Sci J Iran Blood Transfus Organ 2024; 21 (2): 138-150

Original Article

Molecular detection of HTLV-1 provirus from DNA released from cells in plasma, in cases of lack of access to genomic DNA of peripheral blood mononuclear cells

Masoudi M.[1], Sharifi Z.[1], Maghsudlu M.[1]

[1]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Human lymphotropic virus type I mainly infects lymphocytes. For the detection of this virus, mainly nucleated cells are evaluated. Due to the short longevity of cells, sample collection is a challenge. The purpose of the study was to investigate the presence of HTLV-1 virus in genomic DNA released from cells in plasma and to determine its viral load in Western blot-positive blood donors.

Materials and Methods

In this descriptive study, 30 HTLV-1 positive Western blot donors were evaluated. Using an extraction kit, genomic DNA was extracted from plasma and isolated PBMC using Ficol. A nested PCR test was used to confirm the presence of HTLV-1 virus. A real-time PCR quantitative test by Sybergreen method was used to determine the amount of virus load.

Results

The average age of subjects was 42.9 ± 13.5 years; 93.3% of them were male and 6.6% female. LTR gene region was detected by nested PCR method in 80% of plasma and 100% of PBMC samples. The median viral loads in plasma and PBMC were 1.90 Copies/µL and 20 copies/10^6 PBMC, respectively.

Conclusions

To detect the HTLV-1 virus by molecular method, the HTLV-1 provirus DNA released from cells, in the plasma can be used when peripheral blood mononuclear cells are unavailable. It has also been observed that the virus load in the plasma of asymptomatic carriers is approximately 10 times lower than in PBMC.

Key words: HTLV-1, Cell-Free Nucleic Acids, qPCR

Received: 2 Mar 2024
Accepted: 13 May 2024

Correspondence: Sharifi Z., PhD of Virology. Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82052152; Fax: (+9821) 88601555
E-mail: *sharifiz@yahoo.com*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۲۱ شماره ۲ تابستان ۱۴۰۳ (۱۵۰-۱۳۸)

مقاله پژوهشی

تشخیص مولکولی پرووِیروس HTLV-1 از DNA آزاد شده از سلول‌ها در پلاسما، در موارد عدم دسترسی به DNA ژنومی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی

منیره مسعودی[۱]، زهره شریفی[۲]، مهتاب مقصودلو[۳]

چکیده

سابقه و هدف

ویروس لنفوتروپیک تیپ I انسانی، عمدتاً لنفوسیت‌ها را آلوده می‌کند. برای *تشخیص آیـن ویـروس* ، عمـدتاً سلول‌های هسته دار مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. با توجه به طول عمر کوتاه سلول ها، جمع‌آوری نمونـه یـک چالش به حساب می‌آید. هدف از این مطالعه، بررسی حضور ویروس HTLV-1 در DNA ژنومی آزاد شـده از سلول ها در پلاسما و تعیین بار ویروسی آن در اهداکنندگان خون وسترن بلات مثبت بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، ۳۰ اهداکننده ناقل ویروس HTLV-1 وسترن بلات مثبت بررسی شدند. با استفاده از کیت استخراج، DNA ژنومی از پلاسما، و PBMC جداسازی شده با فایکول، استخراج گردید. حضور ویروس HTLV-1 با آزمایش مولکولی Nested PCR تایید و جهت تعیین بار ویروس از آزمایش کمی Real-Time Sybergreen PCR استفاده گردید.

یافته‌ها

میانگین سنی افراد برابر با ۱۳/۵ ± ۴۲/۹ سال بود. ۹۳/۳٪ از افراد مذکر و ۶/۶٪ مؤنث بودند. ناحیه ژنی LTR به روش Nested PCR در ۸۰٪ از نمونه‌های پلاسما و ۱۰۰٪ نمونه‌های PBMC شناسایی گردید. میانه لود ویروس در پلاسما برابر با ۱/۹۰ Copies/µL و میانه لود ویروس در PBMC برابر با ۲۰ Copies /۱۰^۶ PBMC بود.

نتیجه گیری

جهت تشخیص مولکولی ویروس HTLV-1 ، می‌توان پرووِیروس HTLV-1 را در DNA آزاد شده از سلول‌ها در پلاسما، در مواردی که سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در دسترس نمی‌باشد، مورد استفاده قرار داد. هم‌چنین دیده شد که میزان بار ویروس در پلاسمای ناقلین بدون علامت نسبت به PBMC حدود ۱۰ برابر کمتر می‌باشد.

کلمات کلیدی: **ویروس لنفوتروپیک انسانی تیپ I ، اسید نوکلئیک آزاد شده از سلول، PCR کمی**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد خون‌شناسی و بانک خون ـ مرکز تحقیقات انتقال خون- مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون- تهران- ایران
۱- مؤلف مسئول: PhD ویروس‌شناسی ـ استاد مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
۳- متخصص پزشکی اجتماعی ـ استاد مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

مقدمه

ویروس لنفوتروپیک تیپ یک انسانی (HTLV-1) ، رتروویروس اگزوژن می‌باشد (۱). این ویروس عضو خانواده رتروویریده و جنس دلتا ویروس است (۳، ۲). رتروویروس‌ها RNA ویروس‌هایی هستند که فرم cDNA آن‌ها به داخل ژنوم سلول میزبان اینتگره می‌شود (۴). تعداد افراد مبتلا به ویروس HTLV-1 در سراسر جهان حدود ۲۰-۱ میلیون نفر تخمین زده شده است که ۱۰-۵ میلیون نفر در مناطق اندمیک زندگی می‌کنند (۷-۵، ۳، ۱). شیوع این ویروس در مناطق اندمیک مانند ژاپن، جنوب صحرای آفریقا، منطقه کارائیب و جنوب آمریکا زیاد می‌باشد. هم‌چنین این ویروس به میزان کمتر در رومانی، ملانزی- استرالیا و ایران حضور دارد (۳). در حال حاضر در ایران غربالگری ویروس HTLV-1 در اهداکنندگان خون، عمدتاً در ۷ استان خراسان رضوی، خراسان شمالی، خراسان جنوبی، گلستان، البرز، اردبیل و آذربایجان شرقی انجام می‌شود (۸).

این ویروس از سه طریق مادر به فرزند، تماس جنسی و به واسطه پزشکی از فرد به فرد دیگر منتقل می‌شود، که خطر انتقال ویروس از راه تزریق خون را می‌توان با فیلتر کردن خون و فرآیند کاهش لکوسیت قبل از تزریق خون کاهش داد (۹، ۵، ۳). احتمال تغییرات سرمی (Seroconversion) ویروس HTLV-1 از طریق تزریق خون حدود ۶۰٪-۴۰٪ گزارش شده است. بنابراین خطر انتقال ویروس از راه تزریق خون در مناطقی با شیوع بالای ویروس حائز اهمیت باشد (۱۰).

ویروس HTLV-1 عمدتاً سلول‌های لنفوسیت $TCD4^+$، که در ایجاد پاسخ‌های ایمنی دخیل هستند، را درگیر می‌کند (۱۱). گسترش این ویروس عمدتاً از طریق تکثیر سلول‌های آلوده از راه تماس سلول به سلول می‌باشد (۱۲). در شرایط آزمایشگاهی مشاهده شده است که ویروس HTLV-1 ویریون‌های آزاد کمی تولید می‌کند و بیشتر به صورت اینتگره درون ژنوم سلول میزبان می‌باشد (۱۳). در مطالعه‌های اخیر ذکر شده است که ژنوم ویروس HTLV-1 به واسطه حضور DNA آزاد شده از سلول‌ها در مایعات بیولوژیک بدن (cfDNA)، قابل شناسایی است.

cfDNA شامل قطعات اسیدنوکلئیک تک‌رشته‌ای و دو رشته‌ای خارج سلولی می‌باشد که عمدتاً ناشی از نکروز و آپوپتوز سلولی است. اخیراً دیده شده است که انتشار cfDNA از طریق میکروویزیکول‌هایی مانند اگزوزوم نیز امکان‌پذیر می‌باشد. cfDNA در پلاسما و مایعات بیولوژیک مانند CSF قابل شناسایی هستند. اسیدهای نوکلئیک درون زاد به طور دائم در جریان خون حضور دارند و مقدار آن در شرایط پاتولوژیک تغییر می‌کند. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که می‌توان از cfDNA به عنوان یک نشانگر زیستی برای تشخیص، تعیین اثر درمان و پیش‌آگهی بیماری‌ها استفاده کرد (۱۷-۱۴).

در پژوهش‌های مولکولی ویروس HTLV-1 ، عمدتاً ژنوم سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی و بافی‌کوت مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. از آن جایی که طول عمر سلول‌های هدف چند روز می‌باشد و این امکان وجود دارد که در روند جمع‌آوری و انتقال نمونه، سلول‌های هسته‌دار از بین بروند، جمع‌آوری نمونه در مطالعه‌های مولکولی HTLV-1 یک چالش به حساب می‌آید. بنابراین اگر امکان تشخیص ژنوم ویروس HTLV-1 در نمونه‌های سرم و پلاسما، که شرایط نگهداری طولانی مدت دارند، وجود داشته باشد، تا حدودی می‌توان این چالش را برطرف نمود. هدف از این مطالعه، بررسی حضور ویروس HTLV-1 در DNA آزاد شده از سلول در پلاسما و تعیین بار ویروسی آن در مقایسه با سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC) در اهداکنندگان خون وسترن بلات مثبت بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع توصیفی بود و جامعه مورد مطالعه شامل ۳۰ اهداکننده خون ایرانی بودند که به مراکز انتقال خون کشور، به منظور غربالگری ویروس HTLV-1 مراجعه داشتند. معیار ورود افراد به این مطالعه حضور آنتی بادی علیه ویروس HTLV-1/2 (نتیجه Reactive آزمایش غربالگری CLEIA) و نتیجه مثبت آزمایش تائیدی وسترن بلات و عدم حضور ویروس‌های منتقله از راه خون مانندHIV ، HCV و HBV تعیین شد.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

جمع‌آوری نمونه:

در این مطالعه از نمونه‌های خون کامل استفاده شد. پس از جمع‌آوری، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور RPM ۳۰۰۰ سانتریفوژ شدند. لایه پلاسما جدا گردیده و در فریزر ۳۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور جداسازی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی از فایکول (ایران، mBio) و سانتریفیوژ شیب غلظت استفاده شد. با کمک لام نئوبار تعداد سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی شمارش گردید. جهت استخراج DNA ژنومی تعداد یک میلیون PBMC در حجم µL ۲۰۰ تهیه شد. به منظور استخراج DNA آزاد شده از سلول در پلاسما، از µL ۲۰۰ پلاسما استفاده گردید. DNA پرووویروس توسط کیت استخراج اسیدهای نوکلئیک ویروسی ساخت شرکت دینابایو ایران با شماره کالانما K۱۰۰۲۵ طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید. غلظت و خلوص DNA استخراج شده با کمک دستگاه نانودراپ (آمریکا، دنوویکس) مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه DNA استخراج شده از پلاسما و PBMC تا زمان آزمایش در فریزر ۳۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. مابقی جهت نگهداری طولانی مدت در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تائید حضور ویروس به روش Nested PCR:

به منظور تائید حضور ویروس در نمونه‌های مورد استفاده، از آزمایش Nested PCR استفاده گردید. واکنش Nested PCR به منظور تکثیر ناحیه ژنی LTR، بر روی DNA استخراج شده از پلاسما (cfDNA) و DNA ژنومی انجام شد. توالی آغازگر پیشبرنده بیرونی ناحیه ژنی LTR، 5’ ACC ATG AGC CCC AAA TAT CCC C 3’ و توالی آغازگر معکوس بیرونی ناحیه ژنی LTR، 5’ TCG TAT CCC GGA CGA GCC CCC AA 3’ بود. توالی آغازگر پیشبرنده درونی ناحیه ژنی LTR، 5’ AGA CTA AGG CTC TGA CG TCT CCC 3’ و توالی آغازگر معکوس درونی ناحیه ژنی LTR، 5’ AAT TTC TCT CCT GAG AGT GCT ATA G 3’ بود (۱۸).

جدول ۱: توالی آغازگرهای Outer و Inner ژن *LTR*

نام آغازگر	توالی آغازگر 5’-3’
آغازگر جلوبرنده بیرونی LTR	ACCATGAGCCCCAAATATCCCC
آغازگر معکوس بیرونی LTR	TCGTATCCCGGACGAGCCCCCAA
آغازگر جلوبرنده درونی LTR	AGACTAAGGCTCTGACGTCTCCC
آغازگر معکوس درونی LTR	AATTTCTCTCCTGAGAGTGCTATAG

به جهت انجام واکنش Nested PCR، µL ۱۰ از (آلمان، آمپلیکون) Master Mix ۲X، µL ۰/۵ از آغازگرهای درونی و بیرونی (µL ۱۰)، µL ۴ از آب مقطر استریل و (ng ۱۰۰- ۵۰) µL ۵ از DNA استخراج شده از پلاسما و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی استفاده شد. حجم نهایی PCR، µL ۲۰ تعیین شد. برنامه دمایی و زمانی واکنش Nested PCR در جدول آورده شده است (جداول ۱ و ۲). پس از اتمام واکنش، محصول مرحله دوم Nested PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ و رنگ DNA Green viewer در مقابل نشانگر وزن مولکولی bp ۱۰۰ الکتروفورز انجام شد. سپس با دستگاه ژل داک (ایران، ATP) در مقابل نور فرا بنفش آشکارسازی گردید.

اندازه‌گیری بار ویروس HTLV-1 به روش Quantitative Real-Time PCR:

به منظور اندازه‌گیری میزان بار ویروس HTLV-1 از آزمایشQuantitative Real-Time PCR به روش سایبرگرین و ژن هدف *Tax* استفاده گردید. توالی آغازگر پیشبرنده ژن *Tax*، 5’ CCC ACA ATC CAA CCA GCT CAG 3’ و توالی آغازگر معکوس 5’ GTG GTG AAG CTG CCA TCG GGT TTT 3’ بود (۱۹).

به جهت طبیعی کردن نتایج و کنترل داخلی، آزمایش PCR از ژن *ERV3* استفاده شد. در سلول‌های دیپلوئید

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

جدول ۲: برنامه دمایی و زمانی برای ژن *LTR*

مرحله	دما	زمان	چرخه
مرحله ۱ (با آغازگر بیرونی)			
واسرشت و فعال شدن آنزیم	۹۴ درجه سانتی‌گراد	۵ دقیقه	۱
واسرشت	۹۴ درجه سانتی‌گراد	۶۰ ثانیه	۳۵
اتصال	۶۰ درجه سانتی‌گراد	۷۵ ثانیه	
طویل‌سازی	۷۲ درجه سانتی‌گراد	۹۰ ثانیه	
طویل‌سازی نهایی	۷۲ درجه سانتی‌گراد	۱۰ دقیقه	۱
مرحله ۲ (با آغازگر درونی)			
واسرشت و فعال شدن آنزیم	۹۴ درجه سانتی‌گراد	۵ دقیقه	۱
واسرشت	۹۴ درجه سانتی‌گراد	۶۰ ثانیه	۲۰
اتصال	۶۰ درجه سانتی‌گراد	۷۵ ثانیه	
طویل‌سازی	۷۲ درجه سانتی‌گراد	۹۰ ثانیه	
طویل‌سازی نهایی	۷۲ درجه سانتی‌گراد	۱۰ دقیقه	۱

جدول ۳: توالی آغازگرهای ژن *Tax* و *ERV-3* روش Quantitative Real-Time PCR Sybergreen

نام توالی	توالی آغازگر و پروب ’3-’5
آغازگر جلوبرنده Tax	CCC ACA ATC CAA CCA GCT CAG
آغازگر معکوس Tax	GTG GTG AAG CTG CCA TCG GGT TTT
آغازگر جلوبرنده ERV3	CAT GGG AAG CAA GGG AAC TAA TG
آغازگر معکوس ERV3	CCC AGC GAC CAA TAC AGA ATT T

جدول ۴: برنامه دمایی و زمانی Quantitative Real-Time PCR به روش سایبرگرین

دما	زمان	چرخه
۹۵ درجه سانتی‌گراد	۱۵ دقیقه	۱
۹۵ درجه سانتی‌گراد	۳۰ ثانیه	۴۵
۵۸ درجه سانتی‌گراد	۳۰ ثانیه	
۷۲ درجه سانتی‌گراد	۴۵ ثانیه	
۹۵–۷۲ درجه سانتی‌گراد	Hold sec on the 1 st step, Hold 5 sec on nextstep	Melt

انسانی دو کپی از ژن *ERV3* حضور دارد. توالی آغازگر پیشبرنده ژن *ERV3*، 5’ CAT GGG AAG CAA GGG 3’ AAC TAA TG و توالی آغازگر معکوس 5’ CCC AGC GAC CAA TAC AGA ATT T 3’ می‌باشد (۲۰).

جهت انجام واکنش qPCR به روش سایبرگرین، µL ۷/۵ از (آلمان، آمپلیکون) Master Mix ۲X حاوی رنگ سایبرگرین، µL ۰/۵ آغازگرهای ذکر شده، µL ۴/۵ آب مقطر استریل و حجم (ng ۱۰۰–۵۰) µL ۲ ، DNA

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

استخراج شده (gDNA و cfDNA) استفاده گردید. حجم نهایی واکنش qPCR، ۱۵ µL تعیین شد. برنامه دمایی و زمانی مورد استفاده در جدول آورده شده است (جداول ۴-۲). جهت تعیین تعداد کپی ژن *Tax* ویروس، از پلاسمید حاوی ژن *Tax* ویروس HTLV-1 تحت عنوان نمونه استاندارد استفاده و منحنی استاندارد رسم گردید. مطابق فرمول $10^2 \times (\frac{HTLV-1\ DNA\ average\ copy\ number}{ERV3\ DNA\ average\ copy\ number/2})$ تعداد کپی ژن Tax ویروس HTLV-1 در میکرولیتر محاسبه گردید(۲۱).

آنالیز آماری:

جهت انجام تحلیل آماری این پژوهش از نرم افزار SPSS ورژن ۲۶ استفاده شد.

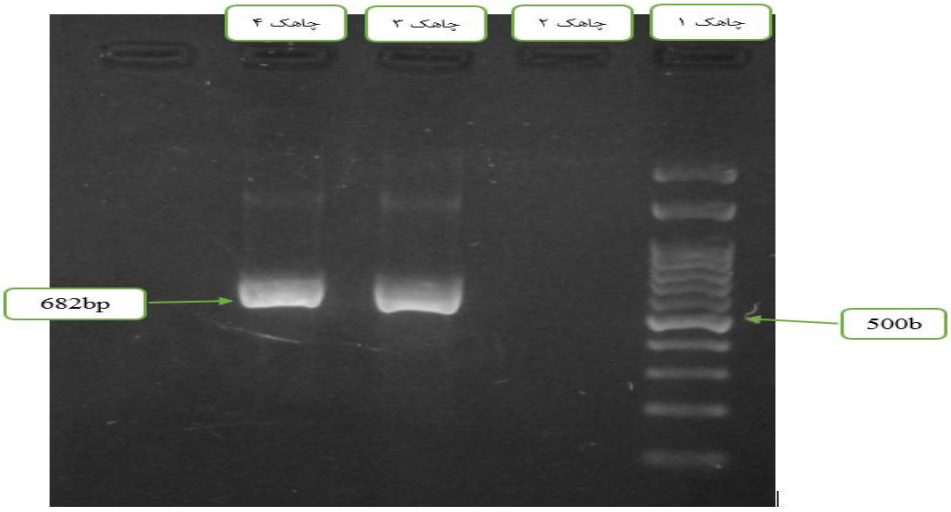
یافته‌ها

مطالعه حاضر بر روی ۳۰ اهداکننده خون ناقل ویروس HTLV-1 بدون علامت با نتیجه وسترن بلات مثبت انجام شد. ۹۳/۳٪ از افراد (۲۸ نفر) مذکر و ۶/۶٪ از افراد (۲ نفر) مؤنث بودند. میانگین سنی افراد مورد مطالعه برابر با ۱۳/۵ ± ۴۲/۹ سال بود. ۹۰٪ از افراد (۲۷ نفر) متأهل و ۱۰٪ از افراد (۳ نفر) مجرد بودند.

یافته‌های بالینی و بار ویروسی:

۳۰ نمونه خون کامل با نتیجه وسترن‌بلات مثبت HTLV-1 جمع‌آوری گردید. با روش Nested PCR ناحیه ژنی LTR با طول قطعه ۶۸۲ bp مورد ارزیابی قرار گرفت. این ناحیه ژنی تنها در ۸۰٪ موارد (۲۴ مورد) DNA آزاد شده از سلول در نمونه پلاسما شناسایی گردید. ناحیه ژنی LTR در ۱۰۰٪ موارد (۳۰ مورد) DNA ژنومی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی به روش Nested PCR شناسایی گردید (شکل ۱).

میزان بار ویروسی در این نمونه‌ها با Real Time PCR به روش سایبرگرین با ژن هدف *Tax* اندازه‌گیری شد. میزان لود ویروس پلاسما (cfDNA) دارای توزیع غیر طبیعی بوده و میانه لود ویروس برابر با ۱/۹۰ Copies/µL بود (p< ۰/۰۰۱). چارک اول بار ویروس برابر با ۰/۹۲ Copies/µL و چارک سوم برابر با ۴/۴ Copies/µL بود (IQR: ۳/۴۸ Copies/µL). کمترین و بیشترین میزان لود ویروس به ترتیب برابر با ۰/۱۲ Copies/µL و ۰/۴۱ Copies/µL تعیین شد. میزان لود ویروس سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (gDNA) دارای توزیع غیر طبیعی بوده و



شکل ۱: الکتروفورز محصول ناحیه ژنی LTR با طول قطعه ۶۸۲ bp به روش Nested PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪. چاهک ۱ نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰ bp، چاهک ۲ نمونه کنترل منفی، چاهک ۳ نمونه اهداکننده با نتیجه وسترن بلات مثبت و چاهک ۴ نمونه کنترل مثبت.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

جدول ۵: میزان لود ویروس HTLV-1 به روش Real Time PCR سایبرگرین در نمونه‌های DNA آزاد شده از سلول در پلاسما و DNA ژنومی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی

	میزان لود ویروس در DNA آزاد شده از سلول در پلاسما	میزان لود ویروس در DNA ژنومی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی
میانه	۱/۹۰ Copies/µL	۲۰ Copies/$۱۰^۶$ PBMC
چارک اول	۰/۹۲ Copies/µL	۹/۱۸ Copies/$۱۰^۶$ PBMC
چارک سوم	۴/۴ Copies/µL	۷۸/۵ Copies/$۱۰^۶$ PBMC
کمترین بار ویروس	۰/۱۲ Copies/µL	۶ Copies/$۱۰^۶$ PBMC
بیشترین بار ویروس	۴۱ Copies/µL	۲۷۸/۶ Copies/$۱۰^۶$ PBMC

میانه لود ویروس برابر با ۲۰ Copies/$۱۰^۶$ PBMC بود ($p< ۰/۰۰۱$). چارک اول بار ویروس برابر با ۹/۱۸ Copies/$۱۰^۶$ PBMC و چارک سوم برابر با ۷۸/۵ Copies/$۱۰^۶$ PBMC بود (۶۹/۳۲ Copies/$۱۰^۶$ PBMC :IQR). کمترین و بیشترین میزان لود ویروس به ترتیب برابر با ۶ Copies/$۱۰^۶$ PBMC و ۶/۷۸ Copies/$۱۰^۶$ PBMC تعیین شد (جدول ۵).

بحث

در این مطالعه میزان پرووایرال لود HTLV-1 در پلاسما و سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی اهداکنندگان خون با نتیجه وسترن بلات مثبت به روش qPCR اندازه‌گیری شد تا آشکار شود در مواردی که سرم یا پلاسما به جای استفاده از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی برای تشخیص ویروس به کار برده می‌شود، تا چه حد نتایج و لود ویروس با یکدیگر مشابهت دارد. در این مطالعه، میزان میانه بار ویروس در پلاسمای ناقلین بدون علامت ۱/۹۰Copies/µL بود و میانه لود ویروس در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی ناقلین بدون علامت برابر با ۲۰ Copies/$۱۰^۶$ PBMC بود که نشان می‌دهد میزان لود ویروس در پلاسمای ناقلین بدون علامت حدود ۱۰ برابر کمتر از بار ویروس در Genomic DNA است. نتایج حاصل از این پژوهش، با نتایج سایر مطالعه‌های انجام شده در دیگر کشورها در طی سال‌های اخیر مطابقت دارد و بیان‌کننده این موضوع می‌باشد که ژنوم ویروس HTLV-1 در مایعات بیولوژیک بدن مانند پلاسما قابل شناسایی می‌باشد. Cell-free DNA ، قطعات DNA هستند که برای اولین بار در سال ۱۹۴۸ در کمپلکس‌های ایمنی بیماران مبتلا به لوپوس اریتروماتوز در سیستم گردش خون توصیف شدند (۲۲). اهمیت بالینی cfDNA زمانی مشخص شد که محققان تفاوت‌هایی بین ویژگی‌های cfDNA افراد سالم و بیمار گزارش کردند (۲۳). توماس جوریس و همکاران در کشور انگلستان، ۶ فرد سالم به عنوان گروه کنترل، ۲۵ ناقل بدون علامت ویروس HTLV-1 ، ۲۱ بیمار میلوپاتی ناشی از ویروس HTLV-1 (HAM) و ۲۵ بیمار مبتلا به لوسمی سلول T بالغین (ATL) را مورد ارزیابی قرار دادند. cfDNA از پلاسمای خون و Genomic DNA از سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی این افراد جدا شد. به منظور تائید حضور DNA انسانی از ژن بتاگلوبین و هم‌چنین برای اندازه‌گیری بار ویروس از ژن *Tax* و qPCR به روش سایبرگرین استفاده کردند. پروویروس HTLV-1 در ۸۵٪ از cfDNA ها شناسایی شد و نشان داده شد که عدم شناسایی پروویروس در cfDNA به دلیل لود پایین ویروس در gDNA سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی مرتبط است. در این مطالعه بیان گردید که DNA پروویروس یکی از اجزا cfDNA پلاسما در ناقلین HTLV-1 می‌باشد و میزان پرووایرال لود ویروس HTLV-1 در cfDNA پلاسما تقریبا ۱۰ برابر کمتر از پرووایرال لود ویروس در gDNA سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی است (۲۴). بیماری لوسمی سلول T بزرگسالان براساس ویژگی‌های بالینی و شرح حال بیمار به چهار زیر گروه بالینی Acute ، Lymphoma ، Chronic و Smoldering

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

تقسیم می‌گردد. هیروکاتسویا و همکاران در کشور ژاپن cfDNA را از پلاسما و gDNA را از PBMC ، ۴۲ ناقل بدون علامت، ۹ بیمار مبتلا به Smoldering ATL ، ۷ بیمار مبتلا به Chronic ATL ، ۵ بیمار مبتلا به Lymphoma ATL و ۴ بیمار مبتلا به Acute ATL استخراج کردند و به روش Droplet digital PCR میزان پروویرال لود ویروس اندازه‌گیری شد. میانگین لود ویروس در نمونه‌های cfDNA پلاسما در ناقلین بدون علامت ۰/۷ Copies/mL ، نوع Smoldering ۱۷/۵ copies/mL، نوع Chronic copies/ml ATL ۵۶/۳، نوع Lymphoma ATL ۱۶۵۰ copies/mL و نوع Acute ATL ۶۲۵ copies/mL گزارش شد. میانگین پروویرال لود ویروس در نمونه‌های gDNA سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی در ناقلین بدون علامت ۶٪ ، نوع Smoldering ATL ۱۶/۳٪ ، نوع Chronic ATL ۷۶٪ ، نوع Lymphoma ATL ۸/۵٪ و نوع Acute ATL ۶۹/۳٪ تعیین گردید. در این مطالعه بیان شد که بیماران مبتلا به لوسمی سلول T بالغین نوع Lymphoma بیشترین مقدار بار ویروس را در cfDNA پلاسما و کمترین میزان پروویرال لود را در PBMC دارند (۲۵). دانیل روزا و همکاران در کشور برزیل ۴۸ اهداکننده خون که از نظر حضور ویروس HTLV-1 مثبت گزارش شده بودند را مورد ارزیابی قرار دادند. این افراد براساس میزان درگیری عصبی به دو گروه تقسیم شدند. گروه ۱ متشکل از ۲۳ بیمار بدون درگیری عصبی و گروه ۲ متشکل از ۲۵ بیمار با نشانه‌هایی از درگیری عصبی بودند. در این مطالعه میزان پروویرال لود ویروس در پلاسما و مایع مغزی نخاعی به روش Real-Time SYBR Green PCR اندازه‌گیری شد.

نتایج نشان دادند که میزان لود ویروس در پلاسمای افراد گروه ۱ و ۲ از نظر آماری تفاوت چشمگیری نداشتند. در حالی که به طور چشمگیری میزان لود ویروس در مایع مغزی ـ نخاعی گروه ۲ (همراه با درگیری عصبی) نسبت به گروه ۱ (بدون درگیری عصبی) بالاتر بود (p= ۰/۰۳). این نتیجه می‌تواند تائیدکننده این موضوع باشد که میزان لود ویروس در بیماران پاراپارزی اسپاستیک گرمسیری همراه میلوپاتی ناشی از ویروس HTLV-1 (HAM/TSP) حدود ۱۰ تا ۱۰۰ برابر بیشتر از ناقلین بدون درگیری عصبی می‌باشد (۲۶). سیلوا فورتادو و همکاران در کشور برزیل میزان پروویرال لود ویروس HTLV-1 را در ۷۵ ناقل بدون علامت و ۷۸ بیمار HAM مورد ارزیابی قرار دادند. در این پژوهش DNA ویروس از خون محیطی استخراج شد و با روش Real-Time SYBR Green PCR و ژن هدف *Pol* و آلبومین میزان لود ویروس اندازه گیری شد. در این مطالعه عنوان شده است که میزان بار ویروس در بیماران HAM (۷۱۱ Copies/ 10^4 cell median: ۳۳۶ Copies/10^4 cell) حدود ۶ برابر بیشتر از ناقلین بدون علامت (10^4 cell median: ۳۳۶ Copies/ ۱۱۷ Copies/ 10^4 cell) است (۲۷).

در این مطالعه، در ۸۰٪ موارد DNA ژنومی استخراج شده از پلاسمای اهداکنندگان خون با نتیجه وسترن بلات مثبت، ناحیه ژنی LTR ویروس به روش Nested PCR شناسایی گردید. فابیو کابرال و همکاران میزان لود ویروس HTLV-1 را در DNA ژنومی آزاد شده از سلول، از پلاسمای ۱۵۰ فرد مبتلا به ویروس (۱۲۳ ناقل بدون علامت و ۲۷ بیمار HAM/TSP) با هدف قرار دادن ژن *Pol* و کنترل داخلی آلبومین به روش TaqMan Real-Time PCR ارزیابی کردند. نتایج نشان دادند که تکثیر ژن *Pol* در ۴٪ ناقل بدون علامت و ۲۶٪ بیمار HAM/TSP وجود دارد (۲۸). مطالعه‌ها نشان دادند که خون کامل و فرآورده‌های سلولی و بافتی می‌توانند منجر به انتقال ویروس HTLV-1 شوند، ولی تاکنون علی‌رغم حضور پرووِیروس در cfDNA در پلاسما، انتقال ویروس HTLV-1 از فرآورده‌های بدون سلول گزارش نشده است که به دلیل عدم حضور تعداد کافی ویریون HTLV-1 عفونت‌زا در پلاسمای بیماران می‌باشد. پژوهش انجام شده در این زمینه نشان داده که تعداد بسیار کمی از پرووِیروس های آزاد شده از سلول‌های آلوده به HTLV-1 در شرایط آزمایشگاهی عفونی هستند. تخمین زده شده است که از هر 10^6–10^5 ذره تولیدی، تنها یک مورد عفونت‌زای باشد (۳۰، ۲۹).

هم‌چنین در مطالعه‌هایی، ژنوم ویروس در وزیکول‌های خارج سلولی در پلاسمای افراد نیز شناسایی گردیده است. اخیراً ساختارهای کوچک متصل به غشا تحت عنوان وزیکول‌های خارج سلولی (EVs) به دلیل حمل پروتئین‌ها و RNA ویروس در چندین عفونت ویروسی مانند HIV-1،

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

HTLV-1 و ویروس Zika مورد توجه قرار گرفته است. در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک تقریباً تمام سلول‌ها EVs ترشح می‌کنند که می‌توان آن را در مایعات بیولوژیک مانند خون، ادرار، خلط، شیر مادر، مایع مغزی- نخاعی و... شناسایی کرد. وزیکول‌های خارج سلولی حاوی پروتئین، لیپید، DNA ، RNA ، محتوای ژنتیکی پاتوژن‌ها مانند ویروس‌ها و باکتری‌ها و... می‌باشند (۳۱). مولکول‌های زیادی بر روی EVs ها وجود دارد که می‌توانند به تعداد زیادی از گیرنده‌های سلولی متصل شوند و یا از طریق فرآیند فاگوسیتوز سلول‌های ایمنی محتویات وزیکول‌ها، وارد سلول‌های هدف می‌شوند (۳۲، ۳۱). مطالعه‌های اخیر نشان داده‌اند که سلول‌های آلوده به ویروس یک سری وزیکول‌های خارج سلولی تولید می‌کنند که حاوی پروتئین‌ها ($gp61^{+++}/Tax^{+++}/HBZ^{+}$) و RNA ویروس می‌باشد. این وزیکول‌های خارج سلولی قادر هستند بر روی سلول‌های سالم تاثیر گذاشته و آن‌ها را نیز درگیر کنند. هم‌چنین در این مطالعه نشان داده شده، که میزان سنتز RNA ویروس HTLV-1 در موش‌های NOG (موش‌هایی که زنجیره گاما رسپتور اینترلوکین ۲ در آن‌ها حذف شده است) مجاور شده با وزیکول‌های خارج سلولی ویروس HTLV-1 در مقایسه با موش‌های مجاور شده با وزیکول‌های خارج سلولی سلول‌های غیر عفونی افزایش یافته است. هم‌چنین میزان DNA ویروس در خون، ریه، طحال، کبد و مغز موش‌ها پس از مجاور کردن با وزیکول‌های HTLV-1 اندازه‌گیری گردید که افزایش سطح DNA ویروس در تمام بافت‌ها به ویژه مغز مشاهده گردید (۳۳). مطالعه‌ها نشان داده که وزیکول‌های خارج سلولی از خون محیطی و مایع مغزی نخاعی بیماران مبتلا به HAM/TSP ، حاوی پروتئین ترانس اکتیو Tax می‌باشند که باعث افزایش تجمع سلولی و گسترش ویروس می‌شود (۳۱). وزیکول‌های خارج سلولی می‌توانند باعث افزایش RNA و DNA پروویروس در خون، غدد لنفاوی و طحال شوند (۳۴). از آن جایی که مطالعه‌های زیادی بر روی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از سلول‌های آلوده به HTLV-1 صورت نگرفته است و مشخص نشده است که این EVs ها عفونی هستند یا خیر، بنابراین ضروری است وزیکول‌های خارج سلولی تولید شده توسط سلول‌های حاوی ویروس از نظر حضور ژنوم ویروس HTLV-1، پروویرال لود ویروس، بیان ژن‌های ویروسی و عفونی بودن مورد ارزیابی قرار گیرند.

در این مطالعه میزان پروویرال لود HTLV-1 در پلاسما و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی اهداکنندگان خون با نتیجه وسترن بلات مثبت به روش qPCR سایبرگرین اندازه‌گیری شد تا در مواردی که سرم یا پلاسما به جای استفاده از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی برای تشخیص ویروس به کار برده می‌شود یا لود ویروس تعیین می‌شود، تا چه حد نتایج با یکدیگر مشابهت دارد. در این مطالعه، میزان میانه بار ویروس در پلاسمای ناقلین بدون علامت Copies/µL ۱/۹۰ بود و میانه لود ویروس در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی ناقلین بدون علامت برابر با PBMC $۱۰^{۶}$ /Copies ۲۰ بود که نشان می‌دهد میزان لود ویروس در پلاسمای ناقلین بدون علامت حدود ۱۰ برابر کمتر از بار ویروس در Genomic DNA است. نتایج حاصل از این پژوهش، با نتایج سایر مطالعه‌های انجام شده در دیگر کشورها در طی سال‌های اخیر مطابقت دارد و بیان‌کننده این موضوع می‌باشد که ژنوم ویروس HTLV-1 در مایعات بیولوژیک بدن مانند پلاسما قابل شناسایی می‌باشد. Cell-free DNA قطعات DNA هستند که برای اولین بار در سال ۱۹۴۸ در کمپلکس‌های ایمنی بیماران مبتلا به لوپوس اریتروماتوز در سیستم گردش خون توصیف شدند (۲۲). اهمیت بالینی cfDNA زمانی مشخص شد که محققان تفاوت‌هایی بین ویژگی‌های cfDNA افراد سالم و بیمار گزارش کردند (۲۳). توماس جوریس و همکاران در کشور انگلستان، ۶ فرد سالم به عنوان گروه کنترل، ۲۵ ناقل بدون علامت ویروس HTLV-1 ، ۲۱ بیمار مبتلا به HAM و ۲۵ بیمار مبتلا به ATL را مورد ارزیابی قرار دادند. cfDNA از پلاسمای خون و Genomic DNA از سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی این افراد جدا شد. به منظور تائید حضور DNA انسانی از ژن بتاگلوبین و همچنین برای اندازه‌گیری باروریروس از ژن *Tax* و *qPCR* به روش سایبرگرین استفاده کردند. پروویروس HTLV-1 در ۸۵٪ از cfDNA شناسایی شد و نشان داده شد که عدم

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

شناسایی پرووویروس در cfDNA به لود پایین ویروس در gDNA سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی مرتبط است. در این مطالعه بیان گردید که DNA پرووویروس یکی از اجزای cfDNA پلاسما در ناقلین HTLV-1 می‌باشد و میزان پرووایرال لود ویروس HTLV-1 در cfDNA پلاسما تقریباً ۱۰ برابر کمتر از پرووایرال لود ویروس در gDNA سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی می‌باشد (۲۴). بیماری لوسمی سلول T بزرگسالان براساس ویژگی‌های بالینی و شرح حال بیمار به چهار زیرگروه بالینی Acute ، Lymphoma، Chronic و Smoldering تقسیم می‌گردد. هیرو کاتسویا و همکاران در کشور ژاپن cfDNA را از پلاسما و gDNA از PBMC ، ۴۲ ناقل بدون علامت، ۹ بیمار مبتلا به Smoldering ATL، ۷ بیمار مبتلا به Chronic ATL ، ۵ بیمار مبتلا به Lymphoma ATL و ۴ بیمار مبتلا به Acute ATL استخراج کردند و به روش Droplet digital PCR میزان پرووایرال لود ویروس اندازه‌گیری شد. میانگین لود ویروس در نمونه‌های cfDNA پلاسما در ناقلین بدون علامت copies/mL ۰/۷، نوع Smoldering ATL copies/mL ۱۷/۵، نوع Chronic ATL copies/mL ۵۶/۳، نوع Lymphoma ATL copies/mL ۱۶۵۰ و نوع Acute ATL copies/mL ۶۲۵ گزارش شد. میانگین پرووایرال لود ویروس در نمونه‌های gDNA سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی در ناقلین بدون علامت ۶٪ ، نوع Smoldering ATL ۱۶/۳٪، نوع Chronic ATL ۷۶٪، نوع Lymphoma ATL ۸/۵٪ و نوع Acute ATL ۶۹/۳٪ تعیین گردید. در این مطالعه بیان شد که بیماران مبتلا به لوسمی سلول T بالغین نوع Lymphoma بیشترین مقدار بار ویروس را در cfDNA پلاسما و کمترین میزان پرووایرال لود را در PBMC دارند (۲۵). دانیل رزا و همکاران در کشور برزیل ۴۸ اهداکننده خون که از نظر حضور ویروس HTLV-1 مثبت گزارش شده بودند را مورد ارزیابی قرار دادند. این افراد براساس میزان درگیری عصبی به دو گروه تقسیم شدند. گروه ۱ متشکل از ۲۳ بیمار بدون درگیری عصبی و گروه ۲ متشکل از ۲۵ بیمار با نشانه هایی از درگیری عصبی بودند. در این مطالعه میزان پرووایرال لود ویروس در پلاسما و مایع مغزی نخاعی به روش Real-Time SYBR Green PCR اندازه‌گیری شد.

نتایج نشان دادند که میزان لود ویروس در پلاسمای افراد گروه ۱ و ۲ از نظر آماری تفاوت چشمگیری نداشتند. در حالی که به طور چشمگیری میزان لود ویروس در مایع مغزی نخاعی گروه ۲ (همراه با درگیری عصبی) نسبت به گروه ۱ (بدون درگیری عصبی) بالاتر بود (p= ۰/۰۳). این نتیجه می‌تواند تائیدکننده این موضوع باشد که میزان لود ویروس در بیماران HAM/TSP حدود ۱۰ تا ۱۰۰ برابر بیشتر از ناقلین بدون درگیری عصبی می‌باشد (۲۶). سیلوا فورتادو و همکاران در کشور برزیل میزان پرووایرال لود ویروس HTLV-1 را در ۷۵ ناقل بدون علامت و ۷۸ بیمار HAM مورد ارزیابی قرار دادند. در این پژوهش DNA ویروس از خون محیطی استخراج شد و با روش Real-Time SYBR Green PCR و ژن هدف Pol و آلبومین میزان لود ویروس اندازه‌گیری شد. در این مطالعه عنوان شده است که میزان بار ویروس در بیماران HAM (۷۱۱ Copies/10^4 cell median :۳۳۶ Copies/10^4 cell) حدود ۶ برابر بیشتر از ناقلین بدون علامت (HAM 10^4 /۱۱۷ Copies 10^4 cell median: ۴۸ Copies) است (۲۷).

در این مطالعه، در ۸۰٪ موارد DNA ژنومی استخراج شده از پلاسمای اهداکنندگان خون با نتیجه وسترن بلات مثبت ، ناحیه ژنی LTR ویروس به روش Nested PCR شناسایی گردید. فابیو کابرال و همکاران میزان لود ویروس HTLV-1 را در DNA ژنومی آزاد شده از سلول، از پلاسمای ۱۵۰ فرد مبتلا به ویروس (۱۲۳ ناقل بدون علامت و ۲۷ بیمار HAM/TSP) با هدف قرار دادن ژن *Pol* و کنترل داخلی آلبومین به روش TaqMan Real-Time PCR ارزیابی کردند. نتایج نشان دادند که تکثیر ژن *Pol* در ۴٪ ناقل بدون علامت و ۲۶ بیمار HAM/TSP وجود دارد (۲۸). مطالعه‌ها نشان دادند که خون کامل و فرآورده‌های سلولی و بافت می‌توانند منجر به انتقال ویروس HTLV-1 شوند، ولی تاکنون علی‌رغم حضور پرووویروس در cfDNA در پلاسما، انتقال ویروس HTLV-1 از فرآورده‌های بدون سلول گزارش نشده است که به دلیل عدم حضور تعداد کافی ویریون HTLV-1 عفونت زا در پلاسمای بیماران می‌باشد. پژوهش انجام شده در این زمینه نشان داده که

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

تعداد بسیار کمی از پروویروس های آزاد شده از سلول‌های آلوده به HTLV-1 در شرایط آزمایشگاهی عفونی هستند. تخمین زده شده است که از هر 10^{6}-10^{5} ذره تولیدی تنها یک مورد عفونت‌زا باشد (۳۰، ۲۹).

هم‌چنین در مطالعه‌هایی، ژنوم ویروس در وزیکول‌های خارج سلولی در پلاسمای افراد نیز شناسایی گردیده است. اخیراً ساختارهای کوچک متصل به غشا تحت عنوان وزیکول‌های خارج سلولی (EVs) به دلیل حمل پروتئین‌ها و RNA ویروس در چندین عفونت ویروسی مانند HIV-1، HTLV-1 و ویروس Zika مورد توجه قرار گرفته است. در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک تقریبا تمام سلول‌ها EVs ترشح می‌کنند که می‌توان آن را در مایعات بیولوژیک مانند خون، ادرار، خلط، شیر مادر، مایع مغزی- نخاعی و... شناسایی کرد. وزیکول‌های خارج سلولی حاوی پروتئین، لیپید، DNA ، RNA ، محتوای ژنتیکی پاتوژن‌ها مانند ویروس‌ها و باکتری‌ها و... می‌باشند (۳۱). مولکول‌های زیادی بر روی EVs ها وجود دارد که می‌توانند به تعداد زیادی از گیرنده‌های سلولی متصل شوند و یا از طریق فرآیند فاگوسیتوز سلول‌های ایمنی محتویات وزیکول‌ها وارد سلول‌های هدف می‌شوند (۳۲, ۳۱). مطالعه‌های اخیر نشان داده‌اند که سلول‌های آلوده به ویروس یک سری وزیکول‌های خارج سلولی تولید می‌کنند که حاوی پروتئین‌های ($gp61^{+++}/Tax^{+++}/HBZ^{+}$) و RNA ویروس می‌باشد. این وزیکول‌های خارج سلولی قادر هستند بر روی سلول‌های سالم تاثیر گذاشته و آن‌ها را نیز درگیر کنند. هم‌چنین در این مطالعه نشان داده شده، که میزان سنتز RNA ویروس HTLV-1 در موش‌های NOG (موش‌هایی که زنجیره گاما رسپتور اینترلوکین ۲ در آن‌ها حذف شده است) مجاور شده با وزیکول‌های خارج سلولی ویروس HTLV-1 در مقایسه با موش‌های مجاور شده با وزیکول‌های خارج سلولی سلول‌های غیر عفونی افزایش یافته است.

هم‌چنین میزان DNA ویروس در خون، ریه، طحال، کبد و مغز موش‌ها پس از مجاور کردن با وزیکول‌های HTLV-1 اندازه‌گیری گردید که افزایش سطح DNA ویروس در تمام بافت‌ها به ویژه مغز مشاهده شد (۳۳). مطالعه‌ها نشان داده که وزیکول‌های خارج سلولی از خون محیطی و مایع مغزی نخاعی بیماران مبتلا به HAM/TSP ، حاوی پروتئین ترانس اکتیو Tax می‌باشند که باعث افزایش تجمع سلولی و گسترش ویروس می‌شود (۳۱). وزیکول‌های خارج سلولی می‌توانند باعث افزایش RNAو DNA پروویروس در خون، غدد لنفاوی و طحال شوند (۳۴).

از آن جایی که مطالعه‌های زیادی بر روی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از سلول‌های آلوده به HTLV-1 صورت نگرفته است و مشخص نشده است که این EVs ها عفونی هستند یا خیر. بنابراین ضروری است وزیکول-های خارج سلولی تولید شده توسط سلول‌های حاوی ویروس از نظر حضور ژنوم ویروس HTLV-1 ، پروایرال لود ویروس، بیان ژن‌های ویروسی و عفونی بودن مورد ارزیابی قرار گیرند.

نتیجه‌گیری

جهت تشخیص مولکولی ویروس HTLV-1 ، می‌توان از DNA های پروویروس HTLV-1 آزاد شده از سلول‌ها در پلاسمای ناقلین بدون علامت در مواردی که سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در دسترس نمی‌باشد، استفاده نمود. هم‌چنین دیده شد که میزان بار ویروس در پلاسمای ناقلین بدون علامت حدود ۱۰ برابر کمتر از لود ویروس در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی ناقلین بدون علامت است که نشان دهنده تعداد کپی پایین ویروس HTLV-1 در پلاسمای این افراد می‌باشد.

حمایت مالی

این پروژه توسط مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون تأمین مالی شده است.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه توسط کمیته اخلاق تحقیقات زیست پزشکی مؤسسه عالی آموزش و پژوهشی طب انتقال خون مورد بررسی و تائید قرار گرفت (IR.TMI.REC.1400.018).

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

عدم تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی در مطالعه حاضر وجود نداشته است.

نقش نویسندگان

منیره مسعودی: نوشتن مقاله و انجام آزمایش‌ها، روش‌شناسی، تحلیل و بررسی داده‌ها.

دکتر زهره شریفی: طراحی مطالعه، ویرایش مقاله، بررسی و تفسیر داده‌ها، نظارت بر انجام آزمایش‌ها

دکتر مهتاب مقصودلو: طراحی مطالعه، ویرایش مقاله و مشاوره آماری

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ایران می‌باشد. بدین وسیله از مؤسسه جهت حمایت مالی تشکر می‌گردد.

References:

1- Iwamoto N, Araki T, Umetsu A, Takatani A, Aramaki T, Ichinose K, *et al*. The Association of Increase of Human T-Cell Leukemia Virus Type-1 (HTLV-1) Proviral Load (PVL) With Infection in HTLV-1-Positive Patients With Rheumatoid Arthritis: A Longitudinal Analysis of Changes in HTLV-1 PVLs in a Single Center Cohort Study. Front Immunol 2022; 13: 887783.

2- de La-Roque DGL, Santos EV, Rodrigues ES, da Costa PNM, Brauer VS, Almeida F, *et al*. The Expression of Tax and HBZ Genes in Serum-Derived Extracellular Vesicles From HTLV-1 Carriers Correlates to Proviral Load and Inflammatory Markers. Front Immunol 2022; 13: 881634.

3- Simioli FR, Bouzas MB, Mijalovsky D, Pineda MV, Mammana L, Mangano A, Orduna TA. Making Visible HTLV Infection in a Non-endemic Area of Argentina. Front Med (Lausanne) 2022; 9: 892159.

4- Mozhgani SH, Kermani HA, Norouzi M, Arabi M, Soltani S. Nanotechnology based strategies for HIV-1 and HTLV-1 retroviruses gene detection. Heliyon 2020; 6(5): e04048.

5- Komatsu N, Iwanaga M, Hasegawa Y, Miura S, Fuchi N, Moriuchi H, *et al*. Frequency of HTLV-1 seroconversion between pregnancies in Nagasaki, Japan, 2011-2018. Front Microbiol 2022; 13: 1036955.

6- Haghnazari Sadaghiani N, Pirayeshfard L, Aghaie A, Sharifi Z. The Effect of TAX-1 Gene of Human T-cell Leukemia Virus Type-1 on the Expression of CCR5 in K562 Cell Line. Avicenna J Med Biotechnol 2019; 11(1): 67-71.

7- Futsch N, Mahieux R, Dutartre H. HTLV-1, the other pathogenic yet neglected human retrovirus: from transmission to therapeutic treatment. Viruses 2017; 10(1): 1.

8- Saffari M, Rahimzada M, Mirhosseini A, Ghezaldasht SA, Valizadeh N, Moshfegh M, *et al*. Coevolution of HTLV-1-HBZ, Tax, and proviral load with host IRF-1 and CCNA-2 in HAM/TSP patients. Infect Genet Evol 2022; 103: 105337.

9- Ji H, Chang L, Yan Y, Wang L. Development and validation of a duplex real-time PCR for the rapid detection and quantitation of HTLV-1. Virol J 2023; 20(1): 9.

10- Eusebio-Ponce E, Candel FJ, Paulino-Ramirez R, Serrano-García I, Anguita E. Seroprevalence and Trends of HTLV-1/2 among Blood Donors of Santo Domingo, Dominican Republic, 2012-2017. Rev Esp Quimioter 2021; 34(1): 44-50.

11- Forlani G, Shallak M, Accolla RS, Romanelli MG. HTLV-1 infection and pathogenesis: New insights from cellular and animal models. Int J Mol Sci 2021; 22(15): 8001.

12- Igakura T, Stinchcombe JC, Goon PK, Taylor GP, Weber JN, Griffiths GM, *et al*. Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. Science 2003; 299(5613): 1713-6.

13- Kalinichenko S, Komkov D, Mazurov D. HIV-1 and HTLV-1 transmission modes: Mechanisms and importance for virus spread. Viruses 2022; 14(1): 152.

14- Song HS, Kang DH, Kim H, Ahn TS, Kim TW, Baek MJ. Clinical relevance and prognostic role of preoperative cell-free single-stranded DNA concentrations in colorectal cancer patients. Korean J Clin Oncol 2021; 17(2): 59.

15- Mayo S, Gómez-Manjón I, Fernández-Martínez FJ, Camacho A, Martínez F, Benito-León J. CfDNA measurement as a diagnostic tool for the detection of brain somatic mutations in refractory epilepsy. Int J Mol Sci 2022; 23(9): 4879.

16- Melamud MM, Buneva VN, Ermakov EA. Circulating Cell-Free DNA Levels in Psychiatric Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. Int J Mol Sci 2023; 24(4): 3402.

17- Pös Z, Pös O, Styk J, Mocova A, Strieskova L, Budis J, *et al*. Technical and methodological aspects of cell-free nucleic acids analyzes. Int J Mol Sci 2020; 21(22): 8634.

18- Pirayeshfard L, Sharifi Z, Amini-Kafiabad S, Haghnazari Sadaghiani N. Phylogenetic analysis of

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

HTLV-1 in Iranian blood donors, HIV-1 positive patients and patients with beta thalassemia. J Med Virol 2018; 90(8): 1398-1405.
19- Ghasemzadegan H, Shahabi M, Rezaei N, Sharifi Z. Design a Real Time PCR with SYBR Green for quantification of HTLV-1 proviral load for blood donors. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2019; 16(3): 194-200. [Article in Farsi]
20- Miley WJ, Suryanarayana K, Manns A, Kubota R, Jacobson S, Lifson JD, Waters D. Real-time polymerase chain reaction assay for cell-associated HTLV type I DNA viral load. AIDS Res Hum Retroviruses 2000; 16(7): 665-75.
21- Rosadas C, Cabral-Castro MJ, Vicente ACP, Peralta JM, Puccioni-Sohler M. Validation of a quantitative real-time PCR assay for HTLV-1 proviral load in peripheral blood mononuclear cells. J Virol Methods 2013; 193(2): 536-41.
22- Kustanovich A, Schwartz R, Peretz T, Grinshpun A. Life and death of circulating cell-free DNA. Cancer Biol Ther 2019; 20(8): 1057-67.
23- Bronkhorst AJ, Ungerer V, Holdenrieder S. The emerging role of cell-free DNA as a molecular marker for cancer management. Biomol Detect Quantif 2019; 17: 100087.
24- Joris T, Haddow J, Taylor GP, Cook LB, Rowan AG. Detection of HTLV-1 proviral DNA in cell-free DNA: Potential for non-invasive monitoring of Adult T cell leukaemia/lymphoma using liquid biopsy? Front Immunol 2023; 14: 1150285.
25- Katsuya H, Nakamura H, Maeda A, Ishii K, Nagaie T, Sano H, *et al*. HTLV- 1 cell- free DNA in plasma as a potential biomarker in HTLV- 1 carriers and adult T-cell leukemia- lymphoma. EJHaem 2023; 4(3): 733-7.
26- Rosa DV, Magno LA, Pereira NC, Romanelli LC, Albuquerque MR, Martins ML, *et al*. Plasma and cerebrospinal fluid levels of cytokines as disease markers of neurologic manifestation in long-term HTLV-1 infected individuals. Biomark Med 2018; 12(5): 447-54.
27- Furtado MdSBS, Andrade RG, Romanelli LCF, Ribeiro MA, Ribas JG ,Torres EB, *et al*. Monitoring the HTLV- 1 proviral load in the peripheral blood of asymptomatic carriers and patients with HTLV-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis from a Brazilian cohort: ROC curve analysis to establish the threshold for risk disease. J Med Virol 2012; 84(4): 664-71.
28- Cabral F, Arruda LB, de Araújo ML, Montanheiro P, Smid J, de Oliveira ACP, *et al*. Detection of human T-cell lymphotropic virus type 1 in plasma samples. Virus Res 2012; 163(1): 87-90.
29- Fan N, Gavalchin J, Paul B, Wells K, Lane M, Poiesz B. Infection of peripheral blood mononuclear cells and cell lines by cell-free human T-cell lymphoma/leukemia virus type I. J Clin Microbiol 1992; 30(4): 905-10.
30- Derse D, Hill SA, Lloyd PA, Chung H-k, Morse BA. Examining human T-lymphotropic virus type 1 infection and replication by cell-free infection with recombinant virus vectors. J Virol 2001; 75(18): 8461-8.
31- Al Sharif S, Pinto DO, Mensah GA, Dehbandi F, Khatkar P, Kim Y, *et al*. Extracellular vesicles in HTLV-1 communication: the story of an invisible messenger. Viruses 2020; 12(12): 1422.
32- Feng D, Zhao WL, Ye YY, Bai XC, Liu RQ, Chang LF, *et al*. Cellular internalization of exosomes occurs through phagocytosis. Traffic 2010; 11(5): 675-87.
33- Pinto DO, DeMarino C, Pleet ML, Cowen M, Branscome H, Al Sharif S, *et al*. HTLV-1 extracellular vesicles promote cell-to-cell contact. Front Microbiol 2019; 10: 2147.
34- Pinto DO, Al Sharif S, Mensah G, Cowen M, Khatkar P, Erickson J, *et al*. Extracellular vesicles from HTLV-1 infected cells modulate target cells and viral spread. Retrovirology 2021; 18(1): 1-27.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]