Archive of SID

ORIGINAL ARTICLE

Iranian Quarterly Journal of Breast Disease 2017; 10(3):67.

Identification of Herpes Simplex Virus's DNA and RNA in the Breast Tumor, Using Polymerase Chain Reaction Technique

Keshan Dehghan A: Department of genetic, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran
Ghane M: Department of Microbiology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

Corresponding Author: Masood Ghane, masoodghane@toiau.ac.ir

Abstract

Introduction: Several studies have proven that human cancer cells can develop as a result of infection with the herpes simplex virus. Regarding this observation, the presence of this virus' DNA in the paraffin tissue of breast cancer in some tumor samples can be a risk factor for the formation of breast carcinoma. The aim of this study was to investigate the frequency rate of RNA and DNA of human herpes simplex virus in fresh and paraffined breast tumor samples.

Methods: In this study, 70 fresh and paraffined breast tumor samples were collected from patients with breast cancer that were surgically treated in Golsar, Aria, and Rasoul-e-Akram hospitals on Rasht, Iran, in 2016. After rapid transfer of samples to the laboratory, RNA and DNA extraction was performed using one-stage kit (Genall, Korea), and the extracted RNA was converted to cDNA. Next, the UL30 gene of herpes simplex virus from exclusive primer was used for proliferation.

Results: Out of 70 samples of breast cancer, none was positive in the fresh and paraffined tissues. This issue indicates the absence of the genome of herpes simplex virus in the breast tumor in this study.

Conclusions: The role of herpes viruses has been proven in the formation of cervical cancers, Hodgkin's, Burkitt's lymphoma, and blood vessels cancer in the past decade. However, there is also evidence that HSV genome was not identified in tumors. Therefore, further studies are needed to understand the association of these viruses with the formation of breast tumors.

Keywords: Breast Cancer, Tumors, Herpes Simplex Virus.

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله پژوهشی

فصلنامهٔ بیماری‌های پستان ایران، سال دهم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۶؛ ۷۵ -۶۸)

تاریخ ارسال: ۹۶/۸/۱۰ | تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲۲

شناسایی DNA و RNA ویروس هرپس سیمپلکس در نمونه‌های تومور پستان به کمک واکنش زنجیره پلیمراز

اطلس کشن دهقان: گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

مسعود قانع*: گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

چکیده

مقدمه: مطالعات متعدد ثابت نموده‌اند که سلول‌های سرطانی انسان می‌توانند در نتیجه آلودگی به ویروس هرپس سیمپلکس به وجود آیند. با توجه به مشاهده حضور DNA این ویروس در بافت پارافینه سرطان پستان در برخی از نمونه‌های توموری این احتمال وجود دارد که ویروس هرپس سیمپلکس می‌تواند یک فاکتور خطر برای شکل‌گیری کارسینومای پستان باشد.
هدف از اجرای این تحقیق بررسی میزان فراوانی RNA و DNA ویروس هرپس سیمپلکس انسانی در نمونه‌های تومورتازه و پارافینه شده پستان می‌باشد.

روش بررسی: در این بررسی ۷۰ نمونه تازه و پارافینه شده تومور پستان از بیماران مبتلا به سرطان پستان که در بیمارستان‌های گلسار، آریا و رسول اکرم(ص) رشت در سال ۱۳۹۵ جراحی شده، بودند جمع‌آوری گردید. پس از انتقال سریع نمونه‌ها به آزمایشگاه، استخراج RNA و DNA با استفاده از کیت (Genall Korea) انجام گردید. سپس با استفاده از کیت یک مرحله‌ای (GenallKorea)، RNA استخراجی به cDNA تبدیل گردید. در ادامه به منظور تکثیر ژن UL30 ویروس هرپس سیمپلکس از پرایمر اختصاصی، استفاده شد.

یافته‌ها: در مجموع از ۷۰ نمونه سرطان پستان هیچ نمونه مثبتی در بررسی بافت تازه و پارافینه مشاهده نشد که این مسئله نشان‌دهنده عدم حضور ژنوم ویروس هرپس سیمپلکس در تومور پستان در این تحقیق می‌باشد.

نتیجه‌گیری: در حدود یک دهه است که نقش هرپس ویروس‌ها در شکل‌گیری سرطان‌های سرویکس، هودچکین، لنفوم بورکیت و سرطان عروق خونی ثابت شده است. با این حال شواهدی نیز وجود دارد که موفق به شناسایی ژنوم ویروس HSV در تومورها نشده‌اند از این‌رو مطالعات بیشتر برای درک ارتباط این ویروس‌ها با شکل‌گیری تومورهای سینه نیاز می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، تومور، ویروس هرپس سیمپلکس، PCR.

* نشانی نویسنده مسئول: تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه میکروبیولوژی، مسعود قانع.
نشانی الکترونیک: masoodghane@toniau.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سرطان پستان رشد مهار نشده سلول‌های غیرطبیعی است که در نواحی مختلف پستان ایجاد می‌شود (۱). این سرطان دومین سرطان شایع در میان زنان است و انواع متعددی چون LCIS (کارسینوم لپکی در جا)، DCIS (کارسینوم مجرایی در جا) و کارسینوم مهاجم تقسیم می‌شود (۲). سرطان پستان یک بیماری به شدت ناهمگن است که در اثر تأثیر متقابل عوامل خطر وراثتی و محیطی ایجاد می‌شود و به تجمع پیشرونده تغییرات ژنتیک و اپی‌ژنتیک در سلول‌های سرطان پستان منجر می‌شود. اگرچه شواهد اپیدمیولوژیک بر وجود عوامل خطر ویژه (مانند سن، چاقی، مصرف الکل، برخورد با استروژن در طول زندگی) تأکید دارد، وجود سابقه خانوادگی سرطان پستان قوی‌ترین عامل خطر برای این بیماری به شمار می‌آید. تقریباً ۲۰٪ سرطان‌های پستان را انواع خانوادگی تشکیل می‌دهند و از نظر بیماری‌زایی، وابستگی خاصی به ژن مستعدکننده ویژه آن بیماری دارد (۳). حدود نیمی از سرطان‌های خانوادگی در اثر جهش در دودمان زایشی ژن‌های سرکوبگر تومور (TSGs) رخ می‌دهند که نقش اغلب آنها حفظ درستی و تمامیت ژنوم است. جهش در ژن‌های BRCA1 و BRCA2 موجب عدم شباهت ژنوم می‌شوند که خود به تغییرات در ژن‌های کلیدی دیگر شامل ژن‌های سرکوبگر تومور یا انکوژن‌ها منجر می‌شود (۴).

خطر ابتلا به سرطان پستان با افزایش سن بیش‌تر می‌شود. در حدود ۳/۴ از موارد بیماری در زنان بالای ۵۰ سال ایجاد می‌شود. سرطان پستان در زنانی که در سنین پایین در معرض پرتوتابی قرار گرفته‌اند، زنانی که قاعدگی آنها در سنین پایین شروع شده و یا دیرتر یائسه شده‌اند، افرادی که باردار نشده‌اند یا زنانی که اولین فرزندان آنها بعد از ۳۰ سالگی دنیا آمده است شیوع بیش‌تری دارد (۵). مطالعات صورت گرفته در گذشته نقش ویروس‌ها را در ایجاد سرطان، ثابت نموده است به عنوان مثال نقش ویروس هرپس سیمپلکس، سایتومگالو، ابشتین بار و کاپوشی سارکوما به ترتیب در سرطان‌های سرویکس، هودچکین، لنفوم بورکیت و سرطان عروق خونی ثابت شده است همچنین نقش پاپیلوما ویروس در سرطان سرویکس و پوست،HTLV در لوسمی و HBV در سرطان کبد پیش از این ثابت شده بود (۶). خانواده هرپس ویروس‌ها یکی از ویروس‌های تومورزایی است که طبق شواهد موجود می‌تواند در سرطان پستان نقش داشته باشد، این ویروس‌ها جز ویروس‌های DNA دار هستند، DNA آنها از نوع دو رشته‌ای است با تقارن مکعبی و دارای پوشش از جنس لیپید است (۷). چرخه تکثیر هرپس سیمپلکس ویروس سریع است به طوری که حدود ۸ تا ۱۶ ساعت طول می‌کشد (۸).

هدف از اجرای این مطالعه شناسایی ژنوم ویروس هرپس سیمپلکس انسانی با استفاده از تکنیک مولکولی PCR در نمونه‌های تومورتازه و پارافینه شده تومور پستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این بررسی که بر روی ۷۰ نمونه بافت تومور پستان تازه و ۷۰ نمونه پارافینه شده همان بیماران، صورت پذیرفت، نمونه‌ها از بیمارستان‌های گلسار، آریا و رسول اکرم(ص) در سال ۱۳۹۵ در شهر رشت جمع‌آوری گردید.

استخراج RNA و سنتز cDNA: تکنیک استخراج RNA از بافت طبق دستورالعمل شرکت سازنده (Catt.NO:305-101) اجرا شد. پس از استخراج RNA از بافت، سنتز cDNA با استفاده از کیت تک مرحله‌ای اجرا گردید و به این منظور از پرایمرهای طراحی شده برای تکثیر ژن Ul30 که از مقاله (۹) استخراج شده و توسط شرکت تک کوپنهاگن دانمارک سنتز گردید، استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر میکس PCR ، ۱ میکرولیتر از پرایمر رفت و ۱ میکرولیتر از پرایمر برگشت (جدول ۱) به همراه ۵ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۳ میکرولیتر از RNA استخراجی است. سپس مخلوط واکنش به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ترمال سایکلر قرار گرفت تا cDNA سنتز گردد.

استخراج DNA از بافت تازه و پارافینه: به منظور دِپارافینه کردن، ابتدا از بلوک‌های پارافینه برش‌های ۵ میکرونی تهیه گردید. سپس به منظور حذف پارافین نمونه‌ها در محلول زایلن قرار داده شدند و به منظور آبگیری به ترتیب در اتانول ۱۰۰ و ۸۰ و ۶۰ و ۴۰ درصد قرار گرفتند. در نهایت برای اجرای فرآیند استخراج DNA بافت‌ها، از کیت استخراج DNA شرکت Geneall (Cat.NO: 305-101) استفاده شد. سپس

www.SID.ir

Archive of SID

به منظور بررسی خلوص DNA استخراج شده آنالیزی مبتنی بر جذب DNA استخراجی در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر صورت گرفت.

تکثیر ژن بتاگلوبین انسانی: به منظور اطمینان از قابل PCR بودن DNA استخراج شده، تکثیر ژن بتاگلوبین انسانی با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن بتاگلوبین انسانی که از مقالات علمی استخراج شده است، اجرا گردید. به منظور تکثیر ژن بتا گلوبین انسانی، ابتدا ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix به همراه ۶ میکرولیتر آب مقطر و ۱ میکرولیتر پرایمر رفت و ۱ میکرولیتر پرایمر برگشت (جدول۱) به همراه ۴/۵ میکرولیتر DNA استخراجی داخل یک میکروتیوب استریل ۰/۲ ریخته و به صورتی که حجم نهایی برابر با ۲۵ میکرولیتر گردد. برای کنترل مثبت از نمونه‌ای که با تکنیک PCR سکوانسینگ، ویروس هرپس سیمپلکس تشخیص داده شده بود، از آزمایشگاه ویروس شناسی کیوان اخذ گردید. برای کنترل منفی تمام مقادیر درون میکروتیوب منتقل شد اما به جای نمونه مقدار ۴/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل افزوده شد. سپس میکروتیب در دستگاه ترمال سایکلر (اپندورف- آلمان) قرار داده شد و واکنش زنجیره پلیمراز با برنامه زمانی و دمایی که در جدول ۲ قابل مشاهده است، اجرا شد.

تکثیر ژن UL30 ویروس هرپس سیمپلکس: به منظور تکثیر ژن UL30 ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۲، ابتدا مخلوط واکنش با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر مطابق روش بالا تهیه و واکنش زنجیره پلیمراز با برنامه زمانی و دمایی که در جدول ۳ قابل مشاهده است، اجرا شد.

آنالیز کیفی: آنالیز کیفی به کمک ژل آگارز و سیستم الکتروفورزیس انجام می شود. برای این منظور نمونه‌ها بعد از PCR برای بررسی نهایی روی ژل آگارز ۱/۵ ٪ برده شد و با استفاده از دستگاه ترانس لومیناتور محصول PCR مشاهده گردید.

آنالیز کمی به کمک دستگاه اسپکتوفتومتر: به منظوره تعیین حداقل غلظت DNA قابل تشخیص DNA ویروس، ابتدا غلظت اولیه با دستگاه اسپکتوفتومتر تعیین و بعد از تهیه رقت‌های متوالی با برنامه دمایی و زمانی فوق الذکر، پلی‌مریزاسیون ژن UL30 انجام شد.

جدول۱: پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق

رفرانس	سایز قطعه تکثیری	توالی	نام پرایمر
۹	476 bp	5'CAGTACGGCCCCGAGTTCGTGA3'	HSV F
		5'GTAGATGGTGCGGGTGATGTT3'	HSV R
۱۰	122 bp	5'ATAGACCAATAGGCGAGAGTCA3	Beta F
		5'GGAATTTGGACAGAACATTGGAACT3'	Beta R

جدول ۲: برنامه زمانی و دمای PCR برای تکثیر ژن بتا گلوبین

برنامه		تعداد سیکل
تقلیب اولیه	۹۵ درجه سانتیگراد – ۵ دقیقه	۱ سیکل
تقلیب ثانویه	۹۵ درجه سانتیگراد – ۴۵ ثانیه	۳۵ سیکل
اتصال پرایمرها	۵۴ درجه سانتیگراد – ۳۰ ثانیه	
طویل‌سازی	۷۲ درجه سانتیگراد – ۳۰ ثانیه	
طویل‌سازی نهایی	۷۲ درجه سانتیگراد – ۱۰ دقیقه	۱ سیکل

www.SID.ir

Archive of SID

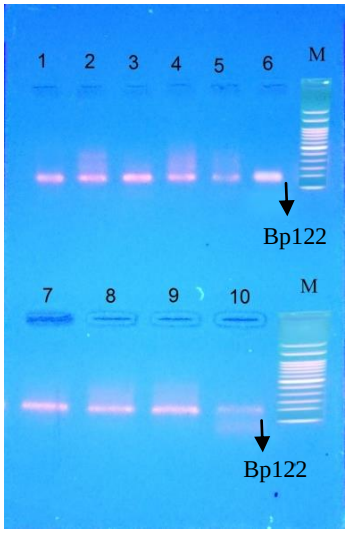
جدول ۳: برنامه زمانی و دمایی PCR برای ژن UL30 ویروس هرپس سیمپلکس

برنامه		تعداد سیکل
تقلیب اولیه	۹۴ درجه سانتیگراد – ۱۰ دقیقه	۱ سیکل
تقلیب ثانویه	۹۴ درجه سانتیگراد – ۱ دقیقه	۴۵ سیکل
اتصال پرایمرها	۶۳ درجه سانتیگراد – ۳۰ ثانیه	
طویل‌سازی	۷۲ درجه سانتیگراد – ۵۰ ثانیه	
طویل‌سازی نهایی	۷۲ درجه سانتیگراد – ۱۰ دقیقه	۱ سیکل

یافته‌ها

اطلاعات دموگرافیک بیماران: با توجه به اطلاعات دموگرافیکی که از طریق مطالعه پرونده بیماران بدست آمد از ۷۰ بیماران مورد بررسی سن اکثر بیماران بین ۴۰ تا ۵۰ سال (۴۱/۴۳٪) و کم‌ترین آنها زیر ۴۰ سال (۱۰٪) است. از لحاظ گروه خونی اکثر بیماران دارای گروه خونی O_+ (۳۷/۱۴٪) و کمترین آنها AB- (۴/۲۹٪) است. از این تعداد ۵۶ مورد با درصد فراوانی (۸۰٪) سابقه قند خون نداشته و تعداد ۱۴ مورد با درصد فراوانی (۲۰٪) سابقه قند خون دارند. از ۷۰ نمونه مورد بررسی تعداد ۴۸ مورد با درصد فراوانی (۶۸/۵۷٪) سابقه فامیلی سرطان پستان نداشته و تعداد ۲۲ مورد با درصد فراوانی (۳۱/۴۳٪) سابقه فامیلی سرطان پستان دارند. از لحاظ قند خون تعداد ۵۶ مورد با درصد فراوانی (۸۰٪) سابقه قند خون ندارند و تعداد ۱۴ مورد با درصد فراوانی (۲۰٪) سابقه دارند.

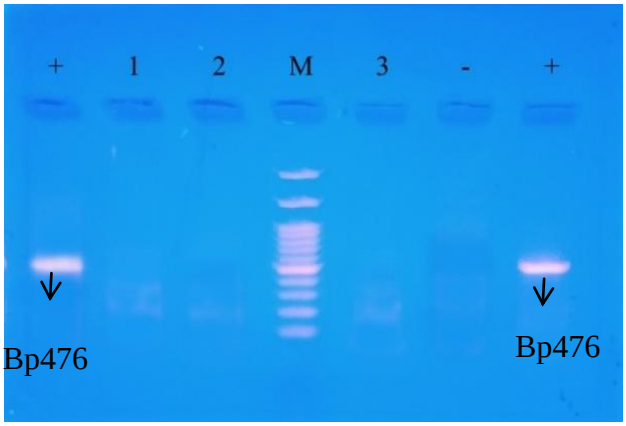
نتیجه تکثیر ژن بتاگلوبین انسانی: جهت تایید حضور DNA و قابل PCR بودن آن از پرایمر اختصاصی جهت تکثیر ژن بتا گلوبین انسانی استفاده گردید. مشاهده قطعه bp۱۲۲ نشان‌دهنده تکثیر قطعه ای از ژن بتا گلوبین انسانی است. از ۷۰ نمونه مورد بررسی بر روی DNA استخراجی از بافت تومور پستان هیچ نمونه مثبتی که حاکی از حضور این ویروس در تومور باشد مشاهده نشده است. همچنین در بررسی که بر روی RNA استخراجی از بافت توموری که به منظور تشخیص اینفیلتراسیون لنفوسیتی صورت گرفت نیز هیچ نمونه مثبتی مشاهده نشد. در نتیجه توزیع فراوانی ویروس در بافت تومور همه بیماران مبتلا به سرطان پستان منفی می‌باشد. این نتیجه حاکی از عدم ارتباط بین این ویروس و کارسینوم پستان می‌باشد. **تکثیر ژن UL30 ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۲:** مشاهده قطعه bp۴۷۶ نشان‌دهنده تکثیر ژن UL30 ویروس است.



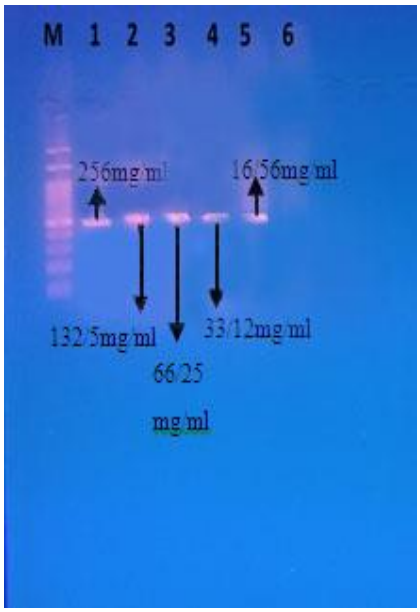
تصویر ۱: تکثیر ژن بتاگلوبین انسانی. M: سایز نشانگر استاندارد با وزن ۱۰۰ جفت بازی، چاهک‌های ۱ تا ۱۰ نمونه‌های مورد بررسی

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر ۲: تکثیر ژن UL30 ویروس M : سایز نشانگر استاندارد با وزن ۱۰۰ جفت بازی، نمونه کنترل مثبت که در bp ۴۷۶ باند داده است، نمونه کنترل منفی، چاهک‌های ۱تا ۳ نمونه‌های مورد بررسی



تصویر ۳: بررسی غلظت DNA رقیق شده نمونه کنترل مثبت برای آنالیز کمی M : سایز نشانگر استاندارد با وزن ۱۰۰ جفت بازی

بحث

سرطان از بیماری‌های مزمن و بسیار خطرناک است که سلامت افراد را در سن‌های مختلف به خطر می‌اندازد و بر جسم و روان افراد و اجتماع تاثیرات جبران ناپذیری می‌گذارد (۱۰).

برای زنان هیچ سرطانی نگران‌کننده‌تر از سرطان پستان نیست. این بیماری شایع‌ترین علت مرگ زنان در سن ۵۰ تا ۴۰ سالگی است (۱۱).

مطالعات صورت گرفته در دو دهه اخیر نقش ویروس‌ها را در ایجاد سرطان ثابت نموده است. مطالعات متعدد ثابت نموده که سلول‌های سرطانی انسان می‌تواند آلوده به ویروس HSV1 باشد (۱۲).

در این تحقیق که به منظور بررسی حضور و مقایسه میزان فراوانی RNA با DNA ویروس هرپس سیمپلکس در ۷۰ نمونه‌های تازه و پارافینه تومور پستان صورت گرفت تا از تاثیر حضور این ویروس بر روی سرطان پستان اطمینان حاصل شود هیچ نمونه مثبتی مشاهده نشد که این امر نشانگر عدم حضور این ویروس در سرطان پستان می‌باشد. با توجه به اینکه در این تحقیق علاوه بر بافت پارافینه، بافت تازه هم مورد بررسی قرار گرفته است امکان خطا به علت آلودگی در اثر تماس با محیط بسیار پایین است و به علت بررسی RNA در صورت وجود اینفیلتراسیون لنفوسیتی امکان شناسایی وجود داشت.

تی سای و همکارانش در سال ۲۰۰۵ گزارش نمودند که HSV1 با تومور خوش خیم پستان (فیبرآدنوما) رابطه

www.SID.ir

Archive of SID

داشت اما در تومورهای بدخیم پستان این رابطه مشاهده نشده است (۱۳). از این رو این ویروس به عنوان فاکتور خطر در ایجاد این نوع تومور معرفی گردید.از آنجایی که در پژوهش حاضر تمامی نمونه‌ها از نوع کارسینوم بودند این امر نتایج تی سای را محتمل نشان می‌دهد.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ توسط اقبالی و همکارانش بر روی ۲۴ نمونه کارسینوم و ۲۴ نمونه فیبرآدنوم انجام شد در مجموع ۲ نمونه در نمونه‌های کارسینوم و ۲ نمونه در نمونه‌های فیبـــرآدنوم به ویروس HSV آلوده بودنـــد. در این تحقـیق فقط از نمونه‌های پارافینه استفاده شده و تکنیک مورد استفاده PCR بوده است (۱۴). علت اختلاف بین نتایج اقبالی و این پژوهش با توجه به اینکه محل نمونه‌گیری اقبالی ازبیمارستان فیروزگر تهران بوده و فقط از بافت پارافینه استفاده شده است این امکان وجود دارد که به علت پراکندگی متفاوت ویروس در نقاط مختلف کشورو یا وجود نمونه‌های مثبت به علت آلودگی در اثر تماس با محیط در هنگام پارافینه کردن یا مراحل انتقال در آزمایشگاه بیمارستان یا محل استخراج باشد.

در مطالعه‌ای که توسط کلر و همکارانش به منظور مقایسه افراد مبتلا به سرطان خوش‌خیم پستان با افراد سالم انجام شد، نشان داد که HSV1 ارتباط نزدیکی با نوع خوش‌خیم سرطان پستان از نوع خانوادگی دارد (۱۵). با توجه به بدخیم بودن نمونه‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر و با توجه به نتایج حاصل از پژوهش تی سای نتاج به دست آمده توسط کلر محتمل می‌باشد.

از دیگر جنس‌های خانواده هرپس ویریده که نقش آنها در سرطان پستان ثابت شده ویروس EBV است. از ۳۲ مورد مطالعه‌ای که به منظور بررسی تاثیر ویروس هرپس تیپ IV (EBV) در سرطان پستان با استفاده از تکنیک PCR انجام شد، ۲۲ مورد مطالعه از لحاظ حضور این ویروس مثبت اعلام شد (۱۶-۲۴) و ۱۰ مورد مطالعه منفی اعلام شد (۲۵-۲۹). با توجه به تعداد بالای نتایج مثبت گزارش شده این احتمال وجود دارد که این تیپ از خانواده هرپس در سرطان‌زایی نقش داشته باشند، اگرچه این پژوهش‌ها از لحاظ تکنیک مورد استفاده با پژوهش حاضر مطابقت دارد ولی از آنجایی که هیچ کدام به تاثیر حضور HSV1 یا HSV2 از خانواده هرپس ویریده نپرداخته است نمی‌توان آن را دلیلی بر تاثیر هرپس تیپ I و II بر سرطان پستان دانست. تعداد کمی مطالعات هم در زمینه تاثیر ویروس هرپس تیپ V (CMV) در سرطان پستان با استفاده از تکنیک PCR انجام شده است که از مجموع ۷ مورد مطالعه، ۶ مورد از لحاظ حضور این ویروس مثبت اعلام شدند (۳۰-۳۳) و تنها یک مورد مطالعه منفی اعلام شد (۳۴).

پژوهش حاضر حاکی از عدم ارتباط ویروس HSV با سرطان پستان می‌باشد با این وجود تحقیقات دیگری در زمینه ارتباط ویروس هرپس سیمپلکس با ایجاد سرطان در سایر اعضا بدن صورت پذیرفت که در این پژوهش‌ها نیز ارتباط معناداری بین این ویروس و سرطان زایی یافت نشد، به عنوان مثال هایدشیم و همکارانش نشان دادند که اگرچه عفونت HSV2 از یک میزان بالایی در نئوپلازیای سرویکس برخوردار است (۳۵). با این وجود این ویروس نمی‌تواند به طور مستقیم در فرایند انکوژنیک نقش داشته باشد (۳۶). همان‌طور که در این پژوهش گفته شده و با پژوهش حاضر نیز مطابقت دارد این ویروس نمی‌تواند به طور مستقیم در فرایند انکوژنیک نقش داشته باشد. مطالعات صورت گرفته تا کنون ارتباط مستقیم بین این ویروس و تومورزایی پستان را ثابت نکرده است. پیشنهاد می‌شود با توجه به قابلیت سرطان‌زایی، ویروس‌های دیگر خانواده هرپس مورد بررسی قرار گیرند. همچنین به منظور تایید نتایج حاصله از تکنیک ساترن بلات یا هیبریداسیون DNA استفاده شود. از طرفی با توجه به پراکندگی متفاوت ویروس در نقاط مختلف کشور این پژوهش به صورت گسترده‌تر و در نقاط دیگر کشور نیز صورت پذیرد.

نتیجه گیری

با توجه به عدم مشاهده ویروس HSV در در هیچ یک از بیماران مورد مطالعه و همچنین با استنباط از سایر پژوهش‌های صورت گرفته می‌توان بیان داشت که این ویروس در ایجاد سرطان پستان (کارسینوما) نقش نداشته و هیچگونه ارتباط معناداری بین این ویروس و سرطان‌زایی یافت نشده است البته با توجه به حضور سایر تیپ‌های هرپس ویروس در سرطان پستان و وجود نتایج تایید کننده توسط سایر پژوهش‌های صورت گرفته نمی‌توان از تاثیر تیپ IV و V هرپس ویروس‌ها در سرطان‌زایی صرف‌نظر کرد.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Parkin M, Bray F, ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics. Lancet oncol 2001; 2:533-43.
2. Seedhom A, Kamal N. Factors affecting survival of women diagnosed with breast cancer. International journal of preventive medicine 2011; 2(3): 131-38.
3. Antonio A, Easton, D. Models of genetic susceptibility to breast cancer. oncogene 2006; 25(43): 898-905.
4. Walsh T, king M. Ten genes for inherited breast cancer. Cancer cell 2007; 11:103-5.
5. Honrado E, Benitez J, Palacios J. The molecular pathology of hereditary breast cancer: genetic testing and therapeutic implications. Mod Pathol 2005; 18: 1305-20.
6. Hennig E, Dilonrado A, Venuti A, Holm R, Marcanete M, Nesland J. HPV 16 in multiple neoplastic lesions in women with CINIII. J Exp Clin Cancer Res 1999; 18:369-77.
7. Jarząb M. Optimization of the Method of RNA Isolation from Paraffin Blocks to Assess Gene Expression in Breast Cancer. Pol J Pathol 2008; 59(2): 85-91.
8. Jawetz A. Medical microbiology. Geo: Califfornia 2007.
9. Ergazaki M, Xinarianos G, Giannoudis A, Markomichelakis N, Tsamparlakis J, Spandidos D. Detection of HSV, CMV and EBV by the polymerase chain reaction technique in patients with inflammatory eye diseases. Oncology reports 1994; 1207-10.
10. Zaravinos A, Bizakis J, Spandidos A. Prevalence of papilloma virus and Human herpes virus type 1-7 in human nasal polyposis. Journal of Medical virology 2009; 81:1613-18.
11. Parker S, Tong T, Bolden S,Wingo P. Caner statistics. Cancer J Clin.1997; 47(2):5-27.
12. Cotron S, Rabbins R. Patologic basis of disease 7th ed. Philad: united state 1999.
13. Yang Y, Koh L, Tsai C, Wong E, Lin S, Yang C. Correlation of viral factors with cervical cancer in Taiwan. Microbiol Immunol Infect 2004; 37:282-87.
14. Tsai J, Tsai C, Cheng M, Lin S, Xu F, Yang C. Association of viral factors with non-familial breast cancer in Taiwan by comparison with non-cancerous, fibroadenoma, and thyroid tumor tissues. Journal of medical virology 2005; 75(2): 276-81.
15. Eghbali M, Ghane M, Mirinargesi M. Frequency of cytomegalovirus (CMV) in benign and malignant tumors. Molecular and Clinical Microbiology 2012; 2:175-79.
16. Kleer C, Tseng M, Gutsch D, Rochford R, Wu Z, Joynt L, Helvie M, Chang T, VanGolen K, Merajver S. Detection of Epstein-Barr virus in rapidly growing fibroadenomas of the breast in immunosuppressed hosts. Mod Pathol 2002; 15:759-64.
17. Tsai J, Tsai C, Cheng M, Lin S, Xu F, Yang C. Association of viral factor with non-familial breast cancer in Taiwan by comparison with non-cancerous; fibroadenoma and thyroid tumor tissue. J Med 2005; 75:276-81.
18. Bonnet M, Guinebretiere J, Kremmer E. Detection of Epstein-Barr virus in invasive breast cancers. Journal of the National Cancer Institute 1999; 91:1376-81.
19. Fina F, Romain S, Ouafik L, Palmari J, Ayed F, Benharkat S. Frequency and genome load of Epstein-Barr virus in 509 breast cancers from different geographical areas. Br J Cancer 2001; 84(6):783-90.
20. Xue S, Lampert I, Haldane J, Bridger J, Griffin B. Epstein- Barr virus gene expression in human breast cancer: protagonist or passenger. Br J Cancer 2003; 89(1):113-19.
21. Mazouni C, Fina F, Romain S, Ouafik L, Bonnier P, Brandone J. Epstein-Barr virus as a marker of biological aggressiveness in breast cancer. Br J Cancer 2011; 104(2): 332-37.
22. Perkins R, Sahm K, Marando C, Dickson-Witmer D, Pahnke G, Mitchell M. Analysis of Epstein- Barr virus reservoirs in paired blood and breast

www.SID.ir

Archive of SID

cancer primary biopsy specimens by real time PCR. Breast cancer research: BCR 2006; 8(6):R70.

23. Hachana M, Amara K, Ziadi S, Romdhane E, Gacem RB, Trimeche M. Investigation of Epstein-Barr virus in breast carcinomas in Tunisia. Pathology, research and practice 2011; 207(11):695-700.

24. Horiuchi K, Mishima K, Ohsawa M, Aozasa K. Carcinoma of stomach and breast with lymphoid stroma: localisation of Epstein-Barr virus. J Clin. Pathol 1994; 47: 538-40.

25. Glenn W, Heng B, Delprado W, Iacopetta B, Whitaker N, Lawson J. Epstein-Barr virus, human papillomavirus and mouse mammary tumour virus as multiple viruses in breast cancer. PloS one 2012; 7(11):e48788.

26. Perrigoue J, Boon J, Friedl A, Newton M, Ahlquist P, Sugden B. Lack of association between EBV and breast carcinoma. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention 2005; 14(4): 809-14.

27. Morales A, Molina T, Martinez J, Hernandez P, Mantilla A, Leal Y. No association between Epstein- Barr Virus and Mouse Mammary Tumor Virus with breast cancer in Mexican women. Scientific reports 2013; 3:2970.

28. Antonsson A, Bialasiewicz S, Rockett R, Jacob K, Bennett I, Sloots T. Exploring the prevalence of ten polyomaviruses and two herpes viruses in breast cancer. PloS one 2012; 7(8):e39842.

29. Gaffey M, Frierson H, Medeiros L, Weiss L. The relationship of Epstein-Barr virus to infection-related (sporadic) and familial hemophagocytic syndrome and secondary (lymphoma-related) hemophagocytosis: an in situ hybridization study. Human pathology 1993; 24(6):657-67.

30. Baltzell K, Buehring G, Krishnamurthy S, Kuerer H, Shen H, Sison J. Epstein-Barr virus is seldom found in mammary epithelium of breast cancer tissue using in situ molecular methods. Breast cancer research and treatment 2012; 132(1):267-74.

31. Tsai J, Tsai C, Cheng M, Lin S, Xu F, Yang C. Association of viral factor with non-familial breast cancer in Taiwan by comparison with non-cancerous; fibroadenoma and thyroid tumor tissue. J Med 2005; 75:276-81.

32. Harkins E, Matlaf L, Soroceanu L, Klemm K, Britt W,Wang W, Bland K, Cobbs C. Detection of human cytomegalovirus in normal and neoplastic breast epithelium. Herpesviridae 2010; 1(8):1-10.

33. Taher C, Boniface J, Mohammad A, Religa P, Hartman J, Yaiw K. High prevalence of human cytomegalovirus proteins and nucleic acids in primary breast cancer and metastatic sentinel lymph nodes. PloS one 2013; 8(2):e56795.

34. Eghbali M, Ghane M, Mirinargesi M, Zare mehrjardi A. Detection of herpes simplex virus (Hsv2) among benign and malignant breast tumor . Asian journal of Biological Sciences 2012; 153-57.

35. Antonsson A, Bialasiewicz S, Rockett R, Jacob K, Bennett I, Sloots T. Exploring the prevalence of ten polyomaviruses and two herpes viruses in breast cancer. PloS one 2012; 7(8):e39842.

36. Hildesheim A, Mann V, Brinton L, Szklo M, Reeves W, Rawls W. Herpes simplex virus type 2: A possible interaction with human papilloma virus types 16/18 in the development of invasive cervical cancer. Int J Cancer 1991; 49:335-40.

37. Yang Y, Koh L, Tsai J, Tsai C, Wong E, Lin S, Yang C. Involvement of viral and chemical factors with oral cancer in Taiwan. Jpn J Clin. Oncol 2004; 34:176-83.

www.SID.ir