Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 10, Number 1 (March-April)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Detection and Prevalence of Herpes Simplex Virus and Papilloma Virus from Bladder Cancer Tissue by PCR from Doctor Gharazi Hospital, Malayer - Hamadan in 2014

Seyed Mojtaba Hashemi Dezfoli , Masoud Ghane

Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Tonekabon branch, Tonekabon, Iran

Article Information

Article history:
Received: 2015/01/19
Accepted: 2015/05/03
Available online:2015/06/28

Article Subject:
Medical Virology

IJMM 1395; 10(1): 56-65

Corresponding author at:
Dr Masoud Ghane

Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Tonekabon branch, Tonekabon, Iran

Tel:
+98 115 4270514

Email:
masoodghane@gmail.com

Abstract

Background and Aim: Bladder cancer is the fourth most common cancer in men and the eighth form of cancer in women. Role of the viral infections risk has been much discussed in recent years. Therefore the aim of this study was to optimize a method based on polymerase chain reaction to detect and evaluate prevalence of herpes simplex virus and papilloma virus in bladder tumors

Materials and Methods: forty cases of of the bladder TCC carcinoma in the paraffin from the pathology department of the Doctor Gharazi hospital, malayer were collected in the summer 2014. After deparaffin samples, DNA was extracted from the tissue and the beta-globin gene was amplification for the accuracy of the DNA extracted. The gene specific primers for HPV L1 protein and UL130 gene using by PCR for HSV. To examine the relationship between viruses and cancer incidence, was used chi-square test (X^2).

Results: From 40 Carcinoma samples studied 15 cases (47.39%) were men infected with HPV virus, None of the women surveyed have been infected with HPV. HSV wasn't detected in 40 samples collected.

Conclusions: Considering that independence validation of chi-square test equal to 0.664, and greater than 0.05, correlation between the incidence of HPV virus and no bladder tumor with 95% trust. We also compare the results with in other parts of the world, a lower incidence of HPV infection compared to some other countries were reported.

Key Words: Bladder Carcinoma, PCR, HSV, HPV

Copyright © 2016 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

Ar

How to cite this article:

Hashemi Dezfoli S M, Ghane M. Detection and Prevalence of Herpes Simplex Virus and Papilloma Virus from Bladder Cancer Tissue by PCR from Doctor Gharazi Hospital, Malayer - Hamadan in 2014. Iran J Med Microbiol. 2016; 10 (1) :56-65

www.SID.ir

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران
سال ۱۰، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۵
Journal homepage: www.ijmm.ir

تشخیص و بررسی فراوانی هرپس سیمپلکس ویروس و پاپیلوما ویروس در تومورهای مثانه با روش PCR از نمونه های بافت بیمارستان دکتر غرضی ملایر همدان در سال ۱۳۹۳

سید مجتبی هاشمی دزفولی، مسعود قانع

گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۹
پذیرش: ۱۳۹۴/۰۴/۰۷
انتشار آنلاین: ۱۳۹۴/۱۲/۲۱
موضوع:
ویروس‌شناسی پزشکی
IJMM 1395; 10(1): 56-65

نویسنده مسئول:
دکتر مسعود قانع
گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران
تلفن: ۰۱۱۵۴۲۷۰۵۱۴
پست الکترونیک:
masoodghane@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: سرطان مثانه چهارمین سرطان شایع در مردان و هشتمین نوع سرطان در زنان است. نقش عفونتهاي ويروسي، در ابتلای به این سرطان در سالهاي اخير بسيار مورد بحث قرار گرفته است، لذا هدف این مطالعه، طراحی یک روش مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلی مراز است که برای بررسی فراوانی هرپس سیمپلکس ویروس و پاپیلوما ویروس در تومورهای مثانه بهنیه شده است.

مواد و روش ها: ۴۰ نمونه کارسینوم مثانه از نوع TCC ، به شکل پارافینه شده از بخش پاتولوژی بیمارستان دکتر غرضی ملایر در تابستان ۹۳ جمع آوری گردید. پس از دپارافینه کردن نمونه ها، DNA از بافت استخراج و از تکثیر ژن بتا گلوبین برای صحت DNA ی استخراج شده استفاده شد. سپس از پرایمر های اختصاصی ژن پروتئین L1 برای HPV و ژن UL۱۳۰ برای HSV به کمک تکنیک PCR استفاده شد. برای بررسی رابطه بین میزان فراوانی ویروسها و سرطان مثانه، از آزمون کای دو استفاده شد.

یافته‌ها: از ۴۰ نمونه کارسینوم مورد مطالعه ۱۵مورد (۳۹/۴۷٪) مرد به ویروس HPV مبتلا بودند و هیچکدام از زنان مورد بررسی به ویروس HPV مبتلا نبوده اند. همچنین در ۴۰ نمونه جمع آوری شده HSV مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: باتوجه به اینکه مقدار اعتبارسنجی آزمون استقلال کای دو، برابر با ۰/۶۶۴ و بزرگتر از ۰/۰۵ شده است در سطح اطمینان ۹۵٪ رابطه ای بین میزان فراوانی ویروس HPV و تومور مثانه وجود ندارد. همچنین با مقایسه نتایج حاضر با یافته های مطالعات انجام شده در سایر نقاط جهان شیوع پایین تر عفونت HPV مقایسه با برخی کشور ها گزارش می شود.

کلمات کلیدی: کارسینوم مثانه، HPV، HSV، PCR

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

هر ساله بیش از دوازده میلیون نفر از مردم سراسر دنیا به بیماري کشنده سرطان مبتلا شده و بیش از هفت میلیون نفر جان خود را از دست می دهند (۱). سرطان هزاران سال پیش شناسایی شده و بیش از پنجاه سال است که دانشمندان به طور گسترده ای در این زمینه تحقیق می کنند؛ اما امروز به دلیل افزایش آلودگی های محیط زیست تعداد بیشتری به آن مبتلا می شوند (۲). سرطان رشد کنترل نشده سلول های غیر طبیعی در هر نقطه از بدن است. این سلولهای غیر طبیعی سلول های سرطانی و یا سلولهای تومور نامیده می شوند (۳). بسیاری از سرطان ها و سلول های غیر طبیعی که در بافت های سرطانی هستند با نام بافتی که سلول های سرطانی از آنجا نشات گرفته‌اند نامگذاری می شوند مانند: سرطان مثانه، سرطان پستان، سرطان ریه و ... . غالبا سلولهای سرطانی می توانند از محل خود جدا شده و از طریق سیستم خون و لنف به نقاط دیگر بدن مهاجرت کند و در سایر اندام های بدن قرار بگیرد (۴, ۳). این فرایند که در آن سلول های سرطانی به نقاط دیگر بدن رفته و رشد می کنند متاستاز نامیده می شود(۵). اگر سرطان درمان نشود باعث

www.SID.ir

گسترش، محاصره کردن بافت و بوجود آمدن سرطان می شود، اما در صورتی که سرطان در مراحل اولیه تشخیص داده شود تا حدودی قابل درمان و کنترل می باشد. از انواع سرطان های کشنده شایع، سرطان مثانه است (۶, ۷).

سرطان مثانه دومین سرطان شایع دستگاه تناسلي- ادراري در بزرگسالان محسوب شده و در بعضی مناطق جهان، مثل آفریقا، شایع‌ترین سرطان بشمار می آید . این سرطان چهارمین سرطان شایع در مردان و هشتمین نوع سرطان در زنان است و شیوع آن در مردان حدود ۳ برابر زنان گزارش شده است (۸). در کشورهاي صنعتي مثل آمریکا، کانادا و فرانسه بیش از ۹۰٪ موارد سرطان مثانه از نوع کارسینومای سلول انتقالی است، اما درکشورهاي در حال توسعه ۹۵ ٪ موارد سرطان مثانه از نوع کارسینومای سلول موزائیکی است که توسط شیستوزوما ایجاد مي شود (۹).

سرطان مثانه به دو حالت سطحی و عضلات تهاجمی تقسیم می شوند که با داشتن سوابق، نتایج درمان در اولی بهتر بوده است. درمان اولیه برای سرطان مثانه برداشت تومور مثانه، حذف تومور و اطلاعات در مورد مراحل و درجات تومور می باشد (۱۰). تومورهای سطحی درجه پایینی دارند و با برداشتن تومور و در کنار آن استفاده از داروهای شیمی درمانی باعث کاهش عود درمان می شوند. سیستکتومی رادیکال بهترین شانس درمان در بیماران مبتلا به بیماری مهاجم به عضله را فراهم می کند (۱۱).

برخی از محققین فرض کرده اند که ناهنجاری های کروموزومی خاص و جهش، نقش قطعی در توسعه سرطان مثانه دارد، در حالی که دیگر تغییرات نیز با پیشرفت تومور ارتباط هستند (۱۲, ۱۳). سرطان مثانه انسان به عنوان یک مدل از بدخیمی های اپی تلیال مشترک است که با توسعه و پیشرفت شرایط میکروسکوپی درون یوروتلیال قابل تشخیص می باشد (۱۱).

عوامل کارسینوژنیک و کوکارسینوژنیک متعددی در ایجاد کارسینومای مثانه دخیل مي باشند که از جمله آنها مي توان به سن، جنس، استعمال دخانیات، مصرف الکل، نوع شغل افراد (کارگران صنایع شیمیایي، رنگ سازي، نفت و ...)، مصرف طولاني مدت داروهاي مسکن و ضد سرطان، تماس با موادي مثل بنزیدین، هیدروکربن های پلی سیکلیک آروماتیک، تماس با آرسنیك (در منابع آبي)، عفونت شیستوزومایي، عفونتهای ویروسی و یکسري وقایع ناشناخته کروموزومي اشاره نمود که از میان آنها نقش عفونتهاي ویروسي، در سالهاي اخیر بسیار مورد بحث قرارگرفته است (۱۴, ۱۵).

ویروس ها قادر اند ایجاد سرطان کنند که به عنوان، ویروس‌های انکوژن شناخته می شوند (۱۶). شواهد نشان داده که ویروس های انکوژن به طور منظم در سلول های تومور وجود دارند که ممکن است بخشی از ژنوم خود و یا کل ژنوم خود را در سلول اینتگره کرده باشد (۱۷). در بسیاری از موارد یک یا چند ژن ویروس در سلول های توموری بیان شده و پروتئین های ویروس را می توان در سلول های توموری شناسایی کرد. این نوع ویروس ها در سراسر جهان یافت می شوند و برخی از آنها بسیار رایج اند، هرچند شیوع برخی بین مناطق مختلف متفاوت است. ممکن است این ویروسها تنها یکی از عوامل سرطان به حساب بیایند و هیچ شواهدی وجود ندارد که قرار گرفتن ویروس در سلول باعث ایجاد سرطان می شود (۱۷, ۱۸).

از انواع ویروس هایی که در ایجاد سرطان نقش دارند می‌توان به: پاپیلوما ویروس، پولیوما ویروس، هرپس سیمپلکس ویروس، اپشتاین بار ویروس و کاپوزی سارکوم کابوزیویروس ویروس اشاره کرد (۱۹). گزارش های متعددی درباره وابستگی ابتلا به ویروس های HSV و HPV و سرطان مثانه ارائه شده است. بنابراین هدف این مطالعه، طراحی یک روش مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلی مراز است که برای بررسی فراوانی هرپس سیمپلکس ویروس و پاپیلوما ویروس در تومورهای مثانه بهنیه شده است.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه ها و دپارافینه کردن و استخراج DNA از بافت

این مطالعه از نوع آزمایشگاهی بود و در آن ۴۰ نمونه کارسینوم مثانه از نوع TCC، به شکل پارافینه شده از بخش پاتولوژی بیمارستان دکتر غرضی ملایر در تابستان ۹۳ جمع آوری گردید. تشخیص نوع کارسینوم و درجه تومور به کمک متخصص پاتولوژی و بر اساس سیستم طبقه بندی ریچاردسون اجرا گردید. اطلاعات دموگرافیک بیماران شامل: سن، جنس، نوع و مرحلة تومور از پرونده بیماران استخراج شد .

برای دپارافینه کردن ابتدا از بلوک های پارافینه توسط تیغ میکروتوم (N:۳۵) استریل به کمک دستگاه میکروتوم برش های ۵ میکرونی تهیه گردید و درون ظروف استریل منتقل شد. سپس

Archive of SID

www.SID.ir

برش ها در محلول زایلن (مرک- آلمان) به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند تا دپارافینه شوند. به منظور آبگیری، نمونه ها به ترتیب به مدت ۱۰ ثانیه در اتانول ۱۰۰، ۸۰، ۶۰، ۴۰ درصد (مرک- آلمان) قرار داده شدند. بافت های به دست آمده در میکروتیوب های استریل منتقل و تا انجام فرآیند استخراج DNA در ۲۰- درجه سلسیوس قرار داده شدند (۲۰).

استخراج DNA از بافت طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت High pure template DNA Kit (کیاژن) اجرا شد.

واکنش زنجیره ای PCR

واکنش زنجیره ای پلی مراز برای تکثیر ژن بتا گلوبین انسانی

این مرحله به منظور اطمینان از صحت استخراج و سالم بودن DNA استخراج شده، انجام گرفت. پرایمرهای مورد استفاده در این مرحله (جدول ۱) که پس از استخراج از مقالات علمی (۲۱)، توسط شرکت Tag Copenhagen-Denmark (دانمارک) سنتز گردیدند.

جدول ۱ : توالی پرایمر بتا گلوبین انسانی

نام پرایمر	توالی پرایمری	سایز قطعه (bp)
Betaglobin-F	5(TCCAACATCAACATCTTGGT)3	۱۲۲
Betaglobin-R	5(TCCCCCAAATTCTAAGCAGA)3	

مخلوط واکنش PCR برای انجام یک واکنش با حجم ۲۰ میکرولیتر به این صورت تهیه گردید ۱۰ میکرولیتر Master mix، ۱ میکرولیتر پرایمر رفت، ۱ میکرولیتر پرایمر برگشت با غلظت (۱۰ pmol) ۳ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۵ میکرولیتر از DNA الگو. جهت آغاز فرآیند پلی مریزاسیون دستگاه ترمال سایکلر به مدت ۵ دقیقه بر روی ۹۵ درجه سیلسیوس تنظیم گردید. متعاقب آن ۳۵ سیکل PCR به صورت ۹۵ درجه سیلسیوس برای ۴۵ ثانیه، ۵۵ درجه سیلسیوس برای ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سیلسیوس برای ۴۰ ثانیه اجرا شد. در نهایت به مدت ۵ دقیقه نیز عمل طویل سازی نهایی در ۷۲ درجه سیلسیوس اجرا گردید.

تکثیر ژنوم هرپس سیمپلکس ویروس

به منظور اجرای رونـد PCR، از کیت تجاری Primer Taq Premix (2X) (Genet bio- made in korea) استفاده گردید. مخلوط واکنش PCR برای انجام یک واکنش با حجم ۲۰ میکرولیتر به این صورت تهیه گردید (جدول ۲) ۱۰ میکرولیتر Master mix، ۱ میکرولیتر پرایمر برگشت، ۱ میکرولیتر پرایمر رفت (جدول ۲)، ۳ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۵ میکرولیتر از DNA الگو.

جدول ۲ : توالی پرایمر هرپس سیمپلکس ویروس برای تکثیر ژن UL۱۳۰ (۲۲)

نام پرایمر	توالی پرایمری	سایز قطعه (bp)
HSV F	5(CAGTACGGCCCCGAGTTCGTGA)3	۴۷۸
HSV R	5(TTGTAGTGGGCGTGGTAGATG)3	

جهت آغاز فرآیند پلی مریزاسیون دستگاه ترمال سایکلر به مدت ۵ دقیقه بر روی ۹۵ درجه سلسیوس تنظیم گردید. متعاقب آن ۴۰ سیکل PCR به صورت ۹۵ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه، ۶۵ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس برای ۴۰ ثانیه اجرا گردید. در خاتمه به مدت ۵ دقیقه نیز عمل طویل سازی در ۷۲ درجه سلسیوس اجرا گردید. در نهایت نمونه ها تا اجرای الکتروفوروزیس در دمای ۲۰- درجه سلسیوس قرار داده شدند.

تکثیر ژنوم پاپیلوما ویروس

به منظور اجرای رونـد PCR، از کیت تجاری Primer Taq Premix (2X) استفاده گردید. مخلوط واکنش PCR برای انجام یک واکنش با حجم ۲۰ میکرولیتر، به این صورت تهیه گردید: ۱۰ میکرولیتر Master mix، ۱ میکرولیتر پرایمر برگشت (جدول ۳)، ۱ میکرولیتر پرایمر رفت (جدول ۳) و ۵ میکرولیتر از DNA الگو جهت آغاز فرآیند پلی مریزاسیون توسط دستگاه ترمال سایکلر به مدت ۵ دقیقه بر روی ۹۵ درجه سلسیوس تنظیم گردید. متعاقب آن ۴۰ سیکل PCR به صورت ۹۵ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه، ۵۴ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه اجرا گردید. در خاتمه به مدت ۵ دقیقه نیز عمل طویل سازی نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس اجرا گردید. در نهایت نمونه ها تا اجرای الکتروفوروزیس در ۲۰- در جه سلسیوس قرار داده شدند.

تمام محصولات PCR برای بررسی های نهایی بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ برده شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳: توالی پرایمر پاپیلوما ویروس برای تکثیر ژن پروتئین L1 (۲۲)

نام پرایمر	توالی پرایمری	سایز قطعه (bp)
HPV-GP5	5(TTTGTTACTGTGGTAGATACTAC)3	۱۷۵
HPV-GP6	5(GAAAAATAAACTGTAAATCATATTC)3	

بررسی اطلاعات دموگرافیک و اپیدمیولوژیک

در این بخش به منظور توصیف ویژگی های نمونه، ابتدا داده‌های جمع آوری شده با استفاده از شاخص های آمار توصیفی، خلاصه و نتیجه گیری می شد. سپس با آمار استنباطی به تایید یا رد فرضیه ها پرداختیم و از این طریق نتایج حاصله از مشاهدات نمونه انتخابی به جامعه تعمیم دادیم.

نتایج و یافته ها

بررسی اطلاعات دموگرافیک و اپیدمیولوژیک

در این مطالعه از تعداد ۴۰ نمونه بدست آمده ۳۸ نفر (۹۵٪) از افراد مورد بررسی مرد و ۲ نفر (۵٪) از آنها زن بودند. میانگین سنی بیماران مبتلا به سرطان مثانه شامل گروه سنی ۳۰ تا ۵۰ سال ۸ نفر (۲۰٪) و بالای ۵۰ سال ۳۲ نفر(۸۰٪) بود. تمام نمونه های مورد مطالعه از نوع کارسینوم سلول انتقالی TCC بودند.

۲ نفر (۵٪) از بیماران در مرحله خوش خیم و غیرتهاجمی، ۱نفر (۲/۵٪) در مرحله I ، ۲۷ نفر (۶۷/۵٪) در مرحله II ، ۶ نفر (۱۵٪) در مرحله III و ۴ نفر (۱۰٪) در مرحله IV تشخیص داده شدند.

در بین ۱۵ بیمار HPV مثبت، ۳ بیمار(۳۷/۵٪) در گروه سنی ۳۰-۵۰ سال و ۱۲ بیمار (۳۷/۵٪) دیگر در گروه سنی بالای ۵۰ سال قرار داشتند. (جدول ۴)

تکثیر ژن بتاگلوبین انسانی

جهت تایید حضور DNA و قابل PCR بودن آن از پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر ژن بتاگلوبین انسانی استفاده گردید. مشاهده قطعه pb ۲۲۱ نشان دهنده تکثیر قطعه ای از ژن بتاگلوبین انسانی است.

تشخیص عفونت HSV

جهت شناسایی DNA ویروس هرپس سیمپلکس در نمونه های بافت از تکنیک PCR استفاده شد. مشاهده قطعه bp ۴۷۸ نشان دهنده تکثیر DNA ویروس بود.

در مجموع از ۴۰ نمونه کارسینوم مورد مطالعه، هیچ نمونه ای از نظر حضور ویروس هرپس سیمپلکس مثبت نبودند.

تشخیص عفونت HPV

جهت شناسایی DNA ویروس پاپیلومای انسانی در نمونه های بافت از تکنیک PCR استفاده شد. مشاهده قطعه bp ۱۷۵ نشان دهنده تکثیر DNA ویروس بود.

همانطور که از داده های مشخص است؛ ۳۹/۴۷ درصد مردان مورد بررسی به ویروس HPV مبتلا هستند. لازم به توضیح است که هیچکدام از زنان مورد بررسی به ویروس HPV مبتلا نبوده اند. در مجموع از ۴۰ نمونه کارسینوم مورد مطالعه ۱۵مورد (۳۹/۴۷٪) از نظر حضور ویروس HPV مثبت بودند. ۳۹/۴۷ درصد مردان مورد بررسی به ویروس HPV مبتلا هستند. لازم به توضیح است که هیچکدام از زنان مورد بررسی به ویروس HPV مبتلا نبوده اند.

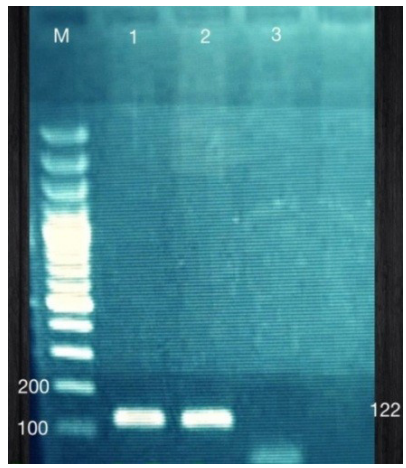
برای بررسی رابطه بین میزان فراوانی ویروس HPV و گروه سنی، از آزمون کای‌دو استفاده شد با توجه به اینکه مقدار P

جدول ۴: توزیع فراوانی ویروس HPV و سن بیماران

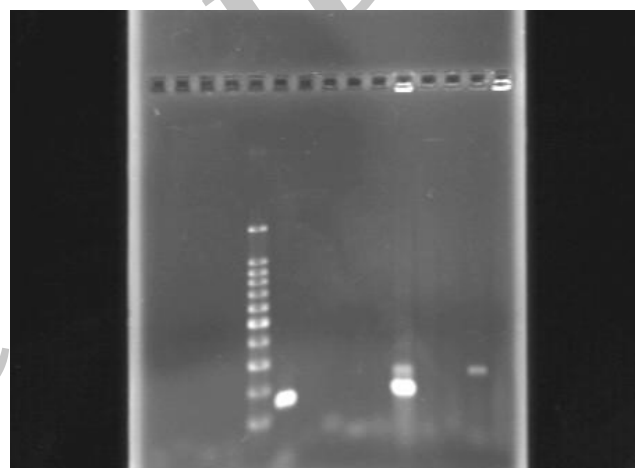
HPV	فراوانی / درصد	۳۰ تا ۵۰ سال	بالای ۵۰ سال	جمع کل
+HPV	فراوانی	۳	۱۲	۱۵
	درصد فراوانی	%۳۷/۵	%۳۷/۵	%۳۷/۵
-HPV	فراوانی	۵	۲۰	۲۵
	درصد فراوانی	%۶۲/۵	%۶۲/۵	%۶۲/۵
جمع کل	فراوانی	۸	۳۲	۴۰
	درصد فراوانی	%۱۰۰	%۱۰۰	%۱۰۰

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱ : آگاروز ژل الکتروفورزیس ژن بتاگلوبین: M سایز نشانگر استاندارد با وزن ۱۰۰ bp از شرکت فرمنتاز ، چاهک شماره ۱ و ۲ نمونه های تومور مورد بررسی، چاهک شماره ۳ کنترل منفی

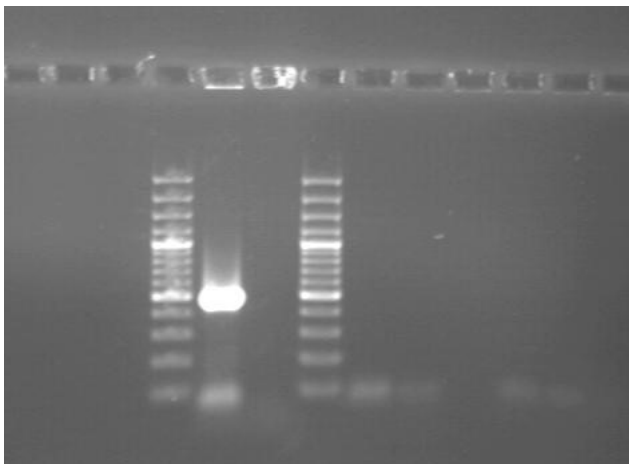


شکل ۳ : ژل الکترفورز اگاروز ویروس پاپیلومای انسانی: M سایز مارکر ۱۰۰ bp، چاهک سمت راست کنترل مثبت، چاهک شماره ۲ و ۳ نمونه های منفی، چاهک شماره ۵ نمونه مثبت

برای آزمون استقلال کای‌دو، برابر با ۰/۶۶۴ و بزرگتر از ۰/۰۵ شده است نتیجه می‌گیریم که در سطح اطمینان ۹۵٪ فرض پژوهش یعنی رابطه بین میزان ویروس HPV و گروه سنی تایید نمیشود و این بدان معنی است که بین میزان فراوانی ویروس HPV و گروه سنی رابطه وجود ندارد. همچنین رابطه بین میزان ویروس HPV و مرحله تومور تایید نمی شود و این بدان معنی است که بین میزان فراوانی ویروس HPV و مرحله تومور رابطه وجود ندارد.

بحث و نتیجه گیری

سرطان به طور فزآینده عاملی مهم بیماری افراد در دهه‌های آینده خواهد بود و انتظار می رود تعداد موارد جدید



شکل ۲ : ژل الکترفورز اگاروز هرپس سیمپلکس ویروس: M سایز مارکر ۱۰۰ bp، چاهک شماره ۱ کنترل مثبت، چاهک شماره ۶ کنترل منفی و چاهک شماره ۲ تا ۵ نمونه منفی

به ۱۵ میلیون نفر در سال ۲۰۲۰ میلادی افزایش یابد(۲۳). در حال حاضر سرطان عامل ۱۲٪ مرگ و میر در سرتاسر جهان می باشد. سرطان دومین عامل شایع مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته و سومین عامل شایع مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه (از جمله ایران) است (۲۳). بر اساس آخرین بررسی های آماری و اپیدمیولوژیک در ایران، سرطان بعد از بیماری های قلبی عروقی و حوادث غیر عمدی، سومین عامل مرگ و میر محسوب می‌شود، به طوری که سالانه بیش از ۳۰ هزار نفر از جمعیت ایران در اثر بیماری جان می بازند و تخمین زده شده سالانه بیش از ۷۰ هزار مورد جدید سرطان در کشور رخ می دهد (۲۴, ۲۵). از سویی، انتظار می رود با افزایش امید به زندگی و افزایش درصد سالمندی در جمعیت کشور، بروز سرطان نیز در یک دهه آینده به شدت افزایش یابد. (۲۴)

سرطان مثانه دومین سرطان شایع دستگاه تناسلي - ادراري در بزرگسالان محسوب شده و در بعضي از مناطق جهان، مثل آفریقا، شایع ترین سرطان بشمار مي آید. این سرطان چهارمین سرطان شایع در مردان و هشتمین نوع سرطان در زنان است. بیشتر از ۹۰ درصد از این تومورها، کارسینوم های سلول انتقالی (TCC) هستند در حالی که ۱۰ درصد باقی‌مانده، کارسینوم های سلول موزائیکی (SCC) و یا آدنوکارسینوم ها هستند (۲۴).

سرطان مثانه یکی از کشنده ترین سرطان های دستگاه ادراری است و وقوع سرطان مثانه در طول دهه‌های اخیر رو به افزایش بوده است در حالی که نقش احتمالی ویروس‌ها اخیراً با نتایج مثبتی مورد آزمایش قرار گرفته است.

www.SID.ir

هدف این بررسی، جستجوی رابطه احتمالی بین HPV و سرطان مثانه می باشد. شایع‌ترین نوع بافت‌شناسی سرطان مثانه، کارسینوم پیشابراه همراه با فرکانس ۹۵ درصدی است. ۹۰ درصد بدخیمی‌های مثانه از نوع TCC است. اخیراً یافته‌های متفاوتی، ارتباط بین عفونت HPV و TCC را اثبات کرده‌اند (۲۶, ۲۷).

تاکنون بر طبق تحقیقات انجام شده حضور DNA ویروس HPV در سرطان‌های تناسلی- ادراری مشاهده شده که این ویروس مسئول ایجاد تغییرات سلولی مثل Koilocytosis، بزرگی هسته همراه با atypia و یا ویژگی‌های چند هسته بودن سلول ها بوده است. علاوه بر این PCR، تکنیکی با حساسیت زیاد برای آشکارسازی ژنوم ویروسی می باشد. تحقیقات نشان داده‌اند که HPV ممکن است در پاتوژنی سرطان مثانه نقش داشته باشد. با بکارگیری از تکنیک PCR با حساسیت بالا می توان وجود HPV را در ایجاد سرطان مثانه آشکار ساخت. بالاترین میزان آشکار سازی HPV در کارسینوم پیشابراه در جنوب شرقی آسیا گزارش شده است و در اروپا و آمریکای شمالی با فرکانس ۳۹ درصدی گزارش گردیده است (۲۸).

ویروس HPV به نظر می رسد به علت شیوع بالای آن در تومور مثانه که در مطالعات اخیر دیده شده نشان داده شده که شیوع ۲ تا۳۵ درصدی را برای عفونت HPV در موارد مبتلا به سرطان مثانه نشان داده است. با استفاده از PCR، تحقیقی در ایران انجام شد که وجود HPV را در ۳۰/۶ درصد از نمونه‌های بافت TCC گزارش کرد (۲۹).

به نظر می رسد که توسعه سرطان ممکن است باعث عفونت HPV شود. غیر فعال شدن سرکوب کننده ی تومور، PRB توسط HPV مکانیسمی است که بوسیله آن HPV در سلول رشد می کند. پروتئین E6 وE7 در ویروس پاپیلوما نشان داده شده که باعث تکثیر سانتروزوم و کند و آهسته شدن کروموزوم در تقسیم میتوز شده و منجر به بی ثباتی کروموزومی شده و همین بی ثباتی بخش مهمی از تبدیل یک سلول طبیعی به سلول سرطانی می گردد.

در این مطالعه، که بر روی ۴۰ بیمار مبتلا به سرطان مثانه انجام شد، ۹۵٪ افراد مورد بررسی مرد و تنها ۵٪ آنها زن هستند که با توجه به اینکه در کل دنیا میزان ابتلا مردان به سرطان مثانه ۳ برابر زنان می باشد، این آمار نیز فرکانس محلی را برای این بیماری نشان می‌دهد که منطبق بر آمار جهانی می باشد.

همچنین ۲۰ درصد افراد مورد بررسی سن آنها بین ۳۰ تا ۵۰ سال و ۸۰ درصد آنها بالای ۵۰ سال سن دارند. همة نمونه های تومور نیز از نوع کارسینوم سلول انتقالی (TCC) می باشند.

در این مطالعه، از میان ۴۰ بیمار مبتلا به سرطان مثانه، ۱۵ مورد (۲۹/۴۷٪) از نظر حضور HPV مثبت بوده‌اند.

یافته هاي تحقیق حاضر موافق با یافته هاي تحقیق Barghi در سال ۲۰۱۲ و Youshya در سال ۲۰۰۵ است که شیوع HPV را در بیماران مبتلا به سرطان مثانه به ترتیب ۳۵/۶٪ و ۳۴/۷٪ گزارش نموده اند (۳۱, ۳۰). با مقایسه نتایج تحقیق حاضر با یافته های مطالعات انجام شده در سایر نقاط جهان در می‌یابیم که میزان شیوع عفونت HPV در ایران در مقایسه با برخی کشور ها مثل هلند (۱۵/۲٪)، یونان (۱۲٪)، آلمان (۱۹٪)، ترکیه (۴/۸٪) بیشتر بوده، اما از کشورهایی مثل فنلاند (۵۷٪) و چین (۴۴٪) کمتر است. در توجیه این تفاوت می توان به وجود جو فرهنگی خاص در کشور ایران و پایبندی مردم به اصول اخلاقی و مذهبی اشاره نمود. البته در کشور هایی مثل آلمان، هلند و دیگر کشورهای نام برده که درصد شیوع HPV کمتری نسبت به ایران دارند به نظر می رسد به دلیل آگاهی بیشتر مردم نسبت به بهداشت جنسی خود، رعایت اصول پیشگیری و مراجعه به موقع به مراکز درمانی در صورت وجود مشکلات احتمالی و همچنین وجود برنامه های دقیق پیشگیری و کنترل بیماری در این کشورها جهت کاهش ریسک عفونت های جنسی مزمن، میزان شیوع **HPV** ژنیتال کمتر است (۳۰).

با وجود مقالات متعدد در بیان وجود ارتباط بین HPV و سرطان مثانه، در مطالعات انجام شده در کشورهايي مثل فرانسه، انگلیس و آلمان هیچ ارتباط معنی داري بین این ویروس و سرطان مثانه یافت نشد. دیگر یافته تحقیق حاضر در مورد شیوع بیشتر سرطان مثانه در مردان بود. به طوري که تعداد بیماران مرد تقریبا ۴ برابر بیماران زن بود که این موافق با منابع موجود است که شیوع سرطان مثانه را در مردان ۳-۴ برابر زنان اعلام نموده اند.

درتحقیقی که توسط Burd و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی فراوانی ویروس پاپیلومای انسانی در سرطان مثانه در یک سری از بیماران تونسی با استفاده از روش PCR انجام گرفت، در ۱۲۵ مورد مطالعه از بافت تومور مثانه، هیچ نوع شواهدی از عفونت HPV توسط PCR در مورد کارسینوم مثانه، آشکار نشد (۳۲)،اما تحقیقات دیگری نشان داده‌اند که عفونت با HPV به

Archive of SID

www.SID.ir

خصوص تیپ ۱۶ آن ممکن است در سرطان مثانه نقش داشته باشد (۳۳).

تنوع جغرافیایی در شیوع HPV ممکن است به دلیل تفاوتهای ناشی از پس زمینه ژنتیک، عوامل خطر زیست محیطی از جمله رفتار جنسی، سیگار کشیدن و تفاوتهای قومی و فرهنگی باشد. در بعضی از گزارش ها مشاهده شده که ارتباط روشنی بین سرطان مثانه و عفونت با ویروس پاپیلوما وجود دارد، اما این برآوردها ممکن است بستگی به نوع HPV، منطقه ی مورد مطالعه، نوع بافت شناسی، روش تشخیص و ... متفاوت باشد (۳۳) و بعضی دیگر از نتایج ها حاکی از نبود ارتباط بین ویروس پاپیلوما با سرطان مثانه می باشد که گفته شده ویروس پاپیلوما به عنوان عامل کمکی برای ایجاد سرطان نیست، بلکه به عنوان شاهد می باشند (۳۴).

این مطالعه بر روی ۴۰ بیمار مبتلا به سرطان مثانه انجام شد. در این تحقیق که به منظور تعیین فراوانی ویروس HSV بر روی تومورهای مثانه انجام شد منجر به شناسایی این ویروس در تومور گردید. از ۴۰ نمونه تومور مورد مطالعه، در هیچ یک از نمونه های سرطان، ژنومHSV مشاهده نشد. ممکن است یک سطح نا کافی از ژن هدف برای HSV در نمونه مورد بررسی وجود داشته باشد.

همچنین پیشنهاد می شود به منظور اثبات کارسینوژن بودن تمامی این ویروس ها بهتر است همزمان با بررسی حضور DNA ویروس در نمونه های توموری از بخش های سالم بافت همان بیمار نیز نمونه برداری صورت گیرد و این دو با یکدیگر مقایسه شوند. همچنین پیشنهاد می شود برای تائید نقش کارسینوژن بودن ویروس ها در ایجاد سرطان مثانه اینفیلتراسیون لنفوسیتی برای هر نمونه توسط متخصص پاتولوژی بررسی شود.

در نهایت مطالعه حاضر نشان داد که باتوجه به اینکه مقدار اعتبارسنجی آزمون استقلال کای دو، برابر با ۰/۶۶۴ و بزرگتر از ۰/۰۵ شده است در سطح اطمینان ۹۵٪ رابطه ای بین میزان فراوانی ویروس HPV و تومور مثانه وجود ندارد. همچنین با مقایسه نتایج حاضر با یافته های مطالعات انجام شده در سایر نقاط جهان شیوع پایین تر عفونت HPV مقایسه با برخی کشورها گزارش می شود. پروتکل های تشخیص HSV و HPV نیز بهینه سازی شدند.

تقدیر و تشکر

با تشکر از جناب آقای دکتر بهمن نعمت گرگانی ریاست محترم بیمارستان غرضی ملایر همدان و آزمایشگاه پاتولوژی دانش جهت همکاری صمیمانه ایشان و با آرزوی توفیق روز افزون برای دکتر رضا گلیجانی مقدم که با حسن اخلاق و احساس مسئولیت بالا در راه تحقیق و پژوهش پشتیبان این پژوهش بودند.

تعارض منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

Reference

1. Thun MJ, DeLancey JO, Center MM, Jemal A, Ward EM. The global burden of cancer: priorities for prevention. Carcinogenesis. 2010;31(1):100-10.

2. Sudhakar A. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. J Cancer Sci Ther. 2009;1(2):1-4.

3. Allred DC. Ductal carcinoma in situ: terminology, classification, and natural history. J Natl Cancer Inst Monogr. 2010;2010(41):134-8.

4. Gupta GP, Massague J. Cancer metastasis: building a framework. Cell. 2006;127(4):679-95.

5. Scully OJ, Bay BH, Yip G, Yu Y. Breast cancer metastasis. Cancer Genomics Proteomics. 2012;9(5):311-20.

6. Murta-Nascimento C, Schmitz-Drager BJ, Zeegers MP, Steineck G, Kogevinas M, Real FX, et al. Epidemiology of urinary bladder cancer: from tumor development to patient's death. World J Urol. 2007;25(3):285-95.

7. Chamie K, Ballon-Landa E, Bassett JC, Daskivich TJ, Leventhal M, Deapen D, et al. Quality of diagnostic staging in patients with bladder cancer: A process-outcomes link. Cancer. 2014.

8. Yao B, Yan Y, Ye X, Fang H, Xu H, Liu Y, et al. Intake of fruit and vegetables and risk of bladder cancer: a dose-response meta-analysis of observational studies. Cancer Causes Control. 2014;25(12):1645-58.

9. Jin SM, Song SO, Jung CH, Chang JS, Suh S,

Archive of SID
www.SID.ir

Kang SM, et al. Risk of bladder cancer among patients with diabetes treated with a 15 mg pioglitazone dose in Korea: a multi-center retrospective cohort study. J Korean Med Sci. 2014;29(2):238-42.

10. Dang Q, Song W, Xu D, Ma Y, Li F, Zeng J, et al. Kaempferol suppresses bladder cancer tumor growth by inhibiting cell proliferation and inducing apoptosis. Mol Carcinog. 2014.

11. Richards KA, Smith ND, Steinberg GD. The importance of transurethral resection of bladder tumor in the management of nonmuscle invasive bladder cancer: a systematic review of novel technologies. J Urol. 2014;191(6):1655-64.

12. Liu Y, Kwiatkowski DJ. Combined CDKN1A/TP53 Mutation in Bladder Cancer Is a Therapeutic Target. Mol Cancer Ther. 2015;14(1):174-82.

13. Cazier JB, Rao SR, McLean CM, Walker AL, Wright BJ, Jaeger EE, et al. Whole-genome sequencing of bladder cancers reveals somatic CDKN1A mutations and clinicopathological associations with mutation burden. Nat Commun. 2014;5:3756.

14. Choi W, Porten S, Kim S, Willis D, Plimack ER, Hoffman-Censits J, et al. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy. Cancer Cell. 2014;25(2):152-65.

15. Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. Nature. 2014;507(7492):315-22.

16. Williams SV, Hurst CD, Knowles MA. Oncogenic FGFR3 gene fusions in bladder cancer. Hum Mol Genet. 2013;22(4):795-803.

17. Malone PR, Visvanathan KV, Ponder BA, Shearer RJ, Summerhayes IC. Oncogenes and bladder cancer. Br J Urol. 1985;57(6):664-7.

18. Parada LF, Tabin CJ, Shih C, Weinberg RA. Human EJ bladder carcinoma oncogene is homologue of Harvey sarcoma virus ras gene. Nature. 1982;297(5866):474-8.

19. Panagiotakis GI, Papadogianni D, Chatziioannou MN, Lasithiotaki I, Delakas D, Spandidos DA. Association of human herpes, papilloma and polyoma virus families with bladder cancer. Tumour Biol. 2013;34(1):71-9.

20. Hu W, Feng Z, Modica I, Klimstra DS, Song L, Allen PJ, et al. Gene Amplifications in Well-Differentiated Pancreatic Neuroendocrine Tumors Inactivate the p53 Pathway. Genes Cancer. 2010;1(4):360-8.

21. Zaravinos A, Bizakis J, Spandidos DA. Prevalence of human papilloma virus and human herpes virus types 1-7 in human nasal polyposis. J Med Virol. 2009;81(9):1613-9.

22. Detorakis ET, Kozobolis VP, Pallikaris IG, Spandidos DA. Detection of herpes simplex virus in pseudoexfoliation syndrome and exfoliation glaucoma. Acta Ophthalmologica Scandinavica. 2002;80(6):612-6.

23. Danaei G, Vander Hoorn S, Lopez AD, Murray CJ, Ezzati M, Comparative Risk Assessment collaborating g. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. Lancet. 2005;366(9499):1784-93.

24. Kolahdoozan S, Sadjadi A, Radmard AR, Khademi H. Five common cancers in Iran. Arch Iran Med. 2010;13(2):143-6.

25. Pourhoseingholi MA, Fazeli Z, Ashtari S, Bavand-Pour FS. Mortality trends of gastrointestinal cancers in Iranian population. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2013;6(Suppl 1):S52-7.

26. Shaker OG, Hammam OA, Wishahi MM. Is there a correlation between HPV and urinary bladder carcinoma? Biomed Pharmacother. 2013;67(3):183-91.

27. Smetana Z, Keller T, Leventon-Kriss S, Huszar M, Lindner A, Mitrani-Rosenbaum S, et al. Presence of human papilloma virus in transitional cell carcinoma in Jewish population in Israel. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 1995;41(8):1017-23.

28. Schmitz M, Driesch C, Jansen L, Runnebaum IB, Dürst M. Non-Random Integration of the HPV Genome in Cervical Cancer. PLoS ONE. 2012;7(6):e39632.

Archive of SID

www.SID.ir

29. Barghi MR, Hajimohammadmehdiarbab A, Moghaddam SM, Kazemi B. Correlation between human papillomavirus infection and bladder transitional cell carcinoma. BMC Infect Dis. 2005;5:102.

30. Barghi MR, Rahjoo T, Borghei M, Hosseini-Moghaddam SM, Amani D, Farrokhi B. Association between the evidence of human papilloma virus infection in bladder transitional cell carcinoma in men and cervical dysplasia in their spouses. Arch Iran Med. 2012;15(9):572-4.

31. Youshya S, Purdie K, Breuer J, Proby C, Sheaf MT, Oliver RT, et al. Does human papillomavirus play a role in the development of bladder transitional cell carcinoma? A comparison of PCR and immunohistochemical analysis. J Clin Pathol. 2005;58(2):207-10.

32. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. Clin Microbiol Rev. 2003;16(1):1-17.

33. Li N, Yang L, Zhang Y, Zhao P, Zheng T, Dai M. Human papillomavirus infection and bladder cancer risk: a meta-analysis. J Infect Dis. 2011;204(2):217-23.

34. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol. 1999;189(1):12-9.

Archive of SID

www.SID.ir