس اوریون در گروه بیماران NMO و گروه کنترل مشاهده نشده است، زیرا ارزیابی آنتی‌بادی IgM اختصاصی ویروس، عفونت ویروسی حاد و اولیه یا دوباره فعال شدن حاد ویروس را نشان می‌دهد که در بروز بیماری عفونت‌های پایدار تاثیرگذار هستند.

از آنجایی که تا به امروز هیچ ویروسی به طور قطعی عامل عفونی بیماری خودایمن مانند NMO مشخص نشده است، یافته‌ها نشان می‌دهند که نه تنها یک ویروس بلکه عفونت‌های ویروسی متنوع و عوامل متفاوت دیگر مانند عوامل ژنتیکی و غیرعفونی می‌تواند در ارتباط با پیشرفت NMO در طول مراحل بیماری مؤثر باشند. بنابراین تشخیص عفونت ویروسی اوریون و وجود ارتباط احتمالی آن در بروز بیماری NMO و همچنین افزایش بهداشت جوامع و پیشگیری از ابتلا به عفونت‌های ویروسی پایدار و درمان مناسب و به موقع

شروع بیماری در سایر کشورها مانند آمریکا حدود ۴۱ سالگی می‌باشد که سن شروع بیماری در ایران پایین‌تر است و با مطالعه حاضر همخوانی ندارد که می‌تواند به دلیل تفاوت در فاکتورهای محیطی و شرایط جغرافیایی باشد (۱۷).

در این مطالعه جهت بررسی جنسیت با تیتر آنتی‌بادی IgG در میان گروه‌های مورد مطالعه، از میان ۲۵ نفر بیمار مبتلا به NMO ۱۷ زن حضور دارند که در این میان ۱۴ زن از نظر آنتی‌بادی IgG مثبت (٪۸۲) می‌باشد. در میان افراد سالم ۹ زن از نظر IgG مثبت (٪۴۰) بودند. تجزیه و تحلیل آماری بیانگر آن است که در بین افراد مبتلا به NMO و افراد سالم از نظر جنسیت اختلاف معناداری وجود دارد چنانی تحقیقی در بین مطالعات NMO انجام نگرفته است.

در مطالعه حاضر افزایش تیتر آنتی‌بادی IgG علیه ویروس اوریون در افراد مؤنث بیشتر بوده و در گروه سنی ۲۱-۳۰ سال اختلاف معناداری میان افراد مذکور و مؤنث دیده شد. صحرائیان و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تهران براساس مطالعه اپیدمیولوژی بیان کردند شناس ابتلا به بیماری در افراد مؤنث در سنین پایین نسبت به افراد مذکور بالاتر است. طبق مطالعه آن‌ها متوسط سن شروع بیماری در خانم‌ها ۲۳ سال و در افراد مذکور ۳۲ سال می‌باشد که با مطالعه حاضر مطابقت دارد (۱۶). با توجه به این که تعداد زنان مبتلا به بیماری نسبت به مردان بالاتر است لذا تغییرات هورمونی می‌تواند به عنوان یک عامل موثر در ابتلا به بیماری در نظر گرفته شود.

از آنجایی که NMO بیماری مربوط به التهاب آستروسیت‌ها است، زمانی که آستروسیت‌ها در اثر عفونت ویروسی ملتهب شوند، عملکرد فیزیولوژیکی آن‌ها تغییر کرده و انواع سیتوکین‌ها، کموکین‌های پیش برنده التهاب مانند اینترلوکین‌های ۶، ۱، ۱۰ و TNF α و گونه‌های اکسیژن فعال را تولید می‌کنند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت با توجه به نقش عفونت‌های ویروسی در افزایش نفوذ پذیری سد مغزی-خونی مغز و علاوه بر توانایی عبور آنتی‌بادی و آسیب به سلول‌های آستروسیت، افزایش سیتوکین و التهاب در آن ناحیه ایجاد شده و سلول‌های ایمنی به آن منطقه فراخوانده می‌شوند بنابراین با توجه به نتایج این مطالعه وجود

neuromyelitis optica. *Neurol Sci*; 2011;32(5):795-799.

11. Zamvil SS, Slavin AJ. Does MOG Ig-positive AQP4-seronegative opticospinal inflammatory disease justify a diagnosis of NMO spectrum disorder? *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*; 2015;2:e62.

12. Hayakawa S, Mori M, Okuta A, Kamegawa A, Fujiyoshi Y, Yoshiyama Y, et al. Neuromyelitis optica and anti-aquaporin-4 antibodies measured by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Neuroimmunol*; 2008;196(1):181-187.

13. Bansal R, Kalita J, Msra U, Kishore J. Myelitis: a rare presentation of mumps. *Pediatr Neurosurg*; 1998;28(4):204-206.

14. Kashipazha D, Mohammadianinejad SE, Majdinasab N, Azizi M, Jafari M. A descriptive study prevalence, clinical features and other findings of neuromyelitis optica and neuromyelitis optica spectrum disorder in Khuzestan Province, Iran. *Iran J Neuro*; 2015;14:204.

15. Etemadifar M, Dashti M, Vosoughi R, Abtahi SH, Ramagopalan SV, Nasr Z. An epidemiological study of neuromyelitis optica in Isfahan. *Mult Scler*; 2014;20:1920-22.

16. Sahraian M, Moinfar Z, Khorramnia S, Mohammad Ebrahim M. Relapsing neuromyelitis optica: demographic and clinical features in Iranian patients. *Eur J Neurol*; 2010;17:79-49.

17. Mealy MA, Wingerchuk DM, Greenberg BM, Levy M. Epidemiology of neuromyelitis optica in the United States: a multicenter analysis. *Arch Neurol*; 2012;69:1176-80.

18. Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol*; 2010;19:7-35.

آن‌ها ممکن است بتواند در کاهش بروز بیماری موثر باشند.

تقدیر و تشکر

مخراج این پایان نامه (کد کمیته: ۹۳۱۸۱۱۳۹۴۰۰۱) توسط تحصیلات تكمیلی دانشگاه اصفهان در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی گروه زیست‌شناسی انجام گرفت. در جمع آوری نمونه‌ها آزمایشگاه تشخیص طبی میلاد اصفهان به ما یاری دادند که مراتب تقدیر و تشکر خود را اعلام می‌داریم.

References

1. Mitsdoerffer M, Kuchroo V, Korn T. Immunology of neuromyelitis optica: a T cell-B cell collaboration. *Ann N Y Acad Sci*; 2013;1283(1):57-66.
2. Chiu C, Xian W, Moss A. Flying in silence: Echolocating bats cease vocalizing to avoid sonar jamming. *2008;105(35): 13116-21.*
3. Melamed E, Levy M, Waters PJ, Sato DK, Bennett JL, Jhon GR, et al. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*; 2015;2(4):e134.
4. Weinshenker BG, Wingerchuk DM, Pittok SJ, Lucchinetti CF, Lennon VA. NMO-IgG: a specific biomarker for neuromyelitis optica. *Dis Markers*; 2006;22(4):197-206.
5. Jarius S, Wildemann B. The history of neuromyelitis optica. *J Neuroinflammation*; 2013;10(1):8.
6. Aboul-Enein F, Rauschka H, Kornek B, Stadelmann C, Steffler A, Bruck W, et al. Preferential loss of myelin-associated glycoprotein reflects hypoxia-like white matter damage in stroke and inflammatory brain diseases. *J Neuropathol Experim Neurol*; 2003;62(1):25-33.
7. Kalluri SR, Illes Z, Srivastava R, Cree B, Menge T, Bennett JL, et al, editprs. Quantification and functional characterization of antibodies to native aquaporin 4 in neuromyelitis optica. *Arch Neurol*; 2010;67(10):1201-1208.
8. Moore F Human herpes virus 6 and multiple sclerosis, Wolfson C. *Acta Neurol Scand*; 2002;106(2):63-83.
9. Koga M, Takahashi T, Kawai M, Fujihara K, Kanda T. A serological analysis of viral and bacterial infections associated with neuromyelitis optica. *J Neurol Sci*; 2011;300(1):19-22.
10. Mori M, Hosoya M, Hiwasa T, Hayakawa S, Uzawa A, Kuwabara S. Detection of mumps virus RNA in cerebrospinal fluid of patients with