

74500

دانشگاه علوم پزشکی تبریز

کتابخانه مرکزی

موضوع

مطالعه سیر HC۷ در بین اهداء کنندگان خون سینه ۵۰ سال

پایگاه انتقال خون تبریز ۷۷

استاد اساتید

دکتر حسین گودرزی

استاد اساتید

دکتر احمد زکریا

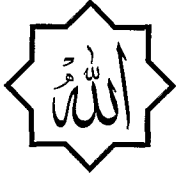
دکتر فاطمه فلاح

نگارش

سید شهاب الدین حسینی

۷۸-۷۹ ۵۲

۷۹۲۵۵



كل من عليها فان و يبقى وجه ربك
ذوالجلال و الاكرام

تقديم به :

روح بالا و روان پاک پدر

بزرگوارم که مظهر صبر

و ایمان و حامی بی

تکلف اینجاب بود .

تقدیم ہے:

مادر فداکارم کہ هنوز ہم مشتاقانہ ذرہ ذرہ وجودش را نثار فرزندانش می کند
و کسب هر توفیقی را در زندگی بیش از هر کس مدیون ایشان هستم.

انوار اطلاعات و آرزو علمی ایران
مبشر آراک

تقدیم به:

استاد علم و معرفت جناب آقای دکتر محمد فرهادی لنگرودی مدیرعامل
اسبق سازمان انتقال خون ایران که با تدبیر عاقلانه و حذف سیستم اهداء خون
جایگزین علاوه بر اینکه در سه سال اخیر موجبات تسهیل نیازمندان به خون را
فراهم آوردند با این عمل مدبرانه بواقع راه اهداءکنندگان حرفه‌ای را که از عوامل
اصلی تهدیدکننده سلامت خون و یکی از منابع مهم هیپاتیت C محسوب
می‌شوند، مسدود نمودند و برگی دیگر به اوراق خدمات انساندوستانه
خود افزودند.

سازمان اطلاعات آرزو علی بیگ
مجلس شورای ملی

به : استاد آزاده و فروتن

جناب آقای دکتر حسین
گودرزی ، که با تواضع خاص و
دانش‌مندانه خودشان گرمی
بخش محفل دانش پژوهان
بوده و الگوی معرفت و اخلاق
میباشند .

باتشکر و قدردانی از:

۱- اساتید محترم و گرانقدر بخش میکروبیشناسی دانشکده پزشکی که بنحوی از راهنمائیهای ارزنده و مفیدشان بهره‌مند شدم.

۲- اساتید محترم سازمان انتقال خون بخصوص سرکار خانم دکتر شهین شریفی - سرکار خانم دکتر زهره عطارچی - جناب آقای دکتر حسین تیموری و جناب آقای دکتر شهابی که در ایجاد تسهیلات و راهنمائیهای لازم به اینجانب منت نهادند.

۳- دوستان ارجمند و همکاران گرامی سرکار خانم حاکمی‌والا - جناب آقای رضا رنجبر - جناب آقای فرشید صادقی گرمارودی که صبورانه در طول این مقطع اینجانب را همراهی نمودند.

۴- سرکار خانم بروجردی مسئول محترم دفتر مدیر گروه میکروبیشناسی دانشگاه که با تهیه و تنظیم و ارسال بموقع مدارک لازم و ریز نمرات موجبات تسریع جریانات اداری را فراهم آوردند.

۵- سروران گرامی و زحمتکش آقایان مهدیزاده، نوری، کرمعلی و رحیمی متصدیان تدارکات و خدمات بخش میکروبیشناسی دانشگاه که علاوه بر قبول زحمت در تمام مراحل، بخصوص در روز دفاع از پایان‌نامه اینجانب را قرین محبت فرمودند.

۶- همکاران ارجمند جناب آقای اسفندیار سنگری سرپرست محترم رایانه پایگاه انتقالخون تهران و جناب آقای فتح‌ا... دروازه‌بان که در تهیه نمودار و تایپ پایان‌نامه مساعدت لازم را مبذول فرمودند.

۱	مقدمه و بیان مسئله
فصل ۱		
۳	۱-۱ کلیات - تاریخچه HCV
۴	- اپیدمیولوژی و راههای انتقال
۷	- ساختمان ویروس هپاتیت C
۸	۱-۲ سیر بالینی و پاتوژنز
۱۰	۱-۳ یافته‌های آزمایشگاهی
۱۱	۱-۴ کارسینومای هپاتوسلولار
۱۳	۱-۵ هپاتیت C مزمن
۱۵	۱-۶ هپاتیت C مزمن و اتوایمونیتی
۱۷	۱-۷ تشخیص آزمایشگاهی
۱۹	۱-۸ واکسیناسیون و پیشگیری
۲۰	۱-۹ درمان
۲۲	* معرفی سایر عوامل هپاتیت ویروسی
۲۲	۱- HBV
۲۵	۲- HDV
۲۶	۳- هپاتیت E
۲۶	۴- هپاتیت A
۲۸	** معرفی ویروسهایی که احتمال انتقال آنها از طریق ترانسفوزیون وجود دارد
۲۸	۱- HIV
۳۲	۲- HTLV _۱
۳۲	۳- CMV
۳۳	۴- E.B.V
۳۳	۵- پارو و ویروس یا اریترو ویروس

کتابخانه تخصصی پزشکی
تهران

۱۱/۱۱/۱۳۸۵

۲۹۲۸۵

۳۵	*** ناقلین بدون علامت HBV و HCV:.....
۳۶	*** مروری بر مقالات و اطلاعات موجود.....
۵۸	**** اهداف و فرضیات.....
۵۸	-هدف کلی.....
۵۸	-اهداف اختصاصی.....
۵۸	-متغیرهای تحقیق.....

فصل ۲

۵۹	-روش تحقیق و نمونه برداری.....
۶۰	-تکنیک و روش انجام آزمایشات.....
۶۰	-الیزا ELISA.....
۶۱	-Western blot.....
۶۳	-ارزیابی روشهای انجام آزمایش.....
۶۴	-مسائل اخلاقی.....

فصل ۳

۶۵	-یافتهها.....
----	---------------

فصل ۴

۷۳	-بحث و نتیجه گیری.....
۷۳	-نتیجه کلی.....
۷۳	-محدودیتها.....
۷۴	پیشنهادات.....
۷۵	خلاصه فارسی.....
۷۶	خلاصه انگلیسی.....

مقدمه و بیان مسئله

جامعه بشری با پیشرفت علوم و تکنولوژی جهت رفع معضلات و مشکلات اجتماعی و فردی و رسیدن به نتایج مثبت بخصوص در مسیر درمان بیماریها، با پدیده‌ای جدیدتر مواجه می‌گردد از جمله در راستای ترانسفوزیون خون و فرآورده‌های خونی و تحقیق و تفحص در جهت غربالگری خون از عوامل بیماریزا و عفونی، محققین و دانش‌پژوهان زمانی مواجه با عوامل هپاتیت B و D شدند سپس عواملی دیگر که آنها عامل هپاتیت NonA - NonB نامیدند شناخته شدند و تحقیقات بعدی این گروه اخیر را هپاتیت C معرفی نمود و پی‌گیریهای بعدی در زمینه ویروس عامل هپاتیت C نشان داد که این ویروس یکی از عوامل شایع در انتقال خون و فرآورده‌های خونی از جمله فاکتورهای انعقادی می‌باشد امروزه یافتن اهداکننده سالم خون و نیز روشهای حساستر غربالگری و تهیه خون و فرآورده خونی سالم بخش مهمی از برنامه‌های سازمان بهداشت جهانی (WHO) را تشکیل می‌دهد. در دنیای مکانیزه امروزی روزبروز به تعداد و تعدد حوادث افزوده شده و رفته رفته نیازهایی از قبیل احتیاج به ترانسفوزیون و فرآورده‌های حاصل از خون که فقط از طریق اهدا کنندگان تأمین می‌شود، افزایش می‌یابد از طرفی تا به امروز علیرغم غربالگری خون ویروس هپاتیت C بعنوان یک عامل مهم در ایجاد هپاتیت متعاقب ترانسفوزیون شناسایی و معرفی شده است و از طرف دیگر همواره تعدادی از افراد هر جامعه‌ای به صورت طولانی مدت و مستمر تا آخر عمر مجبور به دریافت خون و

فرآورده‌های خونی هستند از جمله مبتلایان به تالاسمی، هموفیلی، لوسمی، دیالیزیها، اشخاص آنمیک از قبیل آنمی آپلاستیک، سندرم فانکونی و ...

همچنین در کشورهایی مثل ایران که مردم به دلیل اعتقادات عمیق مذهبی و انسان دوستی تمایل زیادی جهت اهداء خون دارند که با این اوصاف اگر تحقیقاتی در زمینه شیوع HCV در میان اهداکنندگان صورت گیرد اولاً: افراد آلوده در زمان کوتاهی شناسایی خواهند شد. ثانیاً: از نظر اقتصادی کشور ما از لحاظ تهیه و توزیع فاکتورهای سالم خونی حتی در سطح دنیا اعتبار خواهد یافت. ثالثاً: توجه به HCV در کشور ما شاید زمینه‌ای جهت تحقیقاتی دیگر و مهمتر در ارتباط با این ویروس در آینده باشد. رابعاً: تشخیص به موقع آلودگی سبب خارج شدن فرآورده آلوده از رده مصرف شده و هزینه‌گزافی هم صرف پالایش آن نخواهد شد.

فصل اول

الف - کلیات

HCV ۱-۱

تاریخچه:

علیرغم روشهای حساس غربالگری خون از ویروس هپاتیت B در اواخر سال ۱۹۷۰ میلادی انتظار می‌رفت که دیگر هپاتیت ناشی از انتقال خون باید کاملاً حذف شده باشد ولی مواردی مشاهده شده بودند که از نظر سرولوژیک هپاتیت B را رد می‌کرد که این عامل بیشتر در بیمارانی که نیاز به فاکتورهای انعقادی کنسانتره داشته‌اند شیوع بیشتری داشت ولی آنهایی که فرآورده‌هایی نظیر آلبومین یا ایمونوگلوبولین دریافت می‌کرده‌اند چون این فرآورده‌ها قبلاً تحت تأثیر حرارت 60°C یا اتانل سرد قرار گرفته بودند مبتلا به هپاتیت نمی‌شدند این نوع هپاتیت را NonA - NonB نامگذاری کردند.

در اوایل دهه هشتاد دانشمندی بنام Bradley با همکاریانش نشان دادند که تزریق فاکتور ۸ انعقادی آلوده به شمپانزه که در افراد هموفیلی ایجاد هپاتیت NANB کرده بود می‌تواند هپاتیت را به شمپانزه منتقل نماید و این حیوان می‌تواند بعنوان منبع خوبی از ویروس هپاتیت NANB تلقی گردد که می‌توان ویریون‌های حاصل را با اولتراسانتریفوژ پلاسما رسوب داد و بالاخره اینکه عامل هپاتیت NANB را مشخص کردند که 40 - 50 nm قطر داشته و دارای چگالی $1/1\text{g/cm}^3$ و حساس به کلروفرم می‌باشد و پیشنهاد شد عامل هپاتیت NANB یک ویروس انولوپدار است. با توجه به اینکه آزمایش سرولوژیکی قابل قبولی برای کشف هپاتیت

NonB - NonA وجود نداشت تشخیص آلودگی فقط بارد HBV و HAV و بررسی تغییرات دوره‌ای ALT (SGPT) که اغلب در هپاتیت NANB دیده می‌شود، صورت می‌گرفت، تا اینکه در سال ۱۹۸۹ یک نفر مولکولار بیولوژیست آمریکایی بنام Tous-deforce موفق به کشف ویروس HCV گردید هرچند که ویروس قابل کشت نمی‌باشد ولی به علت اینکه سکانس ژنوم ویروس شباهت زیادی به اعضاء خانواده فلاوی ویروس داشت، در این گروه قرار داده شد. امروز اهمیت ویروس هپاتیت C کمتر از هپاتیت B و A نمی‌باشد زیرا یکی از عوامل شایع و مهم هپاتیت پس از انتقال خون می‌باشد.

اپیدمیولوژی و انتقال:

هپاتیت C علاوه بر آنکه از راه انتقال خون سرایت می‌کند، از طریق تزریق داروهای وریدی به خود نظیر معتادین تزریقی و نیز در مشاغلی که با خون سر و کار دارند منتقل می‌شود. احتمال عفونت در واحدهای همودیالیز نیز زیاد می‌باشد. به واسطه آزمایش خون اهداء کنندگان شمار موارد هپاتیت C کاهش یافته ولی میزان کلی به دلیل افزایش راههای دیگر انتقال به ویژه تزریق داروهای وریدی هنوز کاهش نیافته است، نشانه‌های سرولوژیک HCV در بیش از ۹۰٪ از موارد هپاتیت غیر A و غیر B در اثر انتقال خون سرایت می‌کند. اکثر اهداءکنندگانی که آنتی بادی ضد HCV دارند به گروههای پرخطر متعلق نیستند و چگونگی ابتلاء آنان روشن نشده است. شاید این عفونتها که منشاء ناشناخته دارند از راه جنسی و زایمان انتقال یافته باشند احتمال انتقال از راه جنسی و زایمان بخصوص اگر همراه با HIV باشد وجود دارد ولی کلاً

انتقال HCV از اين راهها بسيار كم مي باشد. انتشار بيماري در بين افراد خانواده نيز نادر است. بررسيهاي انجام شده نشان مي دهد كه ۴۰٪ از افراد مبتلا به HCV عامل مساعداً شناخته شدهاي جهت ابتلا ندارند.

خطر آلودگي به HCV در ميان گيرندگان پيوند اعضا و مبتلايان به عفونت HIV بيشتر است در همه بيماراني كه ايمني آنها تضعيف شده ممكن است آنتي بادي ضد HCV قابل شناسايي نباشد در اين صورت جهت تشخيص مي توان از RNA ويروس استفاده كرد. HCV در ۲۰٪ گيرندگان پيوند كليه بروز مي كند و ميزان مرگ و مير در اين بيماران دچار هپاتيت در سالهاي اوليه پس از پيوند بيشتر است البته اين بيشتر بودن به دليل نارسايي كبد نيست بلكه به دليل عفونت شديد خارج از كبد و مجاري صفراوي است اين علت را اثر ويروس HCV بر روي سيستم ايمني ميزبان مي دانند.

امروزه در بسياري از كشورهاي پيشرفته هپاتيت A و B و C تقريباً به طور مساوي اتفاق مي افتد. علائم در هپاتيت C حاد، مشابه هپاتيت A و B حاد است ولي تفاوتهايي به شرح ذيل دارد:

- ۱- HCV زمان انكوباسيون طولاني تري دارد كه حدود ۸-۶ هفته است.
- ۲- ۷۵٪ عفونتها فاقد علائم باليني بوده و خطرش كمتر از HBV مي باشد.
- ۳- دوره Pre icteric دارد كه فاقد يرقان يا يرقان خفيف است.
- ۴- HCV تمايل بيشتري به مزمن شدن نسبت به HBV دارد.

انتقال HCV:

HCV - RNA به آسانی در سرم افراد آلوده قابل مشاهده است ولی در مایعات دیگر بدن نیز با غلظت اندک و گاهی همراه با HBV دیده می شود در سایر مایعات مثل بزاق - اسپرم - مدفوع - ادرار و ترشحات واژن به مقدار کم و غیر قابل اندازه گیری وجود دارد. HCV از طریق حجم بالای خالکوبی هم با آسانی منتقل می شود ولی راه معمول سرایت، ترانسفوزیون است برخلاف HBV بندرت از طریق زایمان و تماس جنسی قابل انتقال می باشد از نظر بهداشتی نیز کارکنان دندانپزشکی 10 - 4% بخاطر Needle Stick در معرض خطر هستند و نیز افرادی که از داروهای تزریقی داخل وریدی تجارتي و تیز فاکتورهای کنسانتره انعقادی استفاده می کنند در معرض آلودگی قرار دارند. گیرندگان پیوند اعضاء از دهندگان HCV+ نیز خطر آلودگی قطعی دارند در ایالات متحده آمریکا از بین اهداء کنندگان خون 0/5% آلوده به HCV هستند.

HCV اصلی ترین علت هپاتیت بعد از ترانسفوزیون است که در دو دهه اخیر با تدابیری از قبیل حذف اهداءکنندگان حرفه ای، بررسی خون از نظر HBSAg و بررسی از نظر Anti - HCV بطور قابل ملاحظه ای کاهش یافته است بطوریکه مبتلایان به هپاتیت NANB متعاقب ترانسفوزیون طبق نتایج حاصل از مطالعات انجام یافته در سال ۱۹۸۱ ۱۰ الی ۱۳-۳/۸% در سال ۱۹۸۵ - ۱/۵% از سال ۹۰-۱۹۸۶ و ۵۷/۰% در سال ۹۲ یعنی از هر ۱۰۰۰۰ واحد خون تزریقی، سه واحد آلوده بوده است بنابراین در سایه پیشرفت بهداشت و رعایت اصول فنی در ترانسفوزیون و نیز پیدایش و بکارگیری تکنیکهای دقیق تشخیص HCV، روز بروز از میزان

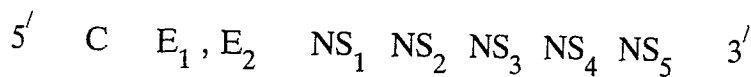
شیوع آن کاسته می شود. در بعضی گزارشات حتی استعمال کوکائین از طریق بینی در معتادین به این دارو بعنوان یک راه انتقال HCV گزارش شده است.

انتقال HCV از طریق استعمال کوکائین از راه بینی اهمیت خاصی دارد و به نظر می رسد آلودگی دارو با خون آلوده و استنشاق آن و تماس ویروس با مخاط بینی زخمی راه بسیار خوبی برای انتقال HCV باشد که نیاز به مطالعات آینده نگر می باشد.

ساختمان ویروس هیپاتیت C:

علیرغم روشهای دقیق و حساس جهت تشخیص قطعی هیپاتیت B و A نمونه هایی از هیپاتیت با عواملی غیر از A و B مشاهده می شدند که اینها را NonA - NonB نامگذاری کردند یکی از عوامل هیپاتیت NANB ویروس هیپاتیت C می باشد که البته انواع دیگری هیپاتیت با علت غیر از E و A و B وجود دارد که تا بحال هویت دقیق آنها مشخص نشده است. ویروس HCV بر اثر تلاشها و نوآوریهای متخصصین بیولوژی مولکولی تعیین هویت و شناسایی شد. در بدو کار این ویروس در سرم شمپانزه با تیتربالایی مشخص گردید و معلوم شد این ویروس جزو یکی از ویروسهای NANB می باشد که موجب هیپاتیت بعد از ترانسفوزیون می گردد. ژنوم ویروس از سرم شمپانزه استخراج و سکانس آن تعیین شد و در *In Vitro* با یک آنتی ژن پلی پپتیدی توسط آنتی بادیهای بیماران مبتلا به هیپاتیت NANB که در آنها ترانسفوزیون صورت گرفته بود، بطور واضح مورد شناسایی قرار گرفت. در اثر این اقدامات اپی توپ C₁₀₀₋₃ مشخص و نقطه ای جهت سنجش عیار آنتی بادی ویروسی ضد این اپی توپ و شناسایی خود ویروس مورد استفاده قرار

گرفت. HCV دارای یک رشته RNA می باشد که ژنوم آن شباهت زیادی به فلاوی ویروسها و پستی ویروسها دارد ژنوم RNA این ویروس حدود ۹/۵Kb طول دارد که پلاریته آن مثبت است و یک پلی پروتئین طویل ۳۰۰۰ آمینو اسیدی را کد می کند. پروتئینهای ساختمانی که شامل کپسید و انولوپ هستند در انتهای $5'/4$ ژنوم قرار دارند و بقیه ژنوم را پروتئینهای غیر ساختمانی شامل هلیکاز - پروتئاز و RNA پلیمرز وابسته به RNA اشتغال کرده اند سکانس ژنی طبق شکل بترتیب زیر می باشد:



پروتئین ساختمانی C بسیار مهم بوده و احتمالاً Core ویرونی را می سازد. E_1, E_2 گلیکوپروتئین بوده که احتمالاً شبیه پروتئینهای غشایی جنس Pestivirus ها می باشند هرچند که احتمال دارد E_2 معادل پروتئینهای غیر ساختمانی NS_1 از جنس فلاوی ویروسها باشد لذا از این جهت ممکن است با یکدیگر اشتباه شوند. پروتئین NS_3 فعالیت سرین پروتئازی در N-ترمینال داشته و فعالیت هلیکازی در C-ترمینال دارد، از طرفی NS_5 فعالیت RNA پلیمرزی وابسته به RNA دارد. NS_4 و NS_2 ممکن است با پروتئینهای اتصالی غشایی مورد نیاز برای سایر فلاوی ویروسها به هنگام همانند سازی وابسته به غشاء شبیه باشند.

۱-۲ سیر بالینی و پاتوژنز:

پس از آلودگی دوره کمون ۸-۶ هفته طول می کشد ۷۵٪ عفونت با هپاتیت C فاقد علائم

بالینی می باشد در بقیه موارد دومین علامت خستگی و افزایش دوره‌ای ترانس آمینازها بخصوص ALT یا SGPT و سپس سایر عوامل بالینی بخصوص در بیمارانی که مدت زیادی گرفتار HCV هستند ظاهر می گردد یافته جالبی که در مبتلایان به HCV مزمن دیده می شود گاهی سبب گیجی و سردرگمی در تشخیص می گردد حضور اتو آنتی بادیها است بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن فعال اتوایمون و هیپرگلوبولینمی با تست EIA بندرت پاسخ کاذب می دهند و آنتی HCV در این گونه افراد قطعاً مثبت واقعی است.

از طرف دیگر گروهی از بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن C دارای اتو آنتی بادی بر علیه میکروزومهای کبد و کلیه در گردش خونشان هستند. پیدایش این آنتی بادیها در بعضی بیماران مبتلا به HCV این فرضیه را ایجاد می کند که اختلالات خودایمنی ممکن است در پاتورن هپاتیت مزمن C نقش داشته باشد. دامنه مرگ و میر ناشی از HCV به ۱٪ و یا کمتر می رسد بنابراین HCV تمایل بیشتری به بیماری مزمن کبد در مقایسه با HBV دارد. حداقل ۵۰٪ از بیماران مبتلا به HCV به طور مداوم و یا متناوب ویرمیک بوده که بطور متوسط سطح ALT سرم برای حداقل یک یا دو سال و حتی بیشتر بالا می ماند اکثر این افراد حاملین بدون علامت یا بصورت عفونت خفیف و خودمهارشونده هستند HCV اکثراً در بیمارانی تشخیص داده میشود که سابقه ابتلاء به هپاتیت C حاد را ندارند بیشتر این افراد هنگامیکه جهت اهداء خون مراجعه می نمایند تشخیص داده می شوند منبع عفونت اکثراً مبهم می باشد در بیماران بدون علامت که دارای آنتی بادی ضد HCV هستند حتی وقتی ترانس آمینازهای سرم طبیعی باشند در بیوپسی ملاحظه می شود که

هپاتیت مزمن در ثلث و یا نیمی از این افراد وجود دارد علیرغم این واقعیت که هپاتیت C مزمن در مرحله آخر می‌تواند منجر به نارسایی کبد شود، عاقبت اکثر مبتلایان به HCV نسبتاً بد نیست اکثر بیماران تا آخر عمر بدون علامت و بدون عارضه بیماری کبدی مزمن به زندگی ادامه می‌دهند.

از این رو بطور کلی پیشرفت HCV بسیار کند است ولی از طرف دیگر مبتلایان به HCV اگر همراه با بیماریهای دیگری نظیر الکسیم کبدی و یا هپاتیت B مزمن و یا کمبود α_1 آنتی‌تریپسین باشند شتاب پیشرفت بیماری بیشتر است. میزان افزایش ترانس آمینازها، وجود و یا فقدان یرقان تأثیری بر عاقبت بیماری ندارد. برغم خوش خیمی نسبی، با گذشت زمان بدنبال هپاتیت مزمن، در ۲۰٪ مبتلایان سیروز بروز می‌کند و با گذشت چند دهه کار سینومای هپاتوسلولار ظاهر می‌گردد.

یک مطالعه در آمریکا نشان می‌دهد که در کشورهای که مصرف الکل در آنها زیاد است HCV نقش مهمی در ایجاد سیروز دارد. از مکانیزم پاتوژنز HCV اطلاعات کمی در دسترس می‌باشد ولی آسیب رسیده به کبد احتمالاً یا سیتوپاتیک بوده و یا با واسطه ایمنی و یا هر دو.

۳-۱ یافته‌های آزمایشگاهی:

غالباً فعالیت ترانس آمینازها بخصوص ALT بالاتر از حد نرمال می‌باشد ولی این افزایش فعالیت ترانس آمینازها یک حالت دوره‌ای مشخصی دارد و میزان آنها بویژه در بیماریهای