Archive of SID

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۷۹/هفته چهارم اردیبهشت ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱/۲۷

بررسی ارتباط پاپیلوماویروس انسانی تیپ ۶، ۱۱، ۱۶ و ۱۸ با سرطان پستان

مسعود دوستی[۱]، دکتر مهران بخشش[۲]، دکتر شکوه تقی‌پور ظهیر[۳]، دکتر علیرضا حاتمی[۲]، محمد شایسته‌پور[۴]، دکتر منصور مقیمی[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: پاپیلوماویروس یکی از عوامل ویروسی مطرح در بروز و تکامل سرطان پستان و سرویکس است. این مطالعه به منظور بررسی ارتباط تیپ‌های پرخطر ۱۶ و ۱۸ و کم خطر ۶ و ۱۱ پاپیلوماویروس انسانی (HPV یا Human papillomavirus) با بروز سرطان پستان در مراجعین زن بیمارستان شهید صدوقی شهر یزد صورت گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مورد– شاهدی، ۸۷ مورد بافت سرطانی پستان و ۸۴ مورد بافت پستانی بدون ضایعه‌ی بدخیمی (فیبروکیستیک) از مراجعین بیمارستان شهید صدوقی یزد انتخاب شدند. به منظور تعیین تیپ‌های پر خطر و کم خطر پاپیلوماویروس، ابتدا از روش Nested PCR (Nested polymerase chain reaction) و سپس PCR با پرایمرهای اختصاصی استفاده شد.

یافته‌ها: ۲۲/۹ درصد نمونه‌ها دارای ژنوم ویروس پاپیلوما بودند که ۱۸/۳ درصد آن‌ها دارای ژنوتیپ‌های موکوسی ۱۱، ۱۶، ۱۸ و ۶ بودند. بیشترین فراوانی ژنوتیپی پاپیلوما در کارسینوما داکتال مهاجم و مربوط به تیپ ۱۶ بود. به طور کلی، در بین ژنوتیپ‌های پیش‌گفته، تیپ ۶ فراوان‌ترین ژنوتیپ مرتبط با سرطان پستان بود (۳۵ درصد) و تیپ ۱۱ کمترین ارتباط را با این نوع سرطان (۵ درصد) داشته است.

نتیجه‌گیری: با انجام این مطالعه، ارتباط احتمالی عفونت ویروس پاپیلومای انسانی (به ویژه تیپ ۱۶) در بروز و تکامل بدخیمی‌های پستان در بیماران شهر یزد مورد تأیید قرار گرفت. بین نوع و فراوانی ژنوتیپ با نوع بافت و آسیب‌شناسی ارتباط معنی‌داری وجود نداشت.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، ژنوتیپ، ویروس پاپیلومای انسانی، آزمایش Polymerase chain reaction

ارجاع: دوستی مسعود، بخشش مهران، تقی‌پور ظهیر شکوه، حاتمی علیرضا، شایسته‌پور محمد، مقیمی منصور. **بررسی ارتباط پاپیلوماویروس انسانی تیپ ۶، ۱۱، ۱۶ و ۱۸ با سرطان پستان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۹): ؟؟

Proof Version

مقدمه

سرطان پستان یکی از شایع‌ترین سرطان‌های تشخیص داده شده در زنان اکثر نقاط جهان از جمله ایران می‌باشد. میزان بروز کارسینومای پستان در طی ۲۵ سال اخیر، افزایش بیش از ۴۰ درصد را نشان می‌دهد (۲-۱). علت اصلی سرطان پستان ناشناخته باقی مانده است. بسیاری از عوامل خطر در ارتباط با پاتوژنز این بیماری شناخته شده‌اندکه می‌توان به سابقه‌ی خانوادگی، هورمون‌ها و استعمال دخانیات اشاره کرد (۴-۳). اگر چه عوامل ژنتیکی در ایجاد سرطان مهم

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش تحقیق وتشخیص بیماری‌های ویروسی دام، مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران
۲– استادیار، بخش تحقیق وتشخیص بیماری‌های ویروسی دام، مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران
۳– دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران
۴- دانشجوی دکتری، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۵– استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مهران بخشش
Email: m.bakhshesh@ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

هستند، اما تنها مسبب ۱۰ درصد موارد سرطان پستان می‌باشند. بنابراین در اکثرموارد سرطان پستان، عوامل خطر محیطی نیز دخیل هستند. شواهدی مبنی بر افزایش بروز سرطان پستان در افراد مهاجر از کشورهایی با بروز پایین به نقاط جغرافیایی با بروز بالای سرطان پستان وجود دارد (۴).

عفونت‌های ویروسی نیز به عنوان عامل سببی محیطی در مطالعات مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۵). اطلاعات به دست آمده از این تحقیقات در بیوپسی‌های سرطان پستان و رده‌های سلولی متناقض می‌باشند. بیتنر و همکاران نشان دادند که ۳ عامل شامل عوامل ژنتیکی و ارثی، هورمونی و یک عامل منتقله از طریق شیر موش مادر در ایجاد تومور پستان در موش‌ها دخالت دارند (۳). مطالعات نشان دادکه این عامل قابل انتقال، ویروسی از خانواده‌ی رتروویروس‌ها به نام ویروس توموری موش (MMTV یا Mouse mammary tumor virus) می‌باشد (۶). سال‌ها بعد شواهدی مبنی بر دخالت ویروسی مشابه، به نام ویروس توموری همگون با انسان (Human homologue of the mouse mammary یا HHMMT) به عنوان عامل کمکی در روند ایجاد تومور پستان در انسان به دست آمد (۶). همچنین نقش ویروس‌های خانواده‌ی هرپس ویریده به عنوان عامل ایجاد این نوع سرطان مورد توجه قرار گرفته واین نتایج توسط سایر محققین مورد بحث است (۶-۷).

در دو دهه‌ی اخیر، شواهدی مبنی بر دخالت پاپیلوماویروس انسانی (HPV یا Human papillomavirus) در شروع و یا تحریک روند ایجاد سرطان پستان به دست آمده است (۸، ۵).

ارتباط بین ویروس پاپیلومای انسانی و تومورهای مقعدی- تناسلی به خصوص سرطان دهانه‌ی رحم به خوبی شناخته شده است، اما این ارتباط در مورد سرطان پستان به خوبی روشن نیست و نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه احساس می‌شود (۱۰-۹). با وجود مطالعات فراوان در این زمینه، نقش ویروس پاپیلومای انسانی در تومورهای بدخیم پستان مورد بحث و تناقص است. گزارش‌های متعددی حاکی از حضور ژنوم پاپیلوماویروس انسانی در سلول‌های سرطانی سینه هستند که شیوع تقریبی ۸۶-۴ درصد در نقاط مختلف جغرافیایی جهان را نشان می‌دهد (۱۳-۱۱).

حضور تیپ‌های پرخطر HPV-۱۸، HPV-۱۶ و HPV-۳۳ در نمونه‌های سرطان پستان از جمعیت‌های مختلف سراسر جهان مانند ایتالیا، چین، ژاپن،آمریکا، اتریش، برزیل، استرالیا، تایوان، ترکیه،کره و سوریه به اثبات رسیده است (۱۳-۱۲). با توجه به این که تحقیقات اندکی در این زمینه در کشور ایران صورت گرفته است، مطالعه‌ی حاضر جهت بررسی ارتباط تیپ‌های مهم پاپیلوماویروس انسانی (تیپ‌های ۶، ۱۱، ۱۶ و ۱۸) با سرطان پستان طراحی شد. نتایج این پژوهش نشان دهنده‌ی نقش احتمالی پاپیلوماویروس در ایجاد سرطان پستان به عنوان عامل اصلی یا کمکی است. این مطالعه، تعیین کننده‌ی فراوان‌ترین ژنوتیپ رایج موجود در تومورهای پستان در قسمتی از کشور ایران (شهر یزد) است. در صورتی که نتایج این پژوهش و تحقیقات بعدی در آینده، نقش پاپیلوماویروس را در ایجاد سرطان پستان پررنگ جلوه دهند، شاید بتوان با به کارگیری راهکارهای مناسب پیشگیرانه، مانند واکسیناسیون، موارد بروز این

Proof Version

www.SID.ir

Archive of SID

نوع سرطان را کاهش داد و یا روندگسترش آن را محدود نمود.

روش‌ها

نمونه‌ها

طی این مطالعه‌ی مورد- شاهدی، ۸۷ مورد سرطان پستان تأیید شده توسط دو پاتولوژیست از نمونه‌های ماستکتومی به منظور بررسی عفونت ویروس پاپیلومای انسانی انتخاب شدند. بافت کافی تومورال و عدم نکروز و خونریزی از معیارهای ورود نمونه‌ها به این مطالعه بودند. همچنین ۸۴ نمونه از بافت‌های غیر سرطانی پستان به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. سن بیماران انتخابی مبتلا به سرطان پستان ۷۵-۲۲ سال و اندازه‌ی تومور ۵-۰/۵ سانتی‌متر بود. در بین نمونه‌ها از نظر آسیب‌شناسی سرطان، کارسینوما داکتال مهاجم با ۶۷ مورد (۷۷ درصد) بیشترین نوع را تشکیل می‌داد. سایر نمونه‌ها شامل ۱۴ موردکارسینوما لوبولار مهاجم (۱۶/۱ درصد) و ۶ مورد کارسینوم مدولاری (۶/۹ درصد) بودند. لازم به ذکر است که همه‌ی این بیماران با توده‌ی پستانی به کلینیک مراجعه کردند و طی بررسی های انجام شده، ضایعه‌ی بدخیمی در سایر قسمت‌های بدن به غیر از پستان نداشتند.

برش‌گیری و آماده‌سازی نمونه‌ها

برش بافت‌های پارافینه‌ی آرشیوی با استفاده از دستگاه میکروتوم صورت گرفت. ابتدا سطح بلوک با یک تیغ جراحی خراشیده شد و سپس چند برش ۵ میکرومتری از بلوک پارافینه زده شد و در یک لوله‌ی میکروفیوژ ۲ میلی‌لیتری استریل جمع‌آوری گردید. جهت حذف پارافین نمونه، مقدار ۱ میلی‌لیتر گزیلول به لوله‌ی حاوی نمونه‌ی بافت اضافه شد، درب لوله بسته و در انکوباتور شیکردار به مدت ۳۰ دقیقه با دور پایین در دمای ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. لوله‌ها به مدت ۲ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ گردید و با تخلیه‌ی مایع رویی، دوباره برای ۲ مرتبه سانتریفوژ شد. سپس بافت در رقت‌های اتانول ۱۰۰ درجه، ۸۰ درجه، ۶۰ درجه و ۴۰ درجه قرار گرفت. در پایان، پس از شستشو با آب مقطر، اتانول با دقت حذف شد و لوله‌ی حاوی رسوب بافت درون انکوباتور قرار گرفت تا اتانول باقی مانده، به طور کامل تبخیر گردد.

استخراج اسید نوکلئیک

پس از هضم بافت‌ها توسط‌آنزیم پروتئیناز K (پروتکل شرکت سیناژن ایران) جهت استخراج DNA از کیت Amplisense استفاده گردید. بر طبق دستورالعمل کیت شرکت سازنده (Amplisense: russia DNA/RNA extraction)، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول لیز کننده (در دمای ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) به نمونه‌ها اضافه گردید و پس از انکوباسیون به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد بقیه‌ی مراحل استخراج بر طبق پروتکل شرکت سازنده انجام شد.

آزمایش PCR (Polymerase chain reaction)

جهت ارزیابی نمونه‌ها، ابتدا آزمایش Nested PCR به کار رفت. در این آزمایش از پرایمرهای MY۰۹ (CGTCCMARRGGAWACTGATC) و MY۱۱ (GCMCAGGGWCATAAYAATGG) به عنوان پرایمرهای خارجی و در ادامه از آغازگرهای داخلی GP۵+ (AAAAATAAACTGTAAATCATATTC) و GP۶+ (TTTGTTACTGTGGTAGATACTAC)

Proof Version
www.SID.ir

Archive of SID

استفاده شد. محصولات PCR حاصل به ترتیب شامل ۴۵۰ و ۱۵۰ جفت باز بودند.

جهت انجام اولین مرحله‌ی PCR، ۰/۵ میکرولیتر Taq polymerase، ۴ میکرولیتر $MgCl_2$، یک میکرولیتر (Deoxynucleotide triphosphates) DNTP، ۵ میکرولیتر Buffer۱۰x، ۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای MY۰۹ و MY۱۱، ۵ میکرولیتر DNA الگو و ۲۴/۵ میکرولیتر DEPC water (Diethylpyrocarbonate water) به حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر مورد استفاده قرارگرفت.

مراحل سیکل PCR در این مرحله، شامل یک سیکل زمانی شامل ۵ دقیقه ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، یک دقیقه ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و یک دقیقه ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد؛ ۳۸ سیکل زمانی شامل یک دقیقه ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، یک دقیقه ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و یک دقیقه ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و یک سیکل پایانی شامل یک دقیقه ۹۴ درجه‌ی سانتی گراد، یک دقیقه ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۷ دقیقه ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. همچنین برای انجام مرحله‌ی دوم PCR از ۰/۵ میکرولیتر Taq polymerase، ۲/۵ میکرولیتر $MgCl_2$، یک میکرولیتر DNTP، ۵ میکرولیتر Buffer۱۰x، ۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای +GP۵ و +GP۶، ۵ میکرولیتر DNA الگو و ۲۶ میکرولیتر DEPC water به حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر استفاده شد.

مراحل سیکل PCR مرحله‌ی دوم عبارت از یک سیکل زمانی شامل ۵ دقیقه ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۱/۵ دقیقه ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱/۵ دقیقه ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۸ سیکل زمانی شامل یک دقیقه ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۱/۵ دقیقه ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱/۵ دقیقه ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و یک سیکل پایانی شامل یک دقیقه ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۱/۵ دقیقه ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۷ دقیقه ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بودند.

فراورده‌ی PCR پس از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد و رنگ‌آمیزی به وسیله‌ی اتیدیوم بروماید، نمایان گردید. نمونه‌هایی که در آن‌ها حضور ژنوم پاپیلوماویروس توسط آزمایش Nested PCR تأییدگردید، انتخاب شدند. جهت تعیین ژنوتیپ نمونه‌های مثبت شده به وسیله‌ی آزمایش PCR، از کیت‌های تجاری AmpliSens®HPV$_{۶/۱۱}$-EPH (شماره‌ی کاتالوگ V۱۱-۵۰F-CE) و AmpliSens®HPV$_{۱۶/۱۸}$-EPH (شماره‌ی کاتالوگ V۱۲-۱۰۰-R۰۲) بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده گردید.

یافته‌ها

نتایج PCR با پرایمرهای اختصاصی

در شکل ۱ تصاویر ژل الکتروفورز و باندهای اختصاصی حاصل ازآزمایش PCR با پرایمرهای +GP۵+/GP۶ و MY۰۹/MY۱۱ نشان داده شده است. از بین ۸۷ نمونه‌ی بافتی سرطان پستان، ۲۲/۹ درصد موارد دارای ژنوم ویروس پاپیلوما بودندکه در ۱۸/۳ درصد موارد، ژنوتیپ‌های موکوزال ۶، ۱۱، ۱۶ و ۱۸ ردیابی شدند. همچنین در بین ۸۴ بافت غیر سرطانی که به عنوان شاهد به کار رفته بودند، هیچ کدام از این ژنوتیپ‌ها یافت نشد.

فراوانی ژنوتیپ‌های ویروس پاپیلوما بر اساس نوع بافت‌شناسی و آسیب‌شناسی

در جدول ۱ میزان و درصد ژنوتیپ‌های پاپیلوماویروس

Proof Version

www.SID.ir

Archive of SID

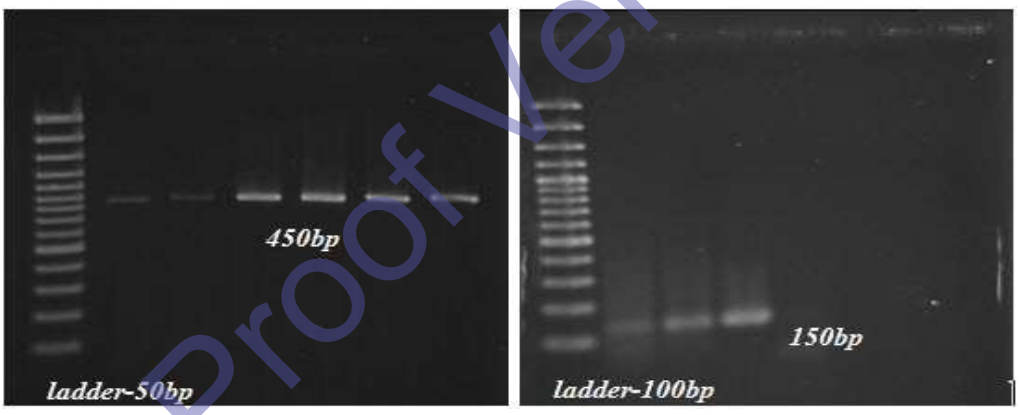
با توجه به نوع بافت سرطانی پستان به صورت تفکیک شده آمده است. همان‌طورکه ملاحظه می‌گردد، بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ ۱۶ است (۳۵ درصد)؛ در حالی که ژنوتیپ ۱۱ کمترین فراوانی را دارد (۵ درصد). همچنین بیشترین فراوانی ژنوتیپی پاپیلوما در سرطان کارسینوما داکتال مهاجم وجود دارد که تیپ ۱۶ شایع‌ترین ژنوتیپ است.

فراوانی ژنوتیپ‌های ویروس پاپیلوما بر اساس درجه‌ی سرطان پستان

بافت‌های سرطانی بر اساس پیشرفت بیماری به سه درجه تقسیم شدند. جزییات فراوانی پاپیلوماویروس‌ها بر اساس درجه‌ی پاتولوژی در جدول ۲ آمده است. ویروس پاپیلوما در بافت‌های درجه‌ی III با ۴۱/۳ درصد، بیشترین فراوانی را داشت؛ در حالی که این ویروس در بافت‌های سرطانی درجه‌ی II کمتر یافت شد.

بحث

سرطان پستان بدخیمی شایع و یکی از عوامل اصلی مرگ زنان در جهان می‌باشد (۲). با توجه به داده‌های آماری ارایه شده توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO یا World health organization) در سال ۲۰۰۸ میلادی، سالانه حدود یک میلیون و صد و پنجاه هزار مورد جدید سرطان پستان از سرتاسر جهان گزارش می‌شود (۱).



شکل ۱. باند حاصل از فراورده‌ی PCR (Polymerase chain reaction) پرایمرهای GP۵+/۶ (سمت راست) و MY۰۹/MY۱۱ (سمت چپ)

جدول ۱. فراوانی ویروس پاپیلومای انسانی بر اساس نوع بافت‌شناسی و آسیب‌شناسی سرطان پستان

نوع هیستوپاتولوژی	منفی تعداد (درصد)	HPV انواع دیگر تعداد (درصد)	HPV ۱۱ تعداد (درصد)	HPV ۶ تعداد (درصد)	HPV ۱۸ تعداد (درصد)	HPV ۱۶ تعداد (درصد)	کل
IDC	۵۳ (۷۹/۱)	۲ (۲/۹)	۱ (۱/۴)	۳ (۴/۴)	۳ (۴/۴)	۵ (۷/۴)	۶۷
ILC	۹ (۶۴/۲)	۱ (۷/۱)	۰	۱ (۷/۱)	۱ (۷/۱)	۲ (۱۴/۲)	۱۴
IMC	۵ (۸۳/۳)	۱ (۱۶/۶)	۰	۰	۰	۰	۶

HPV: Human papillomavirus; IDC: Invasive ductal carcinoma; ILC: Invasive lubolar carcinoma
IMC: Invasive medullary carcinom

Proof Version

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. فراوانی ویروس پاپیلومای انسانی بر اساس درجه‌ی پاتولوژی

درجه‌ی IDC	HPV منفی تعداد (درصد)	HPV مثبت تعداد (درصد)	کل تعداد (درصد)
Grade I	۲۱ (۷۲/۵)	۸ (۲۷/۵)	۲۹ (۳۳/۳)
Grade II	۱۶ (۷۲/۸)	۶ (۲۷/۲)	۲۲ (۲۵/۲)
Grade III	۳۰ (۸۳/۳)	۶ (۱۶/۷)	۳۶ (۴۱/۳)
کل	۶۷ (۷۷/۱)	۲۰ (۲۲/۹)	۸۷

HPV: Human papillomavirus;
IDC: Invasive ductal carcinoma

بسیاری از مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده‌اندکه سابقه‌ی ارثی سرطان پستان در خانواده، در ارتباط با عوامل خطر پیش زمینه‌ای همانند متغیرهای زاد و ولدی می‌باشد (۴). مشاهده‌ی افزایش خطر در ابتلا به سرطان پستان در زنان متعلق به خانواده‌هایی که سرطان پستان در آن‌ها سابقه دارد، به طبقه‌بندی این سرطان به عنوان موارد ارثی (خانوادگی) و تک گیر منجر شد (۷، ۴). گزارش‌های مختلف نشان داده‌اندکه زمینه‌های ارثی مسؤول ۱۰-۴ درصد کارسینوماهای پستان می‌باشند و تا حدودی موتاسیون در ژن‌های P۵۳، BRCA-۲ و BRCA-۱ در ارتباط با ایجاد سرطان پستان هستند (۱۵-۱۴).

اگر چه تخمین زده می‌شود که ویروس‌های سرطان‌زا عامل حدود ۲۰ درصد سرطان‌ها در انسان می‌باشند، اما همچنان ارتباط ویروس‌ها با سرطان پستان مورد بحث و تبادل نظر است (۱۶).

اثبات ارتباط یک ویروس با سرطان پستان در انسان، دهه‌ها است که محققین را مجذوب خود کرده است. کشف ردپای ویروس‌های اپشتین بار (Epstein-Barrvirus)، HHV-۸ و HSV-۱ در سرطان پستان بر جذابیت این موضوع افزوده است (۱۹-۱۷).

ضمن این که رتروویروس‌ها نیز به عنوان عوامل احتمالی تکامل سرطان پستان در پستانداران شناخته شده‌اند (۲۰).

ارتباط سببی بین پاپیلوماویروس انسانی و سرطان پستان برای اولین بار با تشخیص ژنوم HPV-۱۶ در ۲۹/۴ درصد از نمونه‌های سرطان پستان در سال ۱۹۹۲ مطرح شد (۲۲-۲۱). در مطالعه‌ای مشابه که در کشور ژاپن انجام شد، در ۱۱/۱ درصد بافت‌های سرطانی پستان، ژنوم پاپیلوماویروس‌ها ردیابی شد (۲۱). همچنین یک مطالعه درکشور برزیل نشان داده است که تیپ‌های ۱۸ و ۱۶ پاپیلوماویروس در ۱۰ درصد از موارد سرطان پستان حضور دارند (۲۳). در مطالعه‌ای دیگر در کشور استرالیا، حضور تیپ‌های ۱۶، ۱۸ و ۳۳ ویروس پاپیلوما در بیش از ۶۰ درصد موارد سرطان پستان گزارش شد (۲۴).

به طور کلی، مطالعات فراوان در زمینه‌ی ارتباط پاپیلوماویروس با سرطان پستان، نتایج متغیر و گاه متناقض را در محدوده‌ی ۸۶-۴ درصد گزارش کرده‌اند (۱۱-۱۰). به نظر می‌رسد علت اصلی این تناقضات، محدودیت تکنیک‌های تشخیصی وتوزیع متفاوت اپیدمیولوژیکی پاپیلوماویروس در مناطق مختلف باشد.

در ایران دو گزارش از حضور پاپیلومای انسانی در بافت پستان ثبت شده است. در مطالعه‌ی طهماسبی فرد و همکاران، تنها در ۳ مورد از نمونه های بافت طبیعی فیبروستیک، ژنوم HPV یافت شد؛ اما در هیچ یک از نمونه‌های بافت سرطان پستان، ژنوم ویروس ردیابی نشده است (۲۵). این در حالی است که در مطالعه ی حاضر، در ۲۲/۹ درصد موارد سرطانی، حضور ویروس پاپیلوما تشخیص داده شد،

www.SID.ir
www.mui.ac.ir

Archive of SID

اما نمونه های فیبروستیک فاقد ژنوم HPV بودند. دومین مطالعه در ایران توسط سیگارودی و همکاران انجام شد که در ۲۵ درصد نمونه های بافت تومور پستان، ژنوم ویروس HPV از تیپ‌های ۶، ۱۱، ۱۵، ۱۶ و ۱۸ ردیابی شد و یک نمونه‌ی شاهد غیر سرطانی هم دارای ژنوم ویروس پاپیلوما بود (۲۶).

یافته های حاصل از تحقیق حاضر، به نتایج این پژوهش نزدیک بود. ضمن این که در هیچ کدام از نمونه‌های شاهد غیر سرطانی، ژنوم پاپیلوماویروس ردیابی نشد. لازم به ذکر است که در تحقیق سیگارودی و همکاران (۲۶) تیپ‌های۱۶ و ۱۸ غالب بودند، اما در مطالعه‌ی حاضر تیپ ۶ شایع‌تر بود.

در مطالعات گذشته، حضور تیپ‌های پرخطر HPV-۱۸، HPV-۱۶ و HPV-۳۳ در نمونه‌های سرطان پستان از جمعیت‌های مختلف در کشورهای ایتالیا، چین، ژاپن، آمریکا، اتریش، برزیل، استرالیا، تایوان، ترکیه، کره و سوریه به اثبات رسیده است (۲۲-۲۱). نتایج پژوهش حاضر که بر روی نمونه‌های بافت سرطانی شهر یزد صورت گرفته است، مؤید توزیع اپیدمیولوژیکی پاپیلوماویروس به ویژه تیپ پرخطر ۱۶ و نقش آن در سرطان پستان در این منطقه از کشور ایران است.

Hennig و همکاران حضور HPV-۱۶ را در ۴۶ درصد از سرطان های پستان با هیستوپاتولوژی IDC (Invasive ductal carcinoma) و ILC (Invasive lubolar carcinoma) در زنان با سابقه‌ی ضایعات نئوپلازی CINIII (Cervical intraepithelial neoplasia III) تأیید کرده اند (۲۷). اطلاعات حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که تمامی ایزوله‌های شناسایی شده مربوط به ۲ نوع هیستوپاتولوژی IDC و ILC بودند و ۲۲/۹ درصد موارد بافت سرطانی به ویروس پاپیلومای انسانی آلوده بودند.

نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن است که عفونت HPV با پیشرفت سرطان (درجه و شدت بیماری) ارتباط معنی داری ندارد که البته با نتایج مطالعه‌ی سیگارودی و همکاران (۲۶) در ایران در تضاد است (۲۷).

لازم به ذکر است که در تحقیق حاضر، تیپ‌های پوستی پاپیلوماویروس ارزیابی نشدند؛ در حالی که تیپ‌های ۱۵ و ۲۳ ویروس پاپیلومای انسانی در مطالعات سیگارودی و همکاران (۲۶) و de Villiers و همکاران (۲۸) شناسایی شده‌اند. این مسأله ناشی از توزیع اپیدمیولوژیکی متفاوت ویروس، حتی در یک کشور می‌باشد. de Cremoux و همکاران با بررسی ۵۰ بافت سرطانی پستان، هیچ کدام از تیپ های ۶، ۱۱، ۱۶ و ۱۸ را نیافتند. بنابراین تشخیص این تیپ‌ها در مطالعه‌ی حاضر مؤید وجود عوامل مختلف اپیدمیولوژیکی در کشورهای مختلف است (۱۲).

همچنین بر خلاف نتایج پژوهش حاضر، Lindel و همکاران قادر به شناسایی HPV در نمونه‌های بافت سرطان پستان در زنان سوئیسی نبودند که نشان دهنده ی الگوی اپیدمیولوژی متفاوت این ویروس در مناطق مختلف جهان است (۲۹).

Yasmeen و همکاران نشان دادند که ژنوم HPV در بسیاری از سرطان‌های تهاجمی و متاستاتیک پستان حضور دارد؛ در صورتی که در سرطان In situ medullary carcinoma کمتر یافت می‌شود. در مطالعه ی حاضر نیز این یافته وجود داشت و بافت سرطانی Medullary in situ از نظر وجود ویروس

Proof Version

www.SID.ir

Archive of SID

پاپیلومای انسانی منفی بود. همین طور مشاهده شد که اکثر ایزوله‌های ویروسی، مربوط به موارد پاتولوژی تهاجمی می‌باشند که مطابق با نتایج مطالعه‌ی Yasmeen و همکاران است (۳۰).

در پایان، جهت وضوح بیشتر نقش عوامل متعدد ویروسی به عنوان یکی از عوامل محیطی مؤثر در پاتوژنز سرطان پستان، انجام بررسی‌های متعدد در این زمینه، در سراسر ایران پیشنهاد می‌شود.

اگر چه تفاوت‌های زیادی در شیوع ویروس پاپیلومای انسانی در سرطان پستان در سراسر دنیا وجود دارد، اما اکثر ایزوله‌های شناسایی شده، از تیپ‌های پرخطر می‌باشند. در مطالعه‌ی حاضر نیز بیش از نیمی (۵۵ درصد) از ایزوله‌های شناسایی شده تیپ پرخطر هستند که مطابق با سایر مطالعات است. احتمال می‌رود عفونت پاپیلوماویروس باعث افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان شهر یزد گردد. چنانچه احتمال این ارتباط با انجام مطالعات بیشتر روشن گردد، اتخاذ راهکارهای درمانی ضد ویروسی و پیشگیری سطح اول، یعنی واکسیناسیون، جهت جلوگیری از بروز روزافزون این سرطان، می‌تواند بسیار سودمند باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل نتایج بخشی از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد ویروس‌شناسی پزشکی است که در مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به انجام رسیده است. بدین وسیله از زحمات ریاست و همه‌ی همکاران محترم بخش تحقیق و تشخیص بیماری‌های ویروسی دام مؤسسه‌ی رازی تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 2010; 127(12): 2893-917.
2. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. Int J Cancer 2006; 118(12): 3030-44.
3. Lacey JV, Devesa SS, Brinton LA. Recent trends in breast cancer incidence and mortality. Environ Mol Mutagen 2002; 39(2-3): 82-8.
4. Czene K, Lichtenstein P, Hemminki K. Environmental and heritable causes of cancer among 9.6 million individuals in the Swedish Family-Cancer Database. Int J Cancer 2002; 99(2): 260-6.
5. Cuzick J, Sasieni P, Davies P, Adams J, Normand C, Frater A, et al. A systematic review of the role of human papilloma virus (HPV) testing within a cervical screening programme: summary and conclusions. Br J Cancer 2000; 83(5): 561-5.
6. Zangen D. Autodisplay von enzyminhibitoren [Thesis]. Homburg, Germany: Saarland University 2002.
7. McGrath M, Wong JY, Michaud D, Hunter DJ, De Vivo I. Telomere length, cigarette smoking, and bladder cancer risk in men and women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2007; 16(4): 815-9.
8. Helt AM, Funk JO, Galloway DA. Inactivation of both the retinoblastoma tumor suppressor and p21 by the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein is necessary to inhibit cell cycle arrest in human epithelial cells. J Virol 2002; 76(20): 10559-68.
9. Band V, Delmolino L, Androphy EJ. Enhanced degradation of p53 protein in HPV-6 and BPV-1 E6-immortalized human mammary epithelial cells. EMBO J 1993; 12(5): 1847-52.
10. zur HH. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nat Rev Cancer 2002; 2(5): 342-50.
11. Mendizabal-Ruiz AP, Morales JA, Ramirez-Jirano LJ, Padilla-Rosas M, Moran-Moguel MC, Montoya-Fuentes H. Low frequency of human papillomavirus DNA in breast cancer tissue. Breast Cancer Res Treat 2009; 114(1): 189-94.
12. de Cremoux P, de la Rochefordiere A, Savignoni A, Kirova Y, Alran S, Fourchotte V,

Proof Version

www.SID.ir

Archive of SID

et al. Different outcome of invasive cervical cancer associated with high-risk versus intermediate-risk HPV genotype. Int J Cancer 2009; 124(4): 778-82.
13. Sanner K, Wikstrom I, Strand A, Lindell M, Wilander E. Self-sampling of the vaginal fluid at home combined with high-risk HPV testing. Br J Cancer 2009; 101(5): 871-4.
14. He C, Tamimi RM, Hankinson SE, Hunter DJ, Han J. A prospective study of genetic polymorphism in MPO, antioxidant status, and breast cancer risk. Breast Cancer Res Treat 2009; 113(3): 585-94.
15. Rahman N, Scott RH. Cancer genes associated with phenotypes in monoallelic and biallelic mutation carriers: new lessons from old players. Hum Mol Genet 2007; 16(1): R60-R66.
16. Dimmock N, Easton A, Leppard K. Introduction to modern virology. 6th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; 2009.
17. Labrecque LG, Barnes DM, Fentiman IS, Griffin BE. Epstein-Barr virus in epithelial cell tumors: a breast cancer study. Cancer Res 1995; 55(1): 39-45.
18. Newton R, Ziegler J, Bourboulia D, Casabonne D, Beral V, Mbidde E, et al. The sero-epidemiology of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) in adults with cancer in Uganda. Int J Cancer 2003; 103(2): 226-32.
19. Tsai JH, Tsai CH, Cheng MH, Lin SJ, Xu FL, Yang CC. Association of viral factors with non-familial breast cancer in Taiwan by comparison with non-cancerous, fibroadenoma, and thyroid tumor tissues. J Med Virol 2005; 75(2): 276-81.
20. Lawson JS, Tran D, Rawlinson WD. From Bittner to Barr: a viral, diet and hormone breast cancer aetiology hypothesis. Breast Cancer Res 2001; 3(2): 81-5.
21. Yu Y, Morimoto T, Sasa M, Okazaki K, Harada Y, Fujiwara T, et al. HPV33 DNA in premalignant and malignant breast lesions in Chinese and Japanese populations. Anticancer Res 1999; 19(6B): 5057-61.
22. Lonardo AD, Venuti A, Marcante ML. Human papillomavirus in breast cancer. Breast Cancer Research and Treatment 1992; 21(2): 95-100.
23. Damin AP, Karam R, Zettler CG, Caleffi M, Alexandre CO. Evidence for an association of human papillomavirus and breast carcinomas. Breast Cancer Res Treat 2004; 84(2): 131-7.
24. Kan CY, Iacopetta BJ, Lawson JS, Whitaker NJ. Identification of human papillomavirus DNA gene sequences in human breast cancer. Br J Cancer 2005; 93(8): 946-8.
25. Tahmasebi Fard Z, Abdirad A, Saatian M, Arefian L. Association between human Papillomavirus (HPV) and Breast cancer in Iranian patients. Med Sci J Islamic Azad Univ Tehran Med Branch 2013; 23(2): 120-6. [In Persian].
26. Sigaroodi A, Nadji SA, Naghshvar F, Nategh R, Emami H, Velayati AA. Human papillomavirus is associated with breast cancer in the north part of Iran. ScientificWorld Journal 2012; 2012: 837191.
27. Hennig EM, Suo Z, Thoresen S, Holm R, Kvinnsland S, Nesland JM. Human papillomavirus 16 in breast cancer of women treated for high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN III). Breast Cancer Res Treat 1999; 53(2): 121-35.
28. de Villiers EM, Sandstrom RE, zur HH, Buck CE. Presence of papillomavirus sequences in condylomatous lesions of the mamillae and in invasive carcinoma of the breast. Breast Cancer Res 2005; 7(1): R1-11.
29. Lindel K, Forster A, Altermatt HJ, Greiner R, Gruber G. Breast cancer and human papillomavirus (HPV) infection: no evidence of a viral etiology in a group of Swiss women. Breast 2007; 16(2): 172-7.
30. Yasmeen A, Bismar TA, Kandouz M, Foulkes WD, Desprez PY, Al Moustafa AE. E6/E7 of HPV type 16 promotes cell invasion and metastasis of human breast cancer cells. Cell Cycle 2007; 6(16): 2038-42.

Proof Version

www.SID.ir