Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Frequency of Type 8 Human Herpes Virus in Patients with Pemphigus Vulgaris in Tabriz Sina Hospital since 2016-2017

Hamideh Herizchi Qadim[1], Neda Razzaghi Zonouz[1*], Ashraf Fakhrjou[2], Mohammad Reza Ranjkesh[1], Jalil Houshyar Gharamaleki[3]

[1]Department of Dermatology, Sina Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[2]Department of Pathology, Imam Reza Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[3]Department of Internal Medicine, Imam Reza Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
*Corresponding author; E-mail: dermatologist20@gmail.com

Received: 7 April 2018 Accepted: 5 May 2019 First Published online: 19 Dec 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 February- March; 41(6):98-105

Abstract

Background: Pemphigus vulgaris is the most common form of autoimmune vesiculobullous skin disease. Human herpesvirus-8 (HHV-8) has a well-known association with Kaposi's sarcoma. Considering the reports about the incidence of Kaposi's sarcoma in patients with pemphigus and bolus pemphigoid without evidence of HIV infection, this study was designed to investigate the presence of HHV-8 in patients with pemphigus.

Methods: In this cross-sectional and descriptive-analytic study, 27 patients with newly diagnosed pemphigus vulgaris were selected. The control group included 27 patients with benign non- vesiculobullous skin lesions. IHC (Immunohistochemistry) staining was performed to detect HHV-8 in tissue samples taken from skin lesions or mucosal lesions in both groups.

Results: IHC showed HHV-8 in 12 patients in case group with pemphigus vulgaris (44.4%) and 9 patients in control group (33.3%) (P=0.402).

Conclusion: Although HHV-8 prevalence was higher in Pemphigus vulgaris patients, this difference was not statistically significant, and there is unlikely to be a causal relationship between HHV-8 and Pemphigus.

Keyword: Pemphigus vulgaris, human herpesvirus-8 (HHV-8), Immunohistochemistry, Tabriz

How to cite this article: Herizchi Qadim H, Razzaghi Zonouz N, Fakhrjou A, Ranjkesh M R, Houshyar Gharamaleki J. [Assessment of Frequency of Type 8 Human Herpes Virus in Patients with Pemphigus Vulgaris in Tabriz Sina Hospital since 2016-2017]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 February- March; 41(6):98-105. Persian.

© 2020 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

فراوانی ویروس هرپس انسانی نوع ۸ در بیماران پمفیگوس ولگاریس در بیمارستان سینای تبریز در سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶

حمیده هریزچی قدیم[۱]، ندا رزاقی زنوز[۱*]، اشرف فخرجو[۲]، محمدرضا رنجکش[۱]، جلیل هوشیار قراملکی[۳]

[۱] گروه پوست، مرکز آموزشی درمانی سینا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۲] گروه پاتولوژی، مرکز آموزشی درمانی امام رضا (ع)، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۳] گروه بیماریهای داخلی، بیمارستان امام رضا (ع)، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[*] نویسنده مسوول؛ ایمیل: dermatologist20@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۷/۱/۱۸ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۱۵ انتشار برخط: ۱۳۹۸/۹/۲۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. بهمن و اسفند ۱۳۹۸؛ ۴۱(۶):۹۸-۱۰۵

چکیده

زمینه: پمفیگوس ولگاریس شایع‌ترین فرم بیماری اتوایمیون تاولی پوست است، ویروس HHV-8 (ویروس هرپس انسانی نوع ۸) ارتباط شناخته شده‌ای با سارکوم کاپوزی دارد، با توجه به گزارش‌هایی در مورد بروز سارکوم کاپوزی در بیماران پمفیگوس، این مطالعه با هدف بررسی وجود HHV-8 در بیماران پمفیگوس ولگاریس انجام شد.

روش‌کار: در این مطالعه مقطعی و توصیفی- تحلیلی، ۲۷ بیمار مبتلا به پفیگوس ولگاریس تازه تشخیص داده شده انتخاب شدند. گروه شاهد شامل ۲۷ فرد دارای ضایعات پوستی غیرتاولی خوش‌خیم (اکثرا افراد واجد خال) بودند. رنگ‌آمیزی به روش (Immunohistochemistry, IHC) جهت شناسایی HHV-8 در نمونه‌های بافتی برداشته شده از ضایعات پوستی یا مخاطی در هر دو گروه انجام گردید.

یافته‌ها: از ۲۷ فرد مبتلا به پمفیگوس ولگاریس، در ۱۲ نفر HHV-8 مثبت گزارش شد (۴۴/۴٪) و در گروه کنترل در ۹ نفر از ۲۷ نفر (۳۳/۳٪) این ویروس وجود داشت (P=۰/۴۰۲).

نتیجه‌گیری: اگرچه شیوع HHV-8 در مبتلایان به پمفیگوس ولگاریس بیشتر بود اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود و بعید است ارتباط علیتی بین HHV-8 و بیماری پمفیگوس وجود داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: پمفیگوس ولگاریس، ویروس هرپس انسانی نوع ۸ (HHV-8)، ایمونوهیستوشیمی، تبریز

نحوه استناد به این مقاله: هریزچی قدیم ح، رزاقی زنوز ن، فخرجو ا، رنجکش م ر، هوشیار قراملکی ج. بررسی فراوانی ویروس هرپس انسانی نوع ۸ در بیماران پمفیگوس ولگاریس در بیمارستان سینای تبریز در سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۶):۹۸-۱۰۵

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

پمفیگوس به گروهی از بیماری‌های اتوایمیون تاولی پوست اطلاق می‌شود که مشخصه آن‌ها ضایعات اروزیو و تاول‌های منتشر پوستی و مخاطی است. شش نوع اصلی از این بیماری وجود دارد، پمفیگوس ولگاریس (PV)، پمفیگوس Vegetan، پمفیگوس فولیاسه، پمفیگوس اریتماتو، پمفیگوس پارانئوپلاستیک و پمفیگوس ناشی از دارو. پمفیگوس ولگاریس شایع‌ترین فرم این گروه بوده و ذاتاً یک بیماری کشنده اتوایمیون می‌باشد (۱، ۲). ترکیبی از استعداد ژنتیکی و عوامل محیطی در ایجاد پمفیگوس نقش دارند. از نظر ژنتیکی افراد دارای HLA DR4, DR14,DQ1,DQ3 استعداد ویژه‌ای به پمفیگوس ولگاریس دارند (۳). برخلاف باکتری‌ها که در ایجاد پمفیگوس مطرح نیستند، مطالعات زیادی به عفونت‌های ویروسی به‌عنوان یکی از عوامل محیطی در ایجاد پمفیگوس ولگاریس تاکید می‌کنند (۴) به ویژه ویروس‌هایی از قبیل (Herpes simplex virus, HSV) CMV), (Epstein Barr virus, EBV), (Cytomegalovirus, HIV), (Human immunodeficiency virus, در ارتباط با بیماری پمفیگوس مطرح هستند (۵).

ویروس‌ها با مکانیسم‌های مختلفی می‌توانند خودایمنی را در بدن القا کنند مثلاً از راه تحریک تولید فاکتورهای التهابی از قبیل اینترفرون آلفا، Interleukin 4 و Interleukin 10 یا به خاطر تشابه آنتی‌ژنی. از ویروس‌های گروه هرپس، همراهی ویروس هرپس انسانی نوع ۸ (HHV-8) با سارکوم کاپوزی (KS) و نیز ارتباط آن با (Primary effusion lymphoma, PEL) و بیماری Castleman کاملاً تایید شده است. از زمان کشف آن در بافت‌های سارکوم کاپوزی مرتبط با ایدز ((AIDS-associated KS tissues توسط Yuan Chang و Patrick Moor، طی دو دهه اخیر پیشرفت‌های زیادی در مورد آن صورت گرفته است (۸-۶). یکی از عوامل عفونی مطرح در بیماری پمفیگوس ولگاریس همین ویروس HHV-8 است. گزارشاتی مبنی بر بروز سارکوم کاپوزی در مبتلایان به پمفیگوس و بولوس پمفیگوید بدون شواهد عفونت HIV، باعث شده تا تحقیقاتی در خصوص ارتباط مستقیم بین HHV-8 و بیماری‌های وزیکولوبولوس انجام شود (۹ ، ۱۰). علی‌رغم تحقیقاتی که در این زمینه صورت گرفته هنوز کنتراورسی در مورد ارتباط و همراهی HHV-8 با پمفیگوس به‌طور کاملا روشنی احساس می‌شود. برخی تحقیقات به ارتباط مثبت بین HHV-8 و بیماری پمفیگوس شامل پمفیگوس ولگاریس دست یافته‌اند (۱۵-۱۱)، اما مطالعات متعددی هم وجود چنین ارتباطی را زیر سوال برده‌اند (۹، ۱۰ و ۲۱-۱۶). نظر به این که نقش HHV-8 در پاتوژنز بیماری پمفیگوس در هاله‌ای از ابهام قرار گرفته و به دلیل فقدان شواهد کافی در این زمینه، نمی‌توان در خصوص همراه بودن یا نبودن این ویروس با بیماری پمفیگوس نظر قطعی داد و از طرف دیگر مبتلایان به بیماری‌های اتوایمیون تاولی جهت درمان بیماری از داروهای ایمونوساپرسیو مثل گلوکوکورتیکوئیدها استفاده می‌کنند (که خود می‌تواند تشدید کننده عفونت‌های پنهان هم‌چون عفونت با HHV-8 باشد) (۲۲)، لذا مطالعه‌ای با هدف بررسی وجود HHV-8 در بیماران پمفیگوس طراحی گردید تا از نتایج آن بتوان در شناسایی اتیولوژی و نیز درمان مبتلایان به پمفیگوس استفاده نمود، به‌طوری که در آینده ممکن است درمان‌های ضدویروسی نیز در کنار درمان‌های اصلی کاربرد داشته باشند.

روش‌کار

این مطالعه مقطعی و توصیفی-تحلیلی، از فروردین ۱۳۹۵ تا اسفند ۱۳۹۶ بر روی بیماران مراجعه کننده به درمانگاه پوست و نیز بیماران بستری بخش پوست مرکز آموزشی درمانی سینا که ضایعات پوستی یا مخاطی مشکوک به پمفیگوس داشتند، اجرا شد. گروه شاهد شامل افراد دارای ضایعات پوستی غیرتاولی خوش‌خیم (اکثرا افراد واجد خال) بودند. جهت تعیین حجم نمونه از نتایج مطالعه میبدی و همکاران (۱۵) استفاده شد. در این مطالعه در گروه بیماران ۳۵/۱٪ دارای HHV-8 مثبت بودند. با در نظر گرفتن α=۰/۰۵ و β=۰/۲ و اختلاف ۳۰٪، تعداد ۲۷ نمونه برای هر گروه برآورد گردید. با توجه به این‌که دو جامعه مورد مطالعه کاملا متفاوت بود، لذا تصادفی‌سازی به مفهوم مرسوم انجام نشد و صرفا به ازای هر مورد Case یک مورد کنترل انتخاب گردید.

معیارهای ورود به مطالعه شامل بیماران مبتلا به پمفیگوس تازه تشخیص داده شده (New Case) بود که پمفیگوس ولگاریس آن‌ها با نمونه بافتی پاتولوژی و (Direct immunofluorescence, DIF) تایید شده بودند و تمایل به شرکت در مطالعه داشتند. معیارهای خروج از مطالعه نیز عبارت بودند از: ۱) بیماران شناخته شده پمفیگوس؛ و ۲) مبتلایان به ضایعات تاولی که پمفیگوس آن‌ها با مطالعات DIF تایید نشده بود. برای بیماران مشکوک به ضایعات پمفیگوس، فرمی که دربرگیرنده سن، جنس، و محل ضایعات جلدی یا مخاطی است تکمیل شد، سپس دو نمونه بافتی از ضایعات برداشته شد، جهت تایید پاتولوژی و انجام DIF، به ترتیب به بخش پاتولوژی بیمارستان سینا و بیمارستان امام رضا (ع) ارسال گردید. بعد از تایید پمفیگوس رنگ‌آمیزی به روش(Immunohistochemistry, IHC) جهت کشف HHV-8 با استفاده از بلوک‌های پارافینی مربوطه انجام شد. برای شناسایی ویروس HHV-8 روش‌های متعددی وجود دارد که عبارتند از: روش‌های مشتمل بر enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)، PCR و IHC. در این مطالعه روش IHC استفاده شد که نوعی روش رنگ‌آمیزی سریع، آسان و در عین حال ارزان می‌باشد و درآن ابتدا آنتی‌ژن مورد نظر با استفاده از فیکساتیوهایی مثل فرمالین ظاهر می‌شود؛ سپس از آنتی‌بادی مونوکلونال علیه آنتی‌ژن (فرضاً علیه HHV-8) استفاده می‌گردد (۲۳). گروه شاهد شامل ۲۷ فرد دارای ضایعات پوستی غیرتاولی خوش‌خیم (اکثرا افراد واجد خال) بودند. به ازای هر بیمار مبتلا به پفیگوس ولگاریس یک نفر شاهد انتخاب می‌شد. جهت انجام IHC از کیت

Rat monoclonal Anti-HHV-8 با Lot:G868-NB و Ref:Mob395 ساخت کشور هلند استفاده شد. مراحل انجام IHC به صورت زیر بود: برش‌های ۶ میکرونی از بلوک‌های مورد نظر تهیه گردیده و رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی (روش DPS) طی مراحل زیر در هر یک از این برش‌ها به عمل آمد:

۱. اضافه نمودن ۱۰۰µL محلول Tissue Primer (Peroxidas Blocking) به بافت به مدت ۵ دقیقه
۲. شستشو با آب مقطر
۳. اضافه نمودن ۱۰۰µL محلول Background Blocker (Protein Blocker) به بافت به مدت ۵ دقیقه
۴. بدون شستشو یا دو تا دیپ در PBS
۵. اضافه نمودن ۱۰۰µL آنتی‌بادی اولیه، زمان پیشنهادی ۳۰ تا ۶۰ دقیقه
۶. شستشو با PBSیا TBS به مدت ۳ تا ۵ دقیقه.
۷. اضافه نمودن ۱۰۰µL از محلول PolyVue Plus Mouse/Rabbit (Enhancer (LINKER به مدت ۲۰ دقیقه.
۸. شستشو با PBSیا TBS به مدت ۳ تا ۵ دقیقه.
۹. اضافه نمودن ۱۰۰µL از محلول PolyVue Plus Mouse/Rabbit HRP Label به مدت ۲۰ دقیقه.
۱۰. شستشو با PBSیا TBSبه مدت ۳ تا ۵ دقیقه.
۱۱. اضافه نمودن Chromogen µL ۵۰–۲۰ به Stable DAB/Plus 1ml به مدت ۵–۳ دقیقه.
۱۲. شستشو با آب مقطر
۱۳. رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین به مدت ۲۳ تا ۳۰ ثانیه

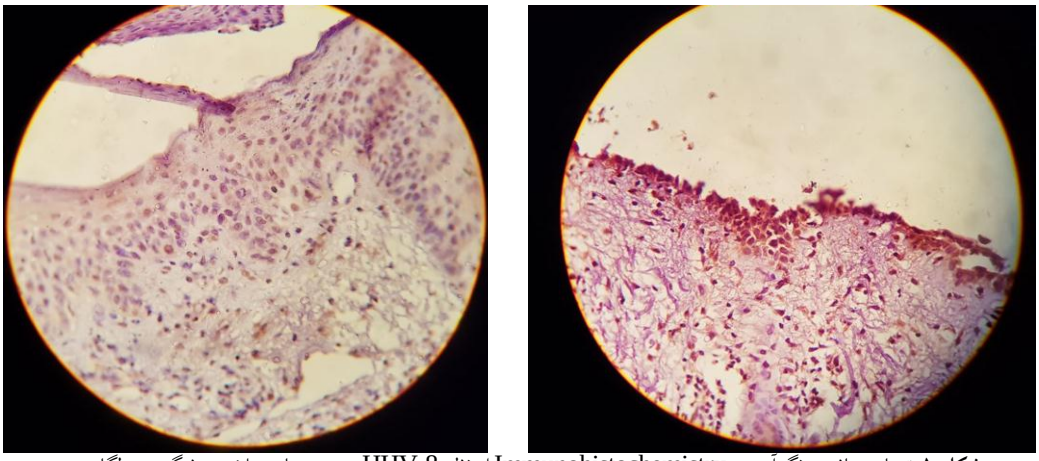
بعد از طی تمام مراحل فوق، بررسی لام‌های آماده شده به وسیله میکروسکوپ نوری صورت گرفت. در یک فیلد با بزرگ‌نمایی بالا (۴۰۰×) تمامی سلول‌ها شمارش شدند. تعداد سلول‌های رنگ گرفته نیز شمارش شده و درصد آن‌ها محاسبه گردید. روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: داده‌ها با استفاده از روش‌های آمار توصیفی و نیز روش‌های آمار استنباطی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-17 مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج به صورت فراوانی (درصد) و نیز انحراف‌معیار±میانگین گزارش گردید. ارتباط بین متغیرهای کیفی با استفاده از آزمون Chi-squre مورد آنالیز قرار گرفت. مقایسه میانگین متغیرهای کمی بین دو گروه با استفاده از آزمون T-Student مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت آزمون نرمال بودن داده‌ها از تست Kolmogrov-Smirnov استفاده شد. در این مطالعه **P**<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌دار آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از نظر توزیع جنسی ۱۵ نفر (۵۵/۵۶٪) از شرکت‌کنندگان گروه مورد مرد و ۱۲ نفر (۴۴/۴۴٪) زن بودند؛ و در گروه کنترل ۱۲ نفر (۴۴/۴۴٪) از شرکت‌کنندگان مرد و ۱۵ نفر (۵۵/۵۶٪) زن (**P**=۰/۴۱۴). میانگین سنی افراد شرکت‌کننده در گروه مورد ۱۳/۵۵±۴۳/۲۶ سال و میانگین سنی شرکت‌کنندگان در گروه کنترل ۱۲/۸۵±۴۰/۰۴ سال بود (**P**=۰/۳۷۴). در گروه مورد رنگ‌آمیزی Immunohistochemistry (IHC) در ۱۲ نفر (۴۴/۴٪) HHV-8 را نشان داد و در گروه کنترل در ۹ نفر (۳۳/۳٪). در ۱۵ نفر (۵۵/۶٪) از شرکت‌کنندگان گروه مورد و ۱۸ نفر (۶۶/۷٪) از گروه کنترل نتایج IHC منفی بود (**P**=۰/۴۰۲). در گروه مورد، پوست قفسه سینه بیشترین جایی بود که از آن‌جا بیوپسی تهیه شده بود (جدول ۱). در جدول ۲ اکثر مطالعاتی که در خصوص ارتباط HHV-8 با بیماری پمفیگوس انجام شده، آورده شده است (۹).

جدول ۱: محلی که ضایعات از آن‌جا بیوپسی شده بود

گروه/ محل	قفسه سینه	شکم	دهان	اسکالپ	محل‌های دیگر
مورد	٪۳۷	٪۳/۷	٪۱۸/۵	٪۱۸/۵	٪۲۲/۲
کنترل	٪۱۱	٪۱۴/۸	٪۰	٪۰	٪۷۴/۲



شکل ۱: تصاویر بافتی رنگ‌آمیزی Immunohistochemistry از نظر HHV-8 در دو بیمار مبتلا به پمفیگوس ولگاریس

جدول ۲: مرور متون از نظر ارتباط HHV-8 با بیماری‌های وزیکولوبولوس

منبع نمونه/ اختلال وزیکولوبولوس	تعداد موارد	روش	تعداد موارد مثبت	تعداد موارد منفی	شماره رفرانس
ضایعه پوستی/ **PV**	۱	PCR	۱	۰	۱۲
ضایعه پوستی/ **PF**	۶	PCR	۶	۰	۱۱
ضایعه پوستی/ **PV**	۶	PCR	۴	۲	۱۱
ضایعه پوستی/ **PV**	۹	PCR	۷	۲	۱۳
ضایعه پوستی/ **PF**	۲	PCR	۱	۱	۱۳
ضایعه پوستی/ **PV**	۳۶	PCR	۱۳	۲۳	۱۴
PV/PBMCs	۱۳	PCR	۴	۹	۱۴
سرم/ **PV**	۲۹	Serology	۱۰	۱۹	۱۴
سرم/ **PV**	۹	Serology	۱	۸	۲۸
سرم/ **BP**	۱۱	Serology	۱	۱۰	۲۸
ضایعه پوستی/ **PV**	۱۰	ISH	۰	۱۰	۱۸
ضایعه پوستی/ **PV**	۵	PCR	۰	۵	۱۸
ضایعه پوستی/ **PF**	۵	PCR	۰	۵	۱۸
سرم/ **PV**	۱۹	Serology	۰	۱۹	۱۸
سرم/ **PV**	۱۶	Serology	۰	۱۶	۲۱
سرم/ **PF**	۷	Serology	۰	۷	۲۱
ضایعه پوستی/ **PV**	۱۵	PCR	۰	۱۵	۱۶
P/PBMCs	۱۵	Serology	۰	۱۵	۱۶
ضایعه پوستی/ **PF**	۲	PCR	۰	۲	۱۶
P/PBMCs	۲	Serology	۰	۲	۱۶
ضایعه پوستی/ **PV**	۶	PCR	۰	۶	۲۰
ضایعه پوستی/ **PF**	۳	PCR	۰	۳	۲۰

PV: پمفیگوس ولگاریس، **PF**: پمفیگوس فولیاسه، PBMCs: peripheral blood mononuclear cells

بحث

این مطالعه مقطعی و توصیفی–تحلیلی با هدف بررسی وجود HHV-8 در بیماران پمفیگوس انجام شد و نشان داد که اگرچه شیوع HHV-8 در مبتلایان به پمفیگوس ولگاریس بیشتر است اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نیست.

Memar نخستین بار در سال ۱۹۹۷ به ارتباط HHV-8 و بیماری پمفیگوس اشاره کرد (۱۱، ۱۲). بعد از Memar، مطالعه Jang و همکاران در سال ۲۰۰۰، از مطالعاتی است که ارتباط بین HHV-8 و بیماری پمفیگوس را نشان می‌دهد. در این مطالعه از ۴۵ بیمار مبتلا به بیماری مزمن تاولی پوست، ۹ نفر پمفیگوس ولگاریس داشتند و از ۹ نفر در ۷ نفر (۷۷٪)، HHV-8 مثبت گزارش شد (۱۳). مطالعه Wang و همکاران (۲۰۰۵) از معدود مطالعاتی است که ارتباط HHV-8 با پمفیگوس ازجمله پمفیگوس ولگاریس را گویا نشان می‌دهد به‌طوری که از ۵۸ فردی که وارد مطالعه شده بودند ۳۷ نفر پمفیگوس ولگاریس داشتند و HHV-8 در مبتلایان به پمفیگوس نسبت به گروه کنترل بیشتر بود؛ DNA ویروس در ۳۶٪ مبتلایان به پمفیگوس وجود داشت اما این عدد در مورد گروه کنترل ۵/۶٪ بود (۱۴).

از دیگر مطالعاتی که ارتباط معنی‌داری بین HHV-8 و بیماری پمفیگوس توانسته به دست بیاورد می‌توان به مطالعه Meibodi و همکاران در سال ۲۰۱۰ اشاره کرد (۱۵). در این مطالعه در ۳۵/۱ درصد مبتلایان به پمفیگوس ولگاریس HHV-8 مثبت بود که نسبت به گروه کنترل (افراد سالم) به طور معنی‌داری بیشتر بود.

Dupin و همکاران (۱۷)، Tufano و همکاران (۱۶)، Cathomas و همکاران (۲۴)، Cohen و همکاران (۱۸)، Bezold و همکاران (۲۰)، Galan و همکاران (۹)، Esmaili و همکاران (۱۹) و Banihashemi و همکاران (۱۰) ارتباط HHV-8 با بیماری پمفیگوس را رد کرده‌اند.

یکسال بعد از Memar، در سال ۱۹۹۸، Cohen مطالعه‌ای انجام داد که نتایج آن کاملاً متفاوت بود. در مطالعه Memar که مبتنی بر روش‌های شناسایی HHV-8 DNA بود هر ۶ بیمار با پمفیگوس فولیاسه و ۴ نفر از ۶ نفر فرد مبتلا به پمفیگوس ولگاریس از نظر HHV-8 مثبت شدند اما در ۱۰ نفر فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل منفی بود (۱۱)، حال آن‌که در مطالعه Cohen که در آن از روش‌های سرولوژی برای چک آنتی‌بادی HHV-8 استفاده شده بود و در ۲۶ درصد مبتلایان به پمفیگوس ولگاریس و نیز در ۵۲ درصد آن‌ها به‌ترتیب علاوه بر سرولوژی از روش‌های PCR و In Situ Hybridization جهت بررسی DNA و mRNA (به ترتیب) استفاده کرده بود، هیچ‌کدام از روش‌های مذکور نتوانسته در ۱۹ بیمار مبتلا به پمفیگوس ولگاریس HHV-8 را شناسایی کنند، اما در ۹۶٪ مبتلایان به سارکوم کاپوزی مثبت بود (۱۸). یکسال بعد از این مطالعه در سال ۱۹۹۹ دو مطالعه دیگر نتایج Cohen را تایید کردند (۱۶، ۲۱). Tufano و همکاران از ۱۵ بیمار مبتلا به پمفیگوس ولگاریس در هیچ‌کدام از آن‌ها نتوانست با روش PCR، HHV-8 را شناسایی کند (۱۶). Dupin و همکاران هم در ۲۳ بیماری که ۱۶ نفر آن‌ها پمفیگوس ولگاریس و ۷ نفر پمفیگوس فولیاسه داشتند نتوانست آنتی‌بادی علیه HHV-8 را شناسایی کند (۲۱)، حال آن‌که در همه مبتلایان به سارکوم کاپوزی و نیز در ۲ نفر از ۱۰۰ نفر گروه کنترل (افراد سالم) آنتی‌بادی علیه HHV-8 مثبت بود (۱۶، ۲۱). در مطالعه دیگری توسط Dupin و همکاران، در ۱۳ بیمار مبتلا به پمفیگوس که ۹ نفر آن‌ها پمفیگوس ولگاریس داشتند و ۴ نفر پمفیگوس فولیاسه، فقط در یک نفر مبتلا به پمفیگوس ولگاریس (۱۱٪) آنتی‌بادی علیه HHV-8 مثبت گزارش شد (۱۷). Cathomas و همکاران هم نه در ۱۵ بیمار مبتلا به پمفیگوس ولگاریس و نه در دو بیمار با پمفیگوس فولیاسه در هیچ‌کدام نتوانستند به روش PCR، HHV-8 را شناسایی کنند (۲۴). Bezold و همکاران هم نتوانستند در بیماران آلمانی مبتلا به پمفیگوس ولگاریس یا پمفیگوس فولیاسه وجود HHV-8 را ثابت کنند؛ لذا نتیجه‌گیری کردند که HHV-8 نقش بارزی در بیماری پمفیگوس ندارد (۲۰).

Galan و همکاران در سال ۲۰۰۹ طی مطالعه‌ای به بررسی وجود HHV-8 در بیماری‌های گروه پمفیگوس پرداختند. در این مطالعه در هیچ‌کدام از مبتلایان به بیماری‌های پمفیگوس (۱۰ پمفیگوس ولگاریس، ۱۴ پمفیگوئید بولوس و ۱ پمفیگوس فولیاسه) HHV-8 پیدا نشد و تمامی موارد اعم از Case و Control از نظر ویروس HHV-8 منفی بودند (۹). در مطالعه اسماعیلی و همکاران ۳۸ بیمار مبتلا به پمفیگوس ولگاریس (۱۹ مرد و ۱۹ زن) وارد مطالعه شدند و ۳۲ نمونه بافتی و ۶ نمونه سلول‌های خون محیطی از افراد تحت مطالعه گرفته شد. این مطالعه نیز نشان داد که تمامی نمونه‌ها از نظر HHV-8 منفی هستند (۱۹).

بنی هاشمی و همکاران در سال ۲۰۱۲ طی مطالعه‌ای ۳۰ بیمار مبتلا به پمفیگوس را از نظر وجود ویروس‌های خانواده هرپسی به روشIHC مورد بررسی قرار دادند، ۱۰ بیمار مبتلا به پمفیگوس فولیاسه و ۲۰ مورد مبتلا به پمفیگوس ولگاریس بودند. این دو گروه را با گروه کنترل که شامل ۱۰ بافت پوستی سالم بود مورد مقایسه قرار دادند. HHV-8 در ۳۰ درصد مبتلایان به PF و ۱۵ درصد مبتلایان به PV دیده شد اما از نظر آماری تفاوت بین ۳ گروه معنی‌دار نبود (۱۰). میبدی و همکاران در سال ۲۰۱۰ مطالعه‌ای انجام دادند که شامل ۳۷ بیمار مبتلا به PV، ۴ بیمار مبتلا به PF و۲۱ بافت سالم پوستی بود. در این مطالعه هم به روش PCR وجود DNA ویروس HHV-8 مورد بررسی قرار گرفت. در ۳۵/۱ درصد مبتلایان به PVو در ۵۰ درصد مبتلایان به PF، HHV-8 وجود داشت، که در مقایسه با گروه کنترل تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود (۱۵).

Mejri و همکاران در سال ۲۰۱۴ در یک مطالعه بزرگ ۱۱۴ نفر را از نظر ویروس‌های HHV-8، هپاتیت B و هپاتیت C در پمفیگوس در تانزانیا مورد بررسی قرار دادند، ۶۲ نفر مبتلا به پمفیگوس فولیاسه بودند، ۵۲ نفر پمفیگوس ولگاریس داشتند؛ برای کنترل ۲۷ فرد مبتلا به پمفیگوید بولوس و ۴۰ نفر فرد سالم را در نظر گرفتند. IgG anti-HHV-8 antibodies را چک کردند. نتیجه بدین شرح بود: آنتی‌بادی علیه پروتئین‌های لیتیک HHV-8 با شیوع بالا در مبتلایان به پمفیگوس فولیاسه، پمفیگوس ولگاریس، پمفیگوید بولوس و گروه کنترل بدون تفاوت معنی‌دار از نظر آماری دیده شد (به‌ترتیب ۱۹ درصد، ۳۰ درصد، ۳۶ درصد و ۴۴ درصد). نویسندگان به این نتیجه رسیدند که HHV-8 در کشور آن‌ها یک ویروس همه جا حاضر است (۲۵).

مطالعه ما از این نظر که هم در مبتلایان به پمفیگوس ولگاریس (۴۴/۴٪) و هم در گروه کنترل (۳۳/۳٪)، عفونت HHV-8 در درصدی از افراد شناسایی شد، شبیه مطالعه Merji (۲۵) است و از این لحاظ هم که ارتباط معنی‌داری بین مبتلایان به پمفیگوس ولگاریس و افراد سالم از نظر ابتلا به HHV-8 وجود ندارد به همین مطالعه شباهت دارد.

یکی از دلایل اختلاف درصد شناسایی HHV-8 در مطالعه ما و مطالعات دیگر می‌تواند به تفاوت‌های منطقه‌ای از نظر وضعیت اپیدمیولوژی ویروس باشد، چنانچه در نقاط مختلف دنیا شیوع ویروس یکسان نیست، مثلا در جامعه نرمال در فرانسه و ژاپن شیوع آن ۲٪–۰/۲٪، در ایتالیا ۲۳/۸٪ و در گزارشات ایالات متحده

تا ٪۲۰ بوده است (۲۱، ۲۸–۲۶) ولی در مطالعه Merji، در افراد نرمال ٪۴۴ بوده (۲۵) و نیز در کشور ما در شهر تهران ابتلا به HHV-8، در جامعه نرمال ٪۲ بر آورد شده است (۲۹). در چین در مطالعه Wang در افراد سالم شیوع HHV-8 ٪۷/۳ بوده است (۱۴). تفاوت در شیوع ویروس‌ها در مورد بقیه ویروس‌ها هم صدق می‌کند فرضاً در مطالعه Esmaili و همکاران، شیوع سابقه بالینی ابتلا به هرپس ۳۱/۵۷ درصد به دست آمده است (۲۰ نفر از ۳۲ نفر فرد ابتلا به پمفیگوس)، اما در مطالعه دیگری روی افراد نرمال جامعه ایرانی این سابقه ٪۶۳/۷ برآورد شده است (۱۹، ۳۰). ما هم به این نتیجه رسیدیم که HHV-8 در منطقه ما یک ویروس همه جا حاضر است.

سنگینی مطالعاتی که نبود ارتباط معنی‌دار بین HHV-8 و پمفیگوس را نتیجه‌گیری کرده‌اند (۹، ۱۰، ۱۶، ۲۱–۱۸) نسبت به مطالعاتی که وجود ارتباط معنی‌دار بین این ویروس و پمفیگوس را مطرح می‌کنند (۱۱، ۱۵–۱۳) بیشتر است و مطالعه ما همسو با اکثر مطالعات در این زمینه می‌باشد.

از دلایل دیگری که به نتیجه نامتجانس مطالعات می‌انجامد استفاده از روش‌های مختلف تشخیصی با حساسیت متفاوت است، هر چند در اکثر مطالعات با انتخاب مبتلایان به سارکوم کاپوزی به‌عنوان گروه کنترل مثبت و افراد سالم به عنوان گروه کنترل منفی تا حدی این مساله مدنظر محققین بوده تا از دقت تشخیصی روش خود مطمئن شوند. یکی دیگر از علت‌های نتایج ناهمسو بین مطالعات می‌تواند حجم نمونه به کار رفته باشد که بالطبع نتیجه مطالعه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. از دیگر مشکلاتی که می‌توان در مطالعات مبتنی بر PCR پیش‌بینی کرد بحث آلودگی است (۱۸) که مطمئنا به نتایج مثبت کاذب منجر خواهد شد. هم‌چنین، بررسی HHV-8 در نمونه تازه اخذ شده در مقایسه با نمونه کهنه paraffin embedded روی نتیجه مطالعه تاثیر خواهد گذاشت (۱۹).

نکات قوت و محدودیت‌های مطالعه

از نکات قوت این مطالعه می‌توان به وجود گروه کنترل و وجود حجم نمونه نسبتا خوب نسبت به مطالعات دیگر اشاره کرد. از محدودیت‌های مطالعه هم این بود که فقط از یک روش تشخیصی در شناسایی HHV-8 استفاده شد.

نتیجه‌گیری

هر چند شیوع HHV-8 در مبتلایان به پمفیگوس ولگاریس بیشتر بود اما از نظر آماری معنی‌دار نبود و همسو بودن این مطالعه با اکثر مطالعات در این زمینه موید این مطلب است که بعید است ارتباطی بین HHV-8 و بیماری پمفیگوس وجود داشته باشد. نتایج بدست آمده از این مطالعه می‌تواند اساس طراحی مطالعات تحلیلی پیشرفته درخصوص معرفی علل ایجاد بیماری پمفیگوس ولگاریس گردد.

پیشنهادات

با توجه به مطالعات متعددی که در این زمینه انجام گرفته به نظر می‌رسد انجام یک متاآنالیز به تعیین ارتباط بین HHV-8 و بیماری پمفیگوس کمک شایانی بکند.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز با کد ۵/د/۱۰۳۹۵۴۵ تایید شده است. در این مطالعه اطلاعات مربوط به بیماران محرمانه بوده و هیچ‌گونه نامی از بیمار برده نشد. هیچ هزینه اضافی به بیماران تحمیل نگردید و هزینه IHC به عهده محقق بود. با رضایت آگاهانه همه بیماران این مطالعه را پذیرفتند.

منابع مالی

این مطالعه به‌عنوان پایان‌نامه رزیدنتی دکتر ندا رزاقی زنوز اجرا گردیده و حامی مالی نداشته است.

منافع متقابل

مؤلفان اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مؤلفان

همگی نویسندگان، طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. هم‌چنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده‌اند.

References

1. Vincenzo R u, Eleonora R u, Ada Lo Sc, Giampiero Br, Luigi Pio Gu, et al. Pemphigus: Etiology, pathogenesis, and inducing or triggering factors: Facts and controversies. *Clinics in Dermatology* 2013; **31**: 374-381. doi: 10.1016/j.clindermatol.2013.01.004
2. Stamatis G R, Ourania E F, Christina S T, Dimitris R I. Management of pemphigus vulgaris: challenges and solutions. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2015; **8**: 521-527.
3. Robert P, Thomas S, Rüdiger E, Michael H. Pemphigus: a Comprehensive Review on Pathogenesis, Clinical Presentation and Novel Therapeutic Approaches. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* 2018; **54**(1): 1-25. doi: 10.1007/s12016-017-8662-z
4. Eleonora R U, Ronni W O, Vincenzo R U, Giampiero B, Francesca R, Ada Lo S. Pemphigus: Associations and management guidelines: Facts and controversies. *Clinics in Dermatology* 2013; **31**: 382-390. doi: 10.1016/j.clindermatol.2013.01.005
5. Danielle P, Oliveira B, Maria E, Nurimar C, Norma S. Laboratory Diagnosis of Herpesvirus Infections in Patients with Pemphigus Vulgaris Lesions. *Intervirology* 2013; **56**: 231-236. doi: 10.1159/000349889.

6. Li S, Bai L, Dong J, Sun R, Lan K. Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus: Epidemiology and Molecular Biology. *Adv Exp Med Biol* 2017; **1018**: 91-127.
7. Ota S, Fujikura Y, Yamamoto T, Maki Y, Kurokawa A, Maeda T. A case of Epstein-Barr virus-negative human immunodeficiency virus-related primary effusion lymphoma. *J Infect Chemotherapy* 2018; **14**: doi: 10.1016/j.jiac.2018.01.011
8. Wu D, Lim M S, Jaffe E S. Pathology of Castleman Disease. *Hematology Oncol Clin North Am* 2018; **32**(1): 37-52.
9. Galan A, Hui P, McNiff J M. Absence of Human Herpesvirus 8 in Pemphigus and Bullous Pemphigoid. *Int J Clin Exp Pathol* 2009; **2**: 456-462.
10. Banihashemi M, Maleki M, Pezeshkpoo F, Jafarian A H, Sharghi M R, et al. Incidence of herpes family viruses in skin lesions of pemphigus patients. *Iran J Dermatol* 2013; **16**: 53-56.
11. Memar O M, Rady P L, Goldblum R M, Yen A, Tyring S K. Human herpesvirus-8 DNA sequences in blistering skin from patients with pemphigus. *Arch Dermatol* 1997; **133**: 1247-1251. doi: 10.1001/archderm.1997.03890460069008
12. Memar O M, Rady P L, Goldblum R M, Tyring S K. Human herpesvirus-8 DNA sequences in a patient with pemphigus vulgaris, but without HIV infection or Kaposi's sarcoma. *J Invest Dermatol* 1997; **108**: 118. doi: 10.1111/1523-1747.ep12286343
13. Jang H S, Oh C K, Lim J Y, Jun E S, Kim Y S, Kwon K S. Detection of human herpesvirus 8 DNA in pemphigus and chronic blistering skin diseases. *J Korean Med Sci* 2000; **15**: 442-448. doi: 10.3346/jkms.2000.15.4.442
14. Wang G Q, Xu H, Wang Y K. Higher prevalence of human herpesvirus 8 DNA sequence and specific IgG antibodies in patients with pemphigus in China. *J Am Acad Dermatology* 2005; **52**: 460-467. doi: 10.1016/j.jaad.2004.10.882
15. Meibodi N T, Nahidi Y, Mahmoudi M. Evaluation of coexistence of the human herpesvirus type 8 (HHV-8) infections and pemphigus. *Int J Dermatol* 2010; **49**: 780-783. doi: 10.1111/j.1365-4632.2009.04398.x
16. Tufano M A, Baroni A, Buommino E, Ruocco E, Lombardi M L, Ruocco V. Detection of herpesvirus DNA in peripheral blood mononuclear cells and skin lesions of patients with pemphigus by polymerase chain reaction. *Br J Dermatol* 1999; **141**: 1033-1039. doi: 10.1046/j.1365-2133.1999.03201.x
17. Dupin N, Marcelin A G, Gorin I, Bossi P, Franck N. Prevalence of human herpesvirus 8 infection measured by antibodies to a latent nuclear antigen in patients with various dermatologic diseases. *Arch Dermatol* 1998; **134**: 700-702. doi: 10.1001/archderm.134.6.700
18. Cohen S S, Blauvelt A, Weinstein M D, Herndier B G, Anhalt G J. No Evidence of Human Herpesvirus 8 Infection in Patients with Paraneoplastic Pemphigus, Pemphigus Vulgaris, or Pemphigus Foliaceus. *J Invest Dermatol* 1998; **111**: 781-783. doi: 10.1046/j.1523-1747.1998.00384.x
19. Esmaili N, Hallaji Z, Abedini R, Soori T, Mortazavi H, Chams Davatchi C. Pemphigus vulgaris and herpesvirus: is there any relationship? *Int J Dermatol* 2010; **49**: 1261-1265. doi: 10.1111/j.1365-4632.2010.04515.x
20. Bezold G, Sander CA, Flaig MJ, et al. Lack of detection of human herpesvirus (HHV)-8 DNA in lesional skin of German pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus patients. *J Invest Dermatol* 2000; **114**: 739–41. doi: 10.1046/j.1523-1747.2000.00932-2. x
21. Dupin N, Marcelin A G, Calvez V, André C. Absence of a link between human herpesvirus 8 and pemphigus. *Br J Dermatol* 1999; **141**: 159-160. doi: 10.1046/j.1365-2133.1999.02942.x
22. Murrell D F, Peña S, Joly P, Marinovic B, Hashimoto T. Diagnosis and Management of Pemphigus: recommendations by an International Panel of Experts. *J Am Acad Dermatol* 2018; **10**.
23. Ana M, Molina-Ruiz, Carlos S, Arno R, Lorenzo C, Heinz K, Luis R. Immunohistochemistry in the Diagnosis of Cutaneous Viral Infections-Part I. Cutaneous Viral Infections by Herpesviruses and Papillomaviruses. *Am J Dermatopathol* 2015; **37**: 1-14. doi: 10.1097/dad.0000000000000203
24. Cathomas G, Stalder A, Regamey N. No evidence of HHV-8 infection in patients with pemphigus vulgaris/foliaceus. (Letter.) *Arch Dermatol* 1998; **134**: 1162. doi: 10.1001/archderm.134.9.1162
25. Mejri K, Sellami M K. Human herpesvirus-8 and hepatitis B and C virus infections in pemphigus. *Int J Dermatol* 2014; **53**: e461–e479.
26. Cattani P, Capuano M, Lesnoni La Parola I, Guido R, Santangelo R, Cerimele F. Human herpesvirus 8 in Italian HIV-seronegative patients with Kaposi sarcoma. *Arch Dermatol* 1998; **134**: 695-699. doi: 10.1001/archderm.134.6.695
27. Sato-Matsumura K C, Matsumura T, Nabeshima M, Katano H, Sata T, Koizumi H. Serological and immunohistochemically detection of human herpesvirus 8 in Kaposi's sarcoma after immunosuppressive therapy for bullous pemphigoid. *Br J Dermatol* 2001; **145**: 633-637. doi: 110.1046/j.1365-2133.2001.04413.x
28. Lennette E, Blackbourn D, Levy J A. Antibodies to human herpesvirus type 8 in general population and in Kaposi's sarcoma patients. *Lancet* 1996; **348**: 858-861. doi: 10.1016/s0140-6736(96)03240-0
29. Jalilvand S, Shoja1 Z, Mokhtari-Azad T, Nategh R, Gharehbaghian A. Seroprevalence of Human herpesvirus 8 (HHV-8) and incidence of Kaposi's sarcoma in Iran. *Infectious Agents and Cancer* 2011; **6**: 5. doi: 10.1186/1750-9378-6-5
30. Kasraeian M, Movaseghii M, Fotouhi Ghiam A. Seroepidemiological study of herpes simplex virus type 2 (HSV-2) antibodies in Shiraz, Iran. *IJI Autumn* 2004; **1**: 189-193.