Archive of SID

وجود عفونت ویروس پاپیلومای انسانی دربافتهای سرطانی پستان وارتباط آن با شاخص های بالینی

قدسیه سیدی علوی[1]، نوریه شریفی[2]، علی صادقیان[3]، حسن جباری[4]، مریم بحرینی[5]، حسن باقری[6]

1– استاد زنان ومامایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

2- دانشیار پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

3– دانشیار میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

4– دستیار تخصصی پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

5– دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

6– میکروبیولوژیست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: 87/5/7 **تاریخ پذیرش مقاله**: 87/11/14

خلاصه

مقدمه: گزارشات متعددی نقش عوامل ویرال را در بروز و تکامل سرطان پستان نشان می دهد ویروس پاپیلومای انسانی به خصوص انواع سرطانزای آن همراه با بدخیمی های اپی تلیال سیستم دستگاه تناسلی و خارج از آن دیده می شود. این مطالعه به منظور بررسی وجود عفونت ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) با خطر بدخیمی پایین و بالا در نمونه های بیماران مبتلا به سرطان پستان و ارتباط آن با جنبه های بالینی انجام شده است.

روش کار: در این مطالعه 50 مورد بافت سرطانی پستان و 29 مورد بافت پستانی بدون ضایعه بدخیم، به منظور تشخیص DNA ویروس پاپیلومای انسانی با خطر بدخیمی بالا 16 و 18و خطر بدخیمی پائین 6 و 1 با استفاده از روش ملکولی PCR با آغازگرهای انتخابی ویروس پاپیلومای انسانی بررسی شده است.

نتایج: DNA ویروس پاپیلوما در 24 مورد (48%) از نمونه های کارسینوم پستان مشخص شد که از این تعداد 13 مورد (26%) مربوط به عفونت پاپیلومای انسانی با خطربدخیمی بالا و 8 مورد (16%) در ارتباط با ویروس پاپیلومای انسانی با خطر بدخیمی پائین می باشند. سه نمونه (6%) از بافت های سرطانی پستان دارای هر دو نوع ویروس پاپیلومای انسانی با ریسک بدخیمی بالاو پائین بودند. دراین مطالعه ارتباطی بین حضور عفونت ویروس پاپیلومای انسانی در سرطان پستان و فاکتورهای پیش آگهی بیماران شامل سن (P=0/448)، میزان درگیری غدد لنفاوی زیربغلی (P=0/749)، درجه آسیب شناسی بافتی تومور، اندازه تومور (P =0/946) و سمت ابتلا پستان دیده نشد و همه بافتهای غیرسرطانی پستان از نظر وجود عفونت ویروس پاپیلومای انسانی منفی بودند.

نتیجه گیری: در این مطالعه حضور DNA عفونت ویروس پاپیلومای انسانی در بافت های سرطانی پستان مشخص شد و نقش ارتباط احتمالی عفونت ویروس پاپیلومای انسانی در بروز و تکامل بدخیمی های پستان مورد تائید قرارگرفت.

کلمات کلیدی: سرطان پستان، روش مولکولی PCR، آسیب شناسی بافتی، ویروس پاپیلومای انسانی

* **نویسنده مسؤول**: نوریه شریفی

آدرس: مشهد، گروه پاتولوژی، بیمارستان قائم، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

sharifin@mums.ac.ir

تلفن: 8012363 (511) 98+

www.SID.ikr

Archive of SID

مقدمه

سرطان پستان شایعترین بدخیمی جنس مونث می باشدکه عوامل اتیولوژیک و عوامل خطر متعددی در ایجاد و تکامل آن مطرح می باشند. به طور مثال می توان سابقه فامیلی، هورمون ها و مصرف سیگار و سایر عوامل را نام برد (2-1). نقش اتیولوژیک عوامل ویرال در ایجاد ضایعات نئوپلازیک انسانی ثابت شده است و مطالعات متعدد نقش ویروس تبخالی[1] وابشتاین[2] بار وویروس تومور پستان موش[3] را درسرطان پستان بررسی و به اثبات رسانده است (5-3). در این میان نقش عفونت ویروس پاپیلومای انسانی با دارا بودن DNA دو زنجیره ای در بروز و تکامل سرطان پستان مبهم و نامشخص است اما مطالعات نشان داده است که ویروس پاپیلومای انسانی در محیط خارج از بدن با بروز انکوژن E6 و E7 باعث فنا ناپذیری سلولهای اپی تلیال پستان می شود (6) بررسیهای متعدد ملکولار دراین زمینه گزارشات متناقضی را در ارتباط با حضور DNA ویروس HPV در بافت های سرطانی پستان نشان می دهد (9-7).

در مطالعه حاضر بافتهای سرطانی و غیر بدخیم پستان به منظور بررسی حضور عفونت ویروس پاپیلومای انسانی جمع‌آوری و با روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)[4] مورد بررسی قرارگرفته است. در نهایت ارتباط بافتهای آلوده به ویروس پاپیلومای انسانی با نمای هیستوپاتولوژیک و سایر عوامل پیش آگهی سرطان پستان مانند وضعیت ابتلا به غدد لنفاوی، سن بیماران، اندازه تومور و سمت ابتلا مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفته است.

روش کار

طی این مطالعه گذشته نگر 50 مورد سرطان پستان تائید شده از نمونه های ماستکتومی به منظور بررسی عفونت ویروس پاپیلومای انسانی انتخاب شدند. بافت کافی تومورال و عدم حضور نکروز و خونریزی معیارهای ورودی نمونه ها به این مطالعه بودند. همچنین 29 نمونه از بافتهای غیرسرطانی پستان به عنوان گروه مورد انتخاب شدند. حجم نمونه با در نظر گرفتن $P=0/7$ با ضریب اطمینان 95% و $d=0/07$ محاسبه شد. با در نظر گرفتن هزینه و محدود بودن نمونه ها پس از محاسبه عدد 50 به دست آمد. سن بیماران مبتلا به سرطان پستان بین 28 تا 70 سال و میانگین 49/8 سال بود. اندازه تومور بیماران 0/5 تا 5 سانتیمتر با اندازه میانگین 2/5 سانتیمتر بود. اغلب بیماران دچار سرطان پستان سمت چپ (84%) و تمامی بیماران دارای سرطان داکتال انوازیو پستان و اغلب با درجه II در بررسی آسیب شناسی بوده اند (97%). 88% از بیماران بدون درگیری غدد لنفاوی زیربغلی بودند. همه این بیماران با توده پستانی به کلینیک مراجعه کرده و طی بررسی های انجام شده ضایعه بدخیمی در سایرقسمتهای بدنشان جز پستان نداشتند. از بلوکهای پارافینه نمونه های فوق برش 5-4 میکرونی تهیه و با گزیلول پارافین زدایی شدند. گزیلن نمونه ها با چرخش در اتانول برداشته شد و طبق دستور کیت شرکت سازنده پرایمرهای انتخابی HPV با استخراج DNA و هضم آن با پروتئیناز K انجام شد و DNA ی هر نمونه با روش ملکولی PCR نسخه برداری و تکثیر شدند. مراحل فوق با تکثیر پرایمرژن بتا اکتین کنترل شد.

احتیاطات لازم به منظور جلوگیری از آلودگی نمونه ها طی مراحل مختلف استخراج DNA و PCR انجام شدو توصیه های لازم شرکت سازنده کیت عفونت ویروس پاپیلومای انسانی با خطر بدخیمی کم و زیاد در این مورد بکار گرفته شد. آغازگرهای انتخابی در مورد ویروس پاپیلومای انسانی با خطر بدخیمی بالا انواع 16و18 و در مورد عفونت ویروس پاپیلومای انسانی با خطر بدخیمی پایین انواع 6 و 1بودند.

نتایج

در این مطالعه 50 مورد بافت سرطان پستان و 29 مورد بافت غیرسرطان پستان بررسی شدند و مجموعاً 24 مورد (48%) بافت بدخیم پستان آلودگی به عفونت ویروس پاپیلومای انسانی را نشان دادند که 13 مورد (26%) عفونت ویروس پاپیلومای انسانی با درجه بدخیمی بالا و 8 مورد با درجه بدخیمی پائین (16%) را دارا بودند سه نمونه (6%) هر دو نوع

[1] Herpes Virus
[2] Ebstein Virus
[3] Mous Mammilian Tumor
[4] Polymerase Chain Reaction

www.SID.ikr

Archive of SID

عفونت ویروس پاپیلومای انسانی را نشان دادند. بافت های غیرسرطانی پستان (29 مورد) همگی از نظر عفونت ویروس پاپیلومای انسانی منفی بودند و با استفاده از آزمونهای تی مستقل و آنوا ارتباط آماری معنی داری بین بروز عفونت ویروس پاپیلومای انسانی و عوامل پیش آگهی شامل سن بیماران با P=0/448 و اندازه تومور بیماران (P=0/946) و درجه بافتی تومور (P=0/315) و میزان درگیری غدد لنفاوی زیربغلی وجود نداشت (P=0/749).

بحث

سرطان پستان شایعترین نوع سرطان در خانمها با عوامل خطر شناخته شده است ویروس پاپیلومای انسانی با تاثیر سرطانزایی در انواع سرطان های انسانی به خصوص ناحیه مقعدی تناسلی پذیرفته شده است(10). مطالعات وگزارشات مبهم متعدد در زمینه نقش احتمالی ویروس پاپیلومای انسانی در سرطان پستان بررسی های بیشتر و دقیق تر اپیدمیولوژیک را می طلبد. عفونت با انواع مختلف ویروس پاپیلومای انسانی شرط لازم ولی نه کافی در ایجاد روندهای نئوپلازیک ارگانهای مختلف پس از مدت زمان طولانی آلودگی ویرال با این ویروس می باشد و عوامل سرطانزایی شناخته شده E6 وE7 ویروس پاپیلومای انسانی با تداخل در سیکل سلولی و تحریک چند فرایند مولکلولی منجر به تغییر شکل بدخیمی سلول آلوده به ویروس می شود. این ویروس حاوی DNA با تکنیک های مختلف آزمایشگاهی دارای حساسیت و اختصاصیت متفاوت در بافتهای سرطانی قابل کشف می باشد. مطالعه حاضر به جستجوی DNA ویروس پاپیلومای انسانی با درجه بدخیمی بالا و پائین در بافتهای سرطانی و غیر سرطانی پستان به روش ملکولی PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی انواع عفونت ویروس پاپیلومای انسانی پرداخته است و سپس ارتباط عفونت ویروس پاپیلومای انسانی را با جنبه های بالینی در50 مورد سرطان پستان مورد تجزیه و تحلیل قرارداده است که در 24 مورد (48%) عفونت ویروسی پاپیلومای انسانی با PCR در بافتهای سرطانی پستان تائید شد و تمامی 29 مورد بافتهای پستانی غیرسرطانی از نظر آلودگی به ویروس پاپیلومای انسانی منفی بودند. مطالعات مشابه قبلی در این مورد بروز عفونت ویروس پاپیلومای انسانی را 86-25% گزارش کردند (15،14،12). در این مطالعات گاهی عفونت با ویروس پاپیلومای انسانی را از نوع با درجه بدخیمی پایین در اکثر موارد مثبت بوده است (10) و گاهی هم بیشترین آلودگی را با عفونت HPV با خطر بدخیمی بالا گزارش نموده اند (9،8). در یک مطالعه انجام شده در نروژ آلودگی به عفونت ویروس پاپیلومای انسانی را در 19 مورد از 41 مورد کانسر پستان نشان می دهد (46%) که بیماران آلوده قبلاً به عنوان بیماران با دیسپلازی سرویکال (CIN III) تحت درمان بوده اند و اینکه نحوه انتقال عفونت ویروس پاپیلومای انسانی (از راه خون، لنف و یا از طریق رفتارهای غیرمعمول جنسی) بوده مشخص نیست. سایر مطالعات در این زمینه عفونت ویروس پاپیلومای انسانی از نوع با درجه خطر پائین را در نوک و هاله پستان بررسی نموده است و این ویروس را در یک مورد از 20 نمونه آدنوم نوک پستان و 7 مورد از نمونه های پاژه نوک پستان گزارش کرده است(13،11). اما ورد و همکاران با بررسی 81 خانم مبتلا به سرطان پستان از نظر آلودگی به عفونت ویروس پاپیلومای انسانی همگی را منفی اعلام کردند (16). جنبه دیگر مطالعه حاضر بررسی ارتباط بافتهای سرطانی پستان آلوده به عفونت ویروس پاپیلومای انسانی با جنبه های بالینی با توجه به معیارهای پیش آگهی شامل: سن بیماران، اندازه تومور پستان، سمت درگیری، تعداد غدد لنفاوی زیربغلی درگیر و درجه بافتی سرطان پستان بود که ارتباط آماری معنی داری در این خصوص یافت نشد. محدودیت قابل ذکر در این مطالعه عدم وجود فضای فیزیکی و اختصاصی جهت انجام تکنیک حساس PCR بود که امیدواریم در مطالعات بعد شرایط مناسب به این منظور فراهم گردد. بهر حال احتیاطات لازم جهت جلوگیری از آلودگی احتمالی محیط عمل PCR طبق دستورات شرکت سازنده آغازگرهای عفونت ویروس پاپیلومای انسانی در نظر گرفته شد.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که عوامل ویروسی به عنوان عوامل سرطانزا در بروز و تکامل سرطان پستان دخالت دارند در این زمینه انجام مطالعات بیشتر اپیدمیولوژیک وبیولوژیک و

www.SID.ikr

Archive of SID

ملکولار مورد نیاز می باشد تا مشخص شود که آیا عوامل ویروسی به خصوص عفونت با ویروس پاپیلومای انسانی مستقیماً دارای نقش سرطانزایی در ایجاد بدخیمی های متفاوت بدن انسان از جمله پستان است و یا با تداخل در سیستم ژنتیکی میزبان آلوده اعمال اثر می کند. در صورت اثبات این مسئله که ویروس پاپیلومای انسانی به عنوان عامل خطر ایجاد سرطان در پستان، مشابه سیستم آنوژنیتال عمل می کند باید تدابیر پیش گیری کننده چون واکسیناسیون و استفاده از داروهای ضد ویروسی مناسب در برنامه بهداشتی جوامع آلوده پیش بینی شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شده که به این وسیله از آن معاونت قدردانی می شود.

منابع

1. Longnecker MP, Bernstein L, Paganini–Hill A, Enger SM, Ross RK. Risk factor for in situ breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1996 Dec;5(12):961-5.
2. Hemminki K, Granstrom C, Czene K. Attributable risks for familial breast cancer by proband status and morphology: a nationwide epidemiologic study cancer. Int J Cancer 2002 Jul; 100(2):214-9.
3. Dimri G, Band H, Band V. Mammary epithelial cell transformation: insights from cell culture and mouse models. Breast cancer Res 2005;7(4):171-9 .
4. Wong M, Pagano JS, Schiller JT, Tevethia SS, Raab-Traub N, Gruber J. New associations of human papillomavirus, Simian virus 40, and Epstein-Barr virus with human cancer. J Natl Cancer Inst 2002 Dec; 18;94(24):1832-6.
5. Magrath I, Bhatia K. Breast cancer: a new Epstein-Barr virus–associate disease?. J Natl Cancer Inst 1999 Aug 18;91(16):1349-50.
6. Zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: Evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. J Natl Cancer Inst 2000 May 3;92(9):690-8.
7. Liu Y, Klimberg VS, Andrews NR, Hicks CR, Peng H, Chiriva-Internati M, et al. Human papillomavirus DNA is present in a subset of unselected breast cancers. J Hum Virol 2001 Nov-Dec;4(6):329-34.
8. Helt AM, Funk JO ,Gallomay DA. Inactivation of both retinoblaston and p21 by the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein is necessary to inhibit cell cycle arrest in human epithelial cells. J Virol 2002 Oct;76(20):10559-68.
9. Degenhardt YY, Silverstein SJ. Gps2, a protein partner for human papillomavirus E6 proteins. J Virol 2001 Jan;75(1):151-60.
10. Damin AP, Karam R, Zettler CG, Caleffi M, Alexandre CO. Evidance for an association of human papillomavirus and breast carcinomas. Breast Cancer Res Treat 2004 Mar;84(2):131-7.
11. De Villiers EM, Sandstrom RE, Zur Hausen H, Buck CE. Presence of papillomavirus sequences in condylomatous lesions of the mammillae and in invasive carcinoma of the breast. Breast Cancer Res 2005;7(1):R1-11.
12. Yu Y, Morimoto T, Sasa M, Okazaki K, Harada Y, Fujiwara T, et al. Human papillomavirus type 33 DNA in breast cancer in Chinese. Breast Cancer 2000 Jan;7(1):33-6.
13. 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 2008 Mar;114(1):189-94.
14. Kan CY, Iacopetta BJ, Lawson JS, Whitaker NJ. Identification of human papillomavirus DNA gene sequences in human breast cancer. Br J Cancer 2005 Oct 17;93(8):946-8.
15. Kropis C, Markou A, Vourlidis N, Dionyssiou-Asterou A, Lianidou ES. Presence of high–risk human papillomavirus sequences in breast cancer tissues and association with histopathological characteristics. Clin Biochem 2006 Jul;39(7) :727-31.
16. Wrede D, Luqmani YA, Coombes RC, Vousden KH. Absence of HPV 16 and 18 DNA in breast cancer. Br J Cancer 1992 Jun;65(6):891-4.

www.SID.ikr