BRIEF REPORT

Prevalence of Human Papillomavirus Genotypes in Cervical Cancer Specimens in Tehran

Parichehr Kimyaiee[1],
Shiva Morvarian[1],
Masoumeh Mirzamoradi[1],
Sara Khodabandelouie[2],
Mahmoud Bakhtiyari[3,4]

[1] Assistant Professor, Deptartment of Gynecology and Obstetrics, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] BSc in Nursing, School of Nursing and Obstetrics, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[4] PhD Candidate in Epidemiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received November 10, 2014 ; Accepted April 5, 2015)

Abstract

Background and purpose: Human papillomavirus infection is the most important risk factor and necessary cause of cervical cancer. The aim of this study was to determine the genotypes of HPV DNA in cervical carcinoma samples from Shohada and Imam Hossien Hospitals in Tehran, between 1999 and 2008.

Materials and methods: After the paraffin alleviation process from the sections needed for HPV typing, the DNA was extracted from the genome virus. Then, PCR techniques were applied for identification and replication of the HPV virus genome from the tissues. Afterwards, the samples were placed into an incubator operating at a proper temperature and 28 genetic sequences for HPV genotypes were detected using Reverse Dot Blot Method.

Results: There were 58 cases, of which 44 were HPV positive (75.9%) and the remaining samples were negative for HPV virus (24.1%). Among different genotypes of HPV, types 18 and 16 were found to be more frequent (13.7% and 62%, respectively). Also, there were 48 cases of squamous cell carcinoma of which 35 (80%) were HPV type 16.

Conclusion: High prevalence of HPV in Iranian women calls for efficient health promotion strategies, more focus on appropriate sexual behavior, and prevention of sexually transmitted diseases. These measures are great steps in preventing infection with HPV and cervical cancer.

Keywords: Human papillomavirus, genotype, cervical cancer

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(123): 185-190 (Persian).

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۲۳ فروردین سال ۱۳۹۴ (۱۹۰-۱۸۵)

فراوانی ویروس پاپیلومای انسانی و ژنوتیپ‌های مختلف آن در نمونه‌های سرطان دهانه‌ی رحم در شهر تهران

پریچهر کیمیایی[1]
شیوا مرواریان[1]
معصومه میرزامرادی[1]
سارا خدابنده‌لویی[2]
محمود بختیاری[3,4]

چکیده

سابقه و هدف: عفونت به ویروس پاپیلومای انسانی (Human papillomavirus HPV) مهم‌ترین و شایع‌ترین عامل خطر ابتلا به سرطان دهانه رحم است. این مطالعه با هدف تعیین ژنوتیپ‌های ویروس HPV در نمونه‌های سرطان دهانه رحم، جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های شهدای تجریش و امام حسین (ع) در طی سال‌های ۱۳۸۷-۱۳۷۸ انجام گرفته شده است.

مواد و روش‌ها: پس از پارافین زدایی برش‌های مورد نیاز، DNA ژنوم ویروس استخراج شد وبا تکنیک PCR، ژنوم ویروس HPV تکثیر و نمونه‌هایی که حاوی این ژنوم بودند (+HPV)، مشخص شدند. در مرحله بعد، پس از قرار دادن در انکوباتور و در دمای مناسب و با استفاده از روش Reverse Dot Blot وجود سکانس‌های ژنتیکی ۲۸ ژنوتیپ HPV تشخیص داده شد.

یافته‌ها: از مجموع ۵۸ مورد نمونه، ۴۴ مورد (۷۵/۹ درصد) HPV مثبت بودند. از میان ژنوتیپ‌های مختلف HPV، در این مطالعه تنها دو ژنوتیپ نوع ۱۸ با ۱۳/۷ درصد و نوع ۱۶ با ۶۲ درصد در بین کل موارد، در نمونه‌ها دیده شدند. هم‌چنین از مجموع ۴۸ مورد سرطان سلول سنگفرشی تشخیص داده شده در این مطالعه ۸۰ درصد (۳۵ مورد) مربوط به HPV نوع ۱۶ بوده است.

استنتاج: با توجه با شیوع بالای ویروس HPV در زنان ایرانی، استفاده از راه‌کارهای ارتقای بهداشت با تمرکز بر تغییر رفتارهای جنسی و پیشگیری از بیماری‌های آمیزشی می‌تواند در پیشگیری از عفونت با ویروس پاپیلومای انسانی و در مرحله بعد سرطان دهانه رحم موثر واقع شود.

واژه های کلیدی: ویروس پاپیلومای انسانی، ژنوتیپ، سرطان دهانه رحم

مقدمه

سرطان دهانه رحم از نظر میزان بروز، رتبه چهارم را در بین کل سرطان‌ها در جهان دارا می‌باشد. توزیع این سرطان در کشورهای مختلف متفاوت بوده، به طوری که ۸۰ درصد موارد این بیماری در کشورهای با درآمد پایین مشاهده شده است(۲،۱). در کشورهای توسعه یافته، به دلیل انجام پاپ اسمیر و برنامه‌های غربالگری، بروز

مولف مسئول: محمود بختیاری- تهران: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، انستیتو تحقیقات بهداشتی E-mail: M-Bakhtiyari@razi.tums.ac.ir
۱. استادیار، گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲. کارشناس پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳. مرکز تحقیقات غدد، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴. دانشجوی دکترای اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت عمومی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
تاریخ دریافت :۱۳۹۳/۵/۱۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۵/۱۹ تاریخ تصویب : ۱۳۹۴/۱/۱۵

سرطان دهانه‌ی رحم به مقدار قابل توجهی کاهش یافته است(۴،۳). با توجه به مطالعات متعدد بیولوژیک و اپیدمیولوژیک، مشخص شده است که عفونت با ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) نقش اصلی را در ابتلای به این سرطان ایفا می‌کند به طوری که علت ۹۰ تا ۹۵ درصد موارد سرطان دهانه‌ی رحم را به عفونت با این ویروس منسوب می‌کنند(۵-۷)؛ در عین حال، عفونت با ویروس پاپیلومای انسانی دلیل کافی برای ابتلا به این سرطان محسوب نمی‌شود، زیرا این ویروس در تعدادی از زنان سالمی که از نظر سیتولوژیک نرمال هستند، هم مشاهده شده است و سرطان دهانه رحم تنها در نسبتی از زنان دارای عفونت ویروس پاپیلومای انسانی رخ می‌دهد. علاوه بر این، خصوصیات فردی شامل سابقه جنسی فعال، سیستم ایمنی ضعیف شده، و مصرف سیگار نیز به عنوان سایر عوامل خطر سرطان دهانه‌ی رحم مورد تایید قرار گرفته‌اند(۸). این مطالعه با هدف بررسی فراوانی عفونت به ویروس پاپیلومای انسانی در زنان مبتلا به سرطان دهانه‌ی رحم و تعیین فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف این ویروس در بیمارستان‌های شهدای تجریش و امام حسین (ع) تهران در طی یک دوره ده ساله انجام شده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه‌ی توصیفی مقطعی ،جامعه مورد پژوهش کلیه زنان مراجعه کننده به بیمارستان‌های امام حسین (ع) و شهدای تجریش با علائم مرتبط به سرطان دهانه‌ی رحم، شامل خونریزی و ترشح واژینال غیرطبیعی در طی سال‌های ۱۳۸۷-۱۳۷۸بودند. نمونه مورد مطالعه شامل ۷۲ مورد بودند که بخش پاتولوژی این دو مرکز درمانی، ابتلای آن‌ها را به سرطان دهانه رحم تائید کرده بود. اطلاعات ثبت شامل سن فرد، سن ازدواج، تعداد زایمان، سطح تحصیلات، وضعیت تاهل، سابقه بیماری‌های آمیزشی، سیگار کشیدن و روش پیشگیری از حاملگی جمع‌آوری شد. در مرحله بعد لام‌های مورد نظر مجدداً توسط پاتولوژیست بازخوانی شده تا بلوک‌های موردنظر جهت ارسال برای HPV typing مشخص شود. سپس هر یک از بلوک‌های مد نظر با استفاده از ابزار یک بار مصرف (به منظور جلوگیری از آلودگی نمونه‌ها با هم) برش‌هایی به تعداد ۵ تا ۱۰ عدد به قطر ۰/۵ میکرون تهیه و داخل لوله‌های استریل نگهداری و پس از پارافین زدایی از برش‌ها، از سلول‌های بافتی به دست آمده با استفاده از کیت‌های ساخت کمپانی QIA gene، DNA ژنوم ویروس استخراج گردید. سپس لوله‌ها داخل دستگاه Thermocycler قرار داده شدند تا جهت انجام واکنش PCR آماده شوند، و پس از آن از این تکنیک برای تشخیص ژنوم ویروس HPV استفاده شد. در این مرحله بر روی نمونه‌های +HPV با استفاده از کیت‌های Innolipa ساخت کمپانی InnoGenetics و پس از قرار دادن در انکوباتور و در دمای مناسب و با استفاده از روش Reverse Dot Blot وجود سکانس‌های ژنتیکی ۲۸ ژنوتیپ HPV تشخیص داده شد. از امار توصیفی جهت تجزیه وتحلیل داده ها استفاده شد.کلیه تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از نرم افزار Stata 11 انجام شده است. پروپوزال این پژوهش در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به تصویب رسیده است.

یافته ها و بحث

نتایج نشان دادند که از مجموع ۵۸ مورد، ۴۴ مورد HPV مثبت (۷۵/۹ درصد) بودند. از میان ژنوتیپ‌های مختلف HPV، در این مطالعه تنها دو ژنوتیپ نوع ۱۸ و ۱۶ در نمونه‌ها دیده شدند و سایر ژنوتیپ‌های HPV دیده نشدند. همچنین از بین کل موارد، ۸۱/۸ درصد از مواردHPV مثبت از نوع ۱۶ و بقیه موارد (۸ مورد) از نوع ۱۸ بودند. این ویروس‌ها از شایع‌ترین ویروس‌های دخیل در پاتوژنز سرطان مهاجم دهانه رحم به شمار می‌روند در مطالعات انجام شده در کشور در چند سال اخیر، آلودگی به ویروس پاپیلومای انسانی در بین موارد مبتلا به سرطان دهانه‌ی رحم از منظرهای مختلف و با

روش‌های مختلفی سنجیده شده است که همگی نشان از بالا بودن آلودگی در بین جامعه زنان ایرانی دارد. برای مثال در مطالعه یارندی و همکاران در سال ۱۳۸۵ و مطالعه خداکرمی در سال ۱۳۹۰ شیوع آلودگی به ویروس پاپیلومای انسانی به ترتیب در نمونه‌های گرفته شده از سرطان دهانه‌ی رحم و جمعیت شهری تهران بررسی شدند، نتایج این مطالعات نشان دادند در در ۶۱ درصد نمونه‌های مبتلا به سرطان دهانه‌ی رحم، این آلودگی وجود دارد، همچنین شیوع آلودگی به این ویروس در جمعیت شهری تهران در مناطق تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی برابر ۷/۸ درصد بوده که پایینتر از بسیاری از کشورهای جهان است(۱۰،۹). با توجه به گزارش شیوع بسیار بالای این ویروس در مطالعات مختلف ذکر شده و همانندی الگوی انتشار بیماری به بسیاری از کشورهای دنیا، لزوم توجه و تبین استراتژی‌های خاص برای پیشگیری از این عامل خطر بیش از گذشته در کشور نمایان است. جدول شماره ۱ توزیع فراوانی پاپیلوما ویروس انسانی را بر اساس عوامل خطر سرطان دهانه رحم نشان می‌دهد. هم‌چنین نسبت شانس و حدود اطمینان هر عامل را برای ابتلا به پاپیلوما ویروس انسانی نشان داده شده است.

نتایج نشان می‌دهند که غیر از سن ازداوج فرد، سایر متغیرها با افزایش خطر آلودگی به ویروس HPV همراه هستند. در مطالعه مصطفوی‌زاده و همکاران نیز متغیرهای مطرح شده در این مطالعه بررسی و هیچ اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشده است(۱۱). فراوانی موارد HPV مثبت و HPV منفی در هر یک از انواع پاتولوژیک SCC و آدنوکارسینیوم و نوع ژنوتیپ ویروس در جدول شماره ۲ آورده شده است.

همان‌گونه که نتایج نشان می‌دهند نوع SCC بیش‌تر به ویروس نوع HPV ۱۶ آلوده شده است و این در حالی است که در سرطان دهانه رحم از نوع آدنوکارسینیوم آلودگی به ویروس HPV کم‌تر دیده می‌شود. نکته قابل توجه در این مطالعه این‌که کلیه

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی پاپیلوما ویروس انسانی بر حسب عوامل خطر انسانی سرطان دهانه‌ی رحم در افراد مراجعه مراجعه کننده به بیمارستان‌های شهدا و امام حسین (ع) تهران

عوامل خطر	طبقه متغیر	HPV^+ تعداد (درصد)	HPV^- تعداد (درصد)	مجموع	نسبت شانس کلاسیک (حدود اطمینان)
سن فرد	<۳۹	(۷۱)۱۰	(۲۹)۴	۱۴	طبقه مرجع
	۴۰-۵۹	(۷۷)۲۷	(۲۳)۸	۳۵	۱/۳۵ (۰/۳۳-۵/۴۷)
	۶۰>	(۷۸)۷	(۱۲)۲	۹	۱/۴ (۰/۲-۹/۷)
سن ازدواج	<۱۸	(۶۸)۱۳	(۳۲)۶	۱۹	۰/۵۶ (۰/۱۶-۱/۹۳)
	>۱۸	(۷۹)۳۱	(۲۱)۸	۳۹	طبقه مرجع
تعداد زایمان	>۳	(۷۰)۱۷	(۳۰)۷	۲۴	طبقه مرجع
	>۴	(۷۹)۲۷	(۲۱)۷	۳۴	۱/۵۸ (۰/۱۲-۲۰/۶)
مصرف سیگار	خیر	(۷۳)۳۶	(۲۷)۱۳	۴۹	طبقه مرجع
	بله	(۸۹)۸	(۱۱)۱	۹	۲/۸۸ (۰/۳۳-۲۵)
وضعیت تاهل	متاهل	(۷۷)۳۸	(۲۳)۱۱	۴۹	طبقه مرجع
	بیوه	(۸۰)۴	(۲۰)۱	۵	۱/۱۵ (۰/۱۲-۱۱/۳)
	مطلقه	(۵۰)۲	(/۵۰)۲	۴	۰/۲۸ (۰/۰۴-۲/۳۸)
سابقه بیماری آمیزشی	بله	(۸۲)۹	(۱۸)۲	۱۱	۱/۵۴ (۰/۲۹-۸)
	خیر	(۷۴)۳۵	(۲۶)۱۲	۴۷	طبقه مرجع
قرص ضد بارداری	بله	۳۲	۷	۳۹	۲/۶ (۰/۷۴-۸/۹)
	خیر	۱۲	۷	۱۹	طبقه مرجع

جدول شماره ۲: بررسی پاتولوژی سرطان دهانه‌ی رحم افراد مورد بررسی بر اساس وجود HPV و ژنوتیپ آن

نوع پاتولوژی	آلودگی به ویروس HPV تعداد (درصد)		ژنوتیپ HPV تعداد (درصد)	
	مثبت	منفی	HPV ۱۶	HPV ۱۸
سرطان سلول سنگفرشی	۴۱ (۸۵/۴)	۷ (۱۴/۶)	۳۵ (۷۲/۹)	۷ (۱۴/۵)
آدنوکارسینیوم	۳ (۳۰)	۷ (۷۰)	۱ (۱۰)	۲ (۲۰)
مجموع	۴۴	۱۴	۳۶	۹

آلودگی‌های تایید شده نمونه‌ها به HPV از نوع پر خطر ۱۶ و ۱۸ بوده است و نوع کم خطر آن در این مطالعه دیده نشده است. مطالعات انجام داده شده در نقاط مختلف کشور میزان آلودگی‌های مختلفی را گزارش کرده‌اند، برای مثال در مطالعه فرجادیان و همکاران شیوع ابتلا به HPV نوع ۱۶ در نمونه‌های گرفته شده از بیماران با سرطان دهانه رحم را ۲۶ درصد و آلودگی به نوع ۱۸ را در این افراد را صفر گزارش کرده‌اند، در حالی که در مطالعه ما این مقادیر به ترتیب ۶۲ و ۱۴ درصد بوده‌اند. این میزان اختلاف که در مطالعات

گوناگون انجام گرفته به وفور به چشم می‌خورد را، می‌توان ناشی تفاوت شیوع عوامل خطر یا تفاوت ویژگی‌های جمعیتی در نمونه های مختلف تفسیر کرد(۱۴- ۱۲). با توجه با شیوع بالای ویروس HPV در زنان ایرانی، استفاده از واکسن‌های موجود و موثر بر علیه ویروس پاپیلومای انسانی و راهکارهای ارتقای بهداشت با تمرکز بر تغییر رفتارهای جنسی و پیشگیری از بیماری‌های آمیزشی می‌تواند در پیشگیری از عفونت با ویروس پاپیلومای انسانی و در مرحله بعد سرطان دهانه‌ی رحم موثر واقع شود.

References

1. Giorgi Rossi P, Baldacchini F, Ronco G. The possible effects on socio-economic inequalities of introducing HPV testing as primary test in cervical cancer screening programs. Front Oncol 2014; 4: 20.
2. Msyamboza KP, Dzamalala CH, Mdokwe C, Kamiza S, Lemerani M, Dzowela T, et al. Burden of cancer in Malawi; common types, incidence and trends: National population-based cancer registry. BMC Research Notes 2012; 5(1): 149.
3. Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. —summary document. Ann Oncol 2010; 21(3): 448-458.
4. International Agency for Research on Cancer (WHO). IARC handbooks of cancer prevention: IARC; 2005.
5. Bernard H U, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, Hausen Hz, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. Virology 2010; 401(1): 70-79.
6. Bian ML, Cheng JY, Ma L, Cong X, Liu J, Chen Y, et al. Evaluation of the detection of 14 high-risk human papillomaviruses with HPV 16 and HPV 18 genotyping for cervical cancer screening. Exp Ther Med 2013; 6(5): 1332-1336.
7. Kitchener HC, Almonte M, Thomson C, Wheeler P, Sargent A, Stoykova B, et al. HPV testing in combination with liquid-based cytology in primary cervical screening (ARTISTIC): a randomised controlled trial. Lancet Oncol 2009; 10(7): 672-682.
8. Zeller JL, Lynm C, Glass RM. Carcinoma of the Cervix. JAMA 2007; 298(19): 2336.
9. Yarandi F, Izadi Mood N, Eftekhar Z, Niakan R, Tajziachi S. HPV infection among patients with high grade cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma of cervix. Tehran Univ Med J 2008; 65(14): 5-11 (Persian).
10. Khodakarami N, Hosseini S, Yavari P, Farzaneh F, Etemad K, Salehpour S, et al. Human Papillomavirus Infection Prevalence in Women Referred to Health Clinic of Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. IRJE 2012; 7(4): 35-42 (Persian).
11. Mostafavizadeh M, Ahmadi A, Aghabozorgi S, Lak R, Azimi A, Pirozmand A. Frequency distribution of HPV18 based on the detection of E6 oncoprotein gene in cervix cancer samples. Feyz 2013; 17(3): 287-293 (Persian).
12. Farjadian S, Asadi E, Doroudchi M, Dehaghani AS, Tabei S, Kumar V, et al. High risk HPV types in southern Iranian patients with cervical cancer. Pathol Oncol Res 2003; 9(2): 121-125.

13. Ghaffari SR, Sabokbar T, Mollahajian H, Dastan J, Ramezanzadeh F, Ensani F, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes in women with normal and abnormal cervical cytology in Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2006; 7(4): 529-532.

14. Zadi K, Eghbali S, Hamkar R, Ahmadi SH, Farshadpour F, Rastian Z, et al. Prevalence of various Human Papillomavirus (HPV) genotypes among women who subjected to routine Pap smear test in Bushehr city (South west of Iran) 2008-2009. Virology Journal 2010; 7: 56 (Persian).