

Detection and Evaluate the Frequency of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus in Bladder Tumor Samples in Hamedan Province, 1392

Zohre Alinezhad¹, Masoud Ghaneh², Hami Kabousi¹

1. Department of Microbiology, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran.

2. Department of Microbiology, Faculty of Biology Sciences, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran

Article Information

Article history:

Received: 2014/09/13

Accepted: 2015/01/15

Available online: 2015/03/30

Article Subject:

Medical Virology

IJMM 1394; 9(1): 22-28

Corresponding author at:

Zohre Alinezhad

Department of Microbiology,
Islamic Azad University,
Ayatollah Amoli Branch, Amol,
Iran.

Email:

zohreh_alinezhad@aol.com

Abstract

Background and Aim: Some unknown reasons as the cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr virus (EBV) in the incidence of bladder cancer has been much discussed in recent years. The purpose of this study was to identify and Evaluate the frequency CMV and EBV in bladder tumors.

Materials and Methods: Fourty sampls of TCC bladder carcinoma collected from the pathology department of the dr Gharazi hospital in hamedan during summer 2012. samples deparaffinized and DNA extracted by tissue kit (Qiagen). The human beta-globin gene amplified to ensure the accuracy and integrity of the extracted DNA. To perform the PCR, primers amplified BRLF1 gene for EPV and UL123 for CMV. Therefore amplified fragments were observed on 1.5% agarose gel. Finally the chi-square test were used to assess the relationship between viruses and their relationship to the incidence of bladder cancer.

Results: From 40 carcinoma samples studied 4 (10%) were infected with the CMV virus and 29 samples (72.5%) were infected with EBV. Four samples were simultaneously infected with both viruses. The relationship between age, tumor stage, CMV and EBV virus wasn't observed ($P < 0.05$).

Conclusions: CMV and EBV can be detected by optimized PCR protocol from bladder cancer. No significant association was observed. The high prevalence of EBV develops this theory that EBV was a factor in bladder cancer.

Key Words: Bladder carcinoma, PCR, CMV, EBV

Copyright © 2015 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Alinezhad Z, Ghane M, Kaboosi H. Detection and Evaluate the Frequency of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus in Bladder Tumor Samples in Hamedan Province, 1392. Iran J Med Microbiol. 2015; 1394 (1) :22-28

تشخیص و بررسی فراوانی سیتومگالو ویروس و اپشتاین بار ویروس در نمونه های تومور

مثانه استان همدان در سال ۱۳۹۲

زهرة علی نژاد^۱، مسعود قانع^۲، حامی کابوسی^۱

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله امین، آمل، ایران
۲. گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و اهداف: یک سری وقایع ناشناخته مانند حضور سیتومگالو ویروس (CMV) و اپشتاین بار ویروس (EBV) در بروز سرطان مثانه در سالهای اخیر بسیار مورد بحث قرار گرفته است. هدف از اجرای این مطالعه تشخیص و بررسی فراوانی CMV و EBV در تومورهای مثانه است.

مواد و روش کار: ۴۰ نمونه کارسینوم مثانه از نوع TCC، از بخش پاتولوژی بیمارستان دکتر غرضی ملایر در تابستان ۹۲ جمع آوری گردید. نمونه ها دیپارافینه شده و استخراج DNA از بافت با کیت (کیاژن) اجرا شد. از ژن بتا گلوبین انسانی به منظور اطمینان از صحت استخراج و سالم بودن DNA، استفاده شد. به منظور اجرای روند PCR، از پرایمرهایی برای تکثیر قطعه BRLF1 ویروس EPV و UL123 برای تشخیص ویروس CMV بهره بردیم. بعد از اجرای تکنیک PCR، نمونه ها جهت مشاهده قطعات تکثیر شده در ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز شدند. در خاتمه از آزمون کای دو جهت بررسی رابطه بین میزان فراوانی این ویروس ها و ارتباط آن ها با سرطان مثانه استفاده شد.

یافته ها: از مجموع ۴۰ نمونه کارسینوم مورد مطالعه، ۴ نمونه (۱۰٪) با ویروس CMV و ۲۹ نمونه (۷۲/۵٪) با ویروس EBV آلوده بودند. ۴ نمونه همزمان به هر دو ویروس آلوده بودند. رابطه ای بین سن، مرحله تومور و ویروس CMV و EBV مشاهده نشد. ($P < 0.05$)

نتیجه گیری: CMV و EBV با پروتکل بهینه PCR قابل تشخیص بوده و بین CMV DNA و بروز سرطان هیچ ارتباط معنی داری مشاهده نشد، اما شیوع بالای EBV این فرضیه را توسعه می بخشد که EBV یک عامل در سرطان مثانه است.

کلمات کلیدی: کارسینوم مثانه، EBV، CMV، PCR

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبیولوژی پزشکی ایران محفوظ است.

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۱۶

پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۲۵

انتشار آنلاین: ۱۳۹۴/۰۱/۱۰

موضوع:

ویروس شناسی پزشکی

IJMM 1394; 9(1): 22-28

نویسنده مسئول:

زهرة علی نژاد

گروه میکروبیولوژی، دانشگاه

آزاد اسلامی واحد آیت الله امین،

آمل، آمل، ایران

تلفن: ۰۹۱۱۳۴۴۳۲۶۳

پست الکترونیک:

zohreh_alinezhad@aol.com

مقدمه

اختصار TCC نامیده می شود (۳). این شایع ترین نوع سرطان مثانه محسوب می شود و حدود ۹۵ درصد از سرطان های مثانه از این نوع هستند (۴). در این سرطان، سلول های انتقالی که قابلیت انبساط و انقباض مثانه در هنگام پر و خالی بودن آن دارد، دچار اختلال می شوند (۵). سلول های حاصل از کارسینومای سلول انتقالی شبیه به سلول های اوروتلیال (پیشابراهی) هستند که داخل مثانه قرار دارند (۶). سلول های اوروتلیال، همچنین بخش های دیگری از مجاری ادراری مثل لگنچه، میزنای و

سرطان مثانه دومین سرطان شایع دستگاه تناسلی- ادراری در بزرگسالان محسوب شده و در بعضی مناطق جهان، مثل آفریقا، شایعترین سرطان بشمار می آید (۱). این سرطان چهارمین سرطان شایع در مردان و هشتمین نوع سرطان در زنان است و شیوع آن در مردان به طور میانگین سه برابر زنان است (۲). در کشورهای صنعتی مثل آمریکا، کانادا و فرانسه بیش از ۹۰٪ موارد سرطان مثانه از نوع کارسینومای سلول انتقالی (Transitional Cell (urothelial) Carcinoma) است که به

های تشخیص سریع و دقیق از اهمیت خاصی برخوردارند. همچنین میزان فراوانی و شیوع حضور این ویروس ها در موارد ابتلا به سرطان مثانه را نیز مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت آزمایشگاهی انجام شده و تمام موارد اخلاقی مطابق معاهده هلسینکی، رعایت شده است.

جمع آوری نمونه‌ها

در این تحقیق ۴۰ نمونه کارسینومای مثانه از نوع TCC، به شکل پارافینه شده در زمستان ۱۳۹۲ از آزمایشگاه پاتولوژی بیمارستان شهید غرضی استان همدان، 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 مرحله تومور از پرونده بیماران استخراج شد.

دپارافینه کردن

ابتدا از بلوک های پارافینه توسط تیغ میکروتوم (N:35) استریل به کمک دستگاه میکروتوم برش های ۵ میکرونی تهیه گردید و درون ظروف استریل منتقل شد. سپس برش ها در محلول زایلن (مرک- آلمان) به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند تا دپارافینه شوند. به منظور آبیگری، 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.

استخراج DNA از بافت

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

واکنش زنجیره ای پلی مرز 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 که پس از استخراج از مقالات علمی (۲۱)، توسط

پیشابراه را می پوشاند، بنابراین سرطان های سلول انتقالی در این مکان ها نیز رخ می دهند. بنابراین اگر فردی در یک قسمت از سیستم ادراری خود، سرطان داشته باشد، کل مجرای ادراری باید به خاطر وجود تومور، چک شود (۷).

عوامل کارسینوژنیک و کوکارسینوژنیک متعددی در ایجاد سرطان مثانه دخیل می باشند که از جمله آنها می توان به سن، جنس، استعمال دخانیات، مصرف الکل، نوع شغل افراد (کارگران صنایع شیمیایی، رنگ سازی، نفت و ...)، مصرف طولانی مدت داروهای مسکن و ضد سرطان، تماس با موادی مثل بنزیدین، هیدروکربن های پلی سیکلیک آروماتیک، تماس با آرسنیک (در منابع آبی)، عفونت شیستوزومی، عفونت های ویروسی و یکسری وقایع ناشناخته کروموزومی اشاره نمود که از میان آنها نقش عفونت های ویروسی، در سالهای اخیر بسیار مورد بحث قرار گرفته است. مطالعات صورت گرفته در دو دهه اخیر نقش ویروس ها را در ایجاد سرطان ها ثابت نموده است (۸، ۹). از بین ویروس های بیماری زای شناخته شده، خانواده هرپس ویروس ها با هشت نوع ویروس مختلف بررسی شده است. این خانواده می تواند سلول های مختلفی را گرفتار سازد و علائم کلینیکی متفاوتی را به وجود آورد که بسیاری از آن ها در نمونه های TCC انسانی آشکار شده اند (۱۰). DNA اپشتاین بار ویروس (HHV-4 یا EBV) در پیشابراه مردان مشاهده گردیده و همچنین ثابت شده است که سیتومگالو ویروس انسانی (HHV-5 یا CMV) با آدنومای نفروژنیک مرتبط است (۱۱). سیتومگالو ویروس ها در سلول های اپی تلیال مجرای تنفسی، غدد بزاقی و کلیه تکثیر می یابند و در لنفوسیت ها باقی می مانند. این ویروس عامل منونوکلئوز عفونی نیز هستند. در نوزادان، گاهی بیماری انکلوزیون سیتومگالیک ایجاد می شود. در این حالت، سیتومگالو ویروس عامل عمده ای در ایجاد ناهنجاری های مادرزادی و عقب ماندگی ذهنی می باشد. همچنین سیتومگالو ویروس در تمام نقاط دنیا به شکل، اندمیک شیوع دارد. این ویروس در سرتاسر سال شیوع داشته و تغییرات فصلی در میزان فراوانی آن، موثر نیست (۱۲). لذا باتوجه گزارشات سازمان بهداشت جهانی و انستیتو بین المللی سرطان درباره کارسینومای مثانه به عنوان یکی از شایعترین سرطان ها در سراسر دنیا و کنترل و مهار این بیماری که جز مسائل کلان بهداشتی در سراسر دنیا و کشور ما تلقی می شود (۱۳) این مطالعه به تشخیص CMV و EBV با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره ای پلی مرز بهینه شده می پردازد. بدیهی است که تست-

متعاقب آن ۳۵ سیکل PCR به صورت ۹۵ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه، ۵۹ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سلسیوس برای ۴۰ 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 انجام الکتروفورز در ۲۰- درجه سلسیوس قرار داده شدند. توالی پرایمر ها درج شده در جدول ۱ قطعه ۱۷۵ جفت بازی را برای ژن UL123 تکثیر می کرد (۱۴). محصول PCR برای بررسی های نهایی بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ برده شد.

تکثیر ژنوم اپشتاین بار ویروس

برای انجام PCR، از کیت تجاری Genet bio- made in Primer Taq Premix (2X) korea استفاده گردید. مخلوط واکنش PCR برای انجام یک واکنش با حجم ۲۰ میکرولیتر به این صورت تهیه گردید: ۱۰ میکرولیتر 1X Master Mix داخل کیت، 1 میکرولیتر پرایمر ریورس (۱۰ پیکومول)، ۱ میکرولیتر پرایمر فوروارد (۱۰ پیکومول) و ۵ میکرولیتر از DNA الگو (با غلظت ۵ نانوگرم) جهت آغاز فرآیند پلی مریزاسیون توسط دستگاه ترموسایکلر 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، ۷۲ درجه سلسیوس برای ۴۰ 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 الکتروفورز در ۲۰- درجه سلسیوس قرار داده شدند. توالی پرایمر ها درج شده در جدول ۱ که یک قطعه ۱۰۲ جفت بازی از ژن BRLF1 تکثیر می کند (۱۴). محصول PCR برای بررسی های نهایی بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ برده شد.

شرکت Tag Copenhagen-Denmark (دانمارک) سنتز گردیدند. با توالی 3'-(TCCAACATCAACATCTTGGT)-5' و 3'-(TCCCCAAATTCTAAGCAGA)-5' یک قطعه ۱۲۲ جفت بازی را تکثیر می کردند (۱۴).

مخلوط واکنش PCR برای انجام یک واکنش با حجم ۲۰ میکرولیتر به این صورت تهیه گردید ۱۰ میکرولیتر Master mix، ۱ میکرولیتر پرایمر فوروارد، ۱ میکرولیتر پرایمر ریورس (با غلظت 10 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 سلسیوس تنظیم گردید. متعاقب آن ۳۵ سیکل PCR به صورت ۹۵ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه، ۵۵ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس برای ۴۰ ثانیه اجرا گردید. در نهایت به مدت ۵ دقیقه نیز عمل طویل سازی نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس اجرا گردید.

تکثیر ژنوم سیتومگالو ویروس

برای انجام PCR، از کیت تجاری Genet bio - made in Primer Taq Premix (2X) korea استفاده گردید. مخلوط واکنش PCR برای انجام یک واکنش با حجم ۲۰ میکرولیتر را به صورت ۱۰ میکرولیتر Master mix کیت، 1 میکرولیتر پرایمر ریورس و ۱ میکرولیتر پرایمر فوروارد به غلظت ۱۰ پیکومول، ۳ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۵ میکرولیتر از DNA الگو، طراحی شد.

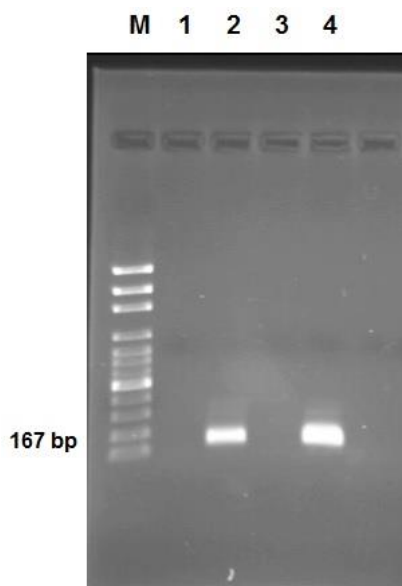
جهت آغاز فرآیند پلی مریزاسیون توسط دستگاه ترموسایکلر به مدت ۵ دقیقه بر روی ۹۵ درجه سلسیوس تنظیم گردید.

جدول ۱: توالی پرایمر های تشخیصی ویروس سیتومگالو ویروس و اپشتاین بار ویروس

نام پرایمر	توالی پرایمری	سایز قطعه
EBV- F	5'-(GTGTGCGTCGTGCCGGGGCAGCCAC)-3'	۱۰۲
EBV- R	5'-(ACCTGGGAGGGCCATCGCAAGCTCC)-3'	
CMV- F	5'-(TCTGCCAGGACATCTTTCTC)-3'	۱۶۷
CMV- R	5'-(GTCACCAAGGCCACGACGTT)-3'	

تشخیص عفونت CMV

جهت شناسایی DNA سیتومگالو ویروس در نمونه های بافت از تکنیک PCR استفاده شد. مشاهده قطعه 167 جفت بازی نشان دهنده تکثیر DNA ویروس می باشد



شکل ۲: آگاروز ژل الکتروفورزیس سیتومگالو ویروس: M سایز مارکر 100bp، چاهک شماره ۱ کنترل منفی، چاهک شماره ۲ نمونه کنترل مثبت، چاهک شماره ۳ نمونه منفی، چاهک شماره ۴ نمونه مثبت

در مجموع از ۴۰ نمونه کارسینوم مورد مطالعه ۴ نمونه (۱۰٪) از نظر حضور ویروس CMV مثبت بودند. از ۴ بیمار CMV مثبت، از نظر جنسیت، ۱ نمونه (۲/۵٪) زن و ۳ نمونه (۷/۵٪) دیگر مرد بودند، از طرفی ۷/۸۹ درصد مردان و ۵۰ درصد از زنان مورد بررسی به ویروس CMV مبتلا هستند.

برای بررسی رابطه بین میزان فراوانی ویروس CMV و گروه سنی، از آزمون کای دو استفاده شد. با توجه به اینکه مقدار برای آزمون استقلال کای دو، برابر با ۰/۱۷۲ و بزرگتر از ۰/۰۵ شده است نتیجه می گیریم که در سطح اطمینان ۹۵٪ رابطه بین میزان ویروس CMV و گروه سنی تایید نمی شود و این بدان معنی است که بین میزان فراوانی ویروس CMV و گروه سنی رابطه وجود ندارد.

برای سنجش میزان رابطه بین فراوانی ویروس CMV و مرحله تومور، از آزمون کای دو استفاده شد. با توجه به اینکه

بررسی آماری و اطلاعات دموگرافیک و اپیدمیولوژیک

در این بخش به منظور توصیف ویژگی های نمونه، ابتدا داده های جمع آوری شده با استفاده از شاخص های آمار توصیفی، در نرم افزار Spss نسخه ۱۶، خلاصه و نتیجه گیری گردید. 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

یافته ها

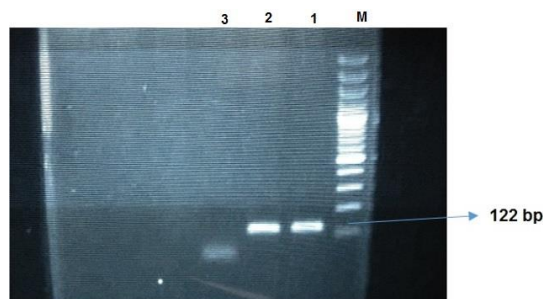
بررسی اطلاعات دموگرافیک و اپیدمیولوژیک

در این مطالعه از نظر تفکیک جنسیتی ۳۸ نفر (۹۵٪) از افراد مورد بررسی مرد و ۲ نفر (۵٪) از آنها زن هستند. میانگین سنی بیماران مبتلا به سرطان مثانه شامل گروه سنی ۳۰ تا ۵۰ سال ۸ نفر (۲۰٪) و بالای ۵۰ سال ۳۲ نفر (۸۰٪) می باشد. تمام نمونه های مورد مطالعه از نوع کارسینومای سلول انتقالی TCC بودند.

۲ نفر (۵٪) از بیماران در مرحله خوش خیم و غیرتهاجمی، ۱ نفر (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 شد.

تکثیر ژن بتاگلوبولین انسانی

جهت تایید حضور DNA و قابل PCR بودن آن از پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر ژن بتا گلوبولین انسانی استفاده گردید. مشاهده قطعه 122 bp نشان دهنده تکثیر قطعه ای از ژن بتاگلوبولین انسانی است.



شکل ۱: آگاروز ژل الکتروفورزیس ژن بتاگلوبولین: M سایز نشانگر استاندارد با وزن 100bp از شرکت فرمنتاز، چاهک شماره ۱ و ۲ نمونه های تومور مورد بررسی، چاهک شماره ۳ کنترل منفی

برای بررسی رابطه بین میزان فراوانی ویروس EBV و گروه سنی، از آزمون کای دو استفاده شد. با توجه به اینکه مقدار برای آزمون استقلال کای دو، برابر با ۰/۳۸۱ و بزرگتر از ۰/۰۵ شده است نتیجه می‌گیریم که در سطح اطمینان ۹۵٪ رابطه بین میزان ویروس EBV و گروه سنی تایید نمی‌شود و این بدان معنی است که بین میزان فراوانی ویروس EBV و گروه سنی رابطه وجود ندارد.

برای بررسی رابطه بین میزان فراوانی ویروس EBV و مرحله تومور، از آزمون کای دو استفاده شد. با توجه به اینکه مقدار برای آزمون استقلال کای دو، برابر با ۰/۱۲۱ و بزرگتر از ۰/۰۵ شده است نتیجه می‌گیریم که در سطح اطمینان ۹۵٪ رابطه بین میزان ویروس EBV و مرحله تومور تایید نمی‌شود و این بدان معنی است که بین میزان فراوانی ویروس EBV و مرحله تومور رابطه وجود ندارد.

بحث

این مطالعه 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 می‌باشد (۱۵)، این آمار نیز فراوانی محلی را برای این بیماری نشان می‌دهد که منطبق بر آمار جهانی می‌باشد. همچنین ۲۰ درصد افراد مورد بررسی سن آنها بین ۳۰ تا ۵۰ سال و ۸۰ درصد آنها بالای ۵۰ سال سن دارند. همه نمونه‌های تومور نیز از نوع کارسینومای سلول انتقالی (TCC) می‌باشند. نمونه‌ها از نظر درجه تومور شامل ۲ نمونه در مرحله ۰ (غیر تهاجمی یا خوش خیم)، ۱ نمونه در مرحله I، ۲۷ نمونه در مرحله II، ۶ نمونه در مرحله III و ۴ نمونه در مرحله IV تومور قرار داشتند.

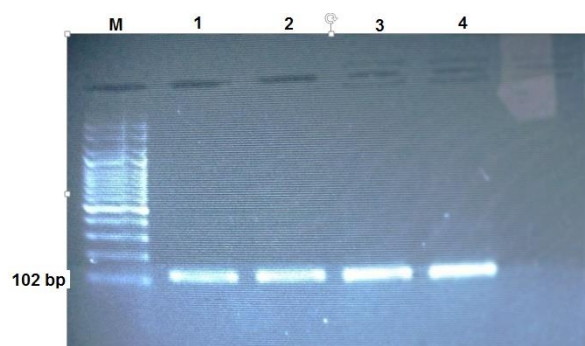
همچنین در این تحقیق که به منظور تعیین فراوانی ویروس CMV بر روی تومورهای مثانه انجام شد، از تمام نمونه تومورهای مورد مطالعه ۴ نمونه از نظر حضور ویروس CMV مثبت بودند و شیوع آن در تومور مثانه ۱۰٪ گزارش می‌شود. که تا بحال گزارش نشده است.

در مطالعه ای مشابه توسط Gazzaniga و همکارانش انجام شد، حضور ژنوم CMV در ۳۵ نمونه از سرطان مثانه با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) مورد بررسی قرار

مقدار برای آزمون استقلال کای دو، برابر با ۰/۹۳۲ و بزرگتر از ۰/۰۵ شده است نتیجه می‌گیریم که در سطح اطمینان ۹۵٪ رابطه بین میزان ویروس CMV و مرحله تومور معنی دار نشده است. این بدان معنی است که بین میزان فراوانی ویروس CMV و مرحله تومور رابطه وجود ندارد.

تشخیص عفونت EBV

جهت شناسایی DNA ویروس اپشتاین بار در نمونه های بافت از تکنیک PCR استفاده شد. مشاهده قطعه 102 bp نشان دهنده تکثیر DNA ویروس می باشد.



شکل ۳: آگاروز ژل الکتروفوریز ویروس اپشتاین بار: M: سایز مارکر 100bp، چاهک شماره ۱ کنترل مثبت، چاهک شماره ۲ و ۳ ۴ نمونه های مثبت، چاهک شماره ۵ کنترل منفی

در مجموع از ۴۰ نمونه کارسینوم مورد مطالعه ۲۹ مورد (۷۲/۵٪) از نظر حضور ویروس EBV مثبت بودند. از ۲۹ بیمار EBV مثبت، از لحاظ جنسیت ۲ نمونه (۵٪) زن و ۲۷ نمونه (۶۷/۵٪) دیگر مرد بودند از طرفی ۷۱ درصد مردان و ۱۰۰ درصد زنان مورد بررسی به ویروس EBV مبتلا هستند.

از ۲۹ بیمار EBV مثبت، ۵ نفر (۱۲/۵٪) در گروه سنی ۵۰-۳۰ سال و ۲۴ نفر (۶۰٪) در گروه سنی بالای ۵۰ سال قرار داشتند، از طرفی ۶۲/۵٪ افراد ۳۰ تا ۵۰ سال و ۷۵٪ افراد بالای ۵۰ سال مورد بررسی از لحاظ حضور عفونت EBV مثبت بودند

در بین ۲۹ نمونه EBV مثبت، ۲ نفر (۵٪) در مرحله ۰ یا غیر تهاجمی (خوش خیم)، ۱ نفر (۲/۵٪) در مرحله I، ۱۶ نفر (۴۰٪) در مرحله II، ۶ نفر (۱۵٪) در مرحله III و ۴ نفر (۱۰٪) در مرحله IV قرار داشتند. از طرفی ۱۰۰٪ از افرادی که در مرحله ۰، I، II، III، IV و ۵۹/۲۶٪ از افرادی که در مرحله II تومور قرار داشتند، از نظر حضور عفونت EBV مثبت می باشند.

کردند (۱۸)، در صورتی که تنها در لنفوسیت های نفوذی ۷٪ و تنها در سلول های سرطانی ۳٪ به دست آمد. این تحقیق نشان می دهد که ارتباط قوی بین عفونت EBV و بخش قابل توجهی از سلول های اوروتلیال اولیه تومور TCC وجود دارد (۱۸).

همچنین Barghi و همکارانش در یک تحقیق دیگر که در سال ۲۰۱۲ به ثبت رسید، به بررسی ارتباط بین شواهد عفونت ویروس پاپیلومای انسانی در کارسینوم سلول مثنانه در مردان و سرطان سرویکس در همسران آنان پرداختند (۱۹). این تحقیق روی ۸۲ بیمار مرد مبتلا به تومورهای مثنانه و همسران آنان بین فوریه ۲۰۰۴ و فوریه ۲۰۰۷ در تهران، انجام شد. نتیجه اینکه در ۲۴ مورد (۲۹/۳٪)، نمونه های تومور مثنانه برای عفونت HPV، مثبت بودند. از بین این ها، عفونت HPV-18 را در ۹ نفر (۳۷/۵٪) اثبات شد و ۳ نفر (۱۲/۵٪) هم به HPV-16 مبتلا بودند. همچنین شیوع این ویروس در سرطان سرویکس برای جامعه همسران زوج های مردان مبتلا به تومورهای مثنانه و HPV مثبت، ۴ مورد (۴/۹٪) گزارش شد.

در مطالعه حاضر همچنین پیشنهاد می شود که برای تأیید نقش کارسینوژن بودن ویروس ها در ایجاد سرطان مثنانه اینفلتراسیون لنفوسیتی برای هر نمونه توسط متخصص پاتولوژی بررسی شود.

در نهایت مشخص شد که CMV و EBV با پروتکل بهینه PCR قابل تشخیص بوده و بین DNA CMV و بروز سرطان هیچ ارتباط معنی داری مشاهده نشد، اما شیوع بالای EBV این فرضیه را توسعه می بخشد که EBV یک عامل در سرطان مثنانه است.

تقدیر و تشکر

نتایج این مطالعه برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد با کد شناسایی ثبت شده ۲۳۹۳۰۵۰۷۹۱۲۰۱۴ دانشگاه آزاد اسلامی واحد آمل می باشد. از تمامی عزیزانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، تشکر و قدردانی می نمایم.

تعارض منافع:

بین نویسندگان و مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

گرفت که به دنبال آن ژنوم CMV در ۱۱٪ از نمونه های بافتی مشاهده شد. با توجه به این که عدم وجود ژنوم ویروسی در مثنانه نرمال مشاهده شد نتیجه گرفتند که عفونت های ویروسی ممکن است در توسعه و پیشرفت برخی از انواع سرطان دستگاه ادراری در انسان نقش داشته باشند (۱۶).

Panagiotakis و همکارانش به منظور ارزیابی نقش CMV در تومورزایی سرطان مثنانه مطالعاتی روی ۳۰ نمونه تومور مثنانه و ۳۰ نمونه مخاط عادی مثنانه، با استفاده از PCR انجام دادند. DNA سیتومگالو ویروس در ۲۲ نمونه تومور و ۲۳ نمونه عادی، بدون هیچ ارتباط مثبتی با سرطان زایی آشکار شده است (۱۷)، که نتیجه آن با نتیجه ای که در این تحقیق به دست آمد مشابه است.

از آنجایی که ویروس EBV در پیدایش یک سری سرطان های انسانی نقش دارد، این تحقیق نیز به منظور تعیین فراوانی ویروس EBV در تومورهای مثنانه انجام شد که منجر به شناسایی این ویروس در تومور مثنانه گردید. از تمام نمونه تومورهای مورد مطالعه، ۲۹ نمونه از نظر حضور ویروس EBV مثبت بودند و شیوع آن در سرطان مثنانه ۷۲/۵٪ گزارش می شود.

وجود همزمان EBV و CMV در چهار نمونه آشکار شد که احتمال دارد همیاری بین این ویروس ها سرطان زایی مثنانه را افزایش دهد. چنین همیاری در سایر تومورهای انسانی هم یافت می شود. بیش از یک دهه است که فراوانی ویروس EBV در درصد بالایی از بیماران مبتلا به سرطان مثنانه مورد مطالعه ثابت شده است.

Gazzaniga و همکارانش در ۳۴٪، Panagiotakis و همکاران در سال ۲۰۱۲ در ۵۰٪ از تومورهای مثنانه حضور این ویروس را با استفاده از تکنیک PCR تایید نمودند (۱۶، ۱۷). در تحقیقات انجام شده، وجود EBV DNA در نمونه های تومور نسبت به بافت عادی، فراوان تر بود. تمامی این یافته ها این فرضیه را توسعه می بخشد که EBV یک عامل در سرطان مثنانه است و ممکن است در تحریک سرطان و یا پیشرفت تومور نقش داشته باشد.

Chuang در تحقیقاتی که بر روی یک سری بیماران تایوانی انجام دادند، RNA به رمز درآورنده EBV را در هر دو سلول های سرطانی و لنفوسیت های نفوذی به طور همزمان ۲۱٪ گزارش

References

1. Anastasiadis A, de Reijke TM. Best practice in the treatment of nonmuscle invasive bladder cancer. *Ther Adv Urol*. 2012;4(1):13-32.
2. Aldousari S, Kassouf W. Update on the management of non-muscle invasive bladder cancer. *Can Urol Assoc J*. 2010;4(1):56-64.
3. De Berardinis E, Busetto GM, Giovannone R, Antonini G, Di Placido M, Gentile V. Recurrent transitional cell carcinoma of the bladder: A mixed nested variant case report and literature review. *Can Urol Assoc J*. 2012;6(2):E57-60.
4. Babjuk M, Burger M, Zigeuner R, Shariat SF, van Rhijn BW, Comperat E, et al. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2013. *Eur Urol*. 2013;64(4):639-53.
5. Tanaka MF, Sonpavde G. Diagnosis and management of urothelial carcinoma of the bladder. *Postgrad Med*. 2011;123(3):43-55.
6. Raheem OA, Besharatian B, Hickey DP. Surgical management of bladder transitional cell carcinoma in a vesicular diverticulum: case report. *Can Urol Assoc J*. 2011;5(4):E60-4.
7. Shariat SF, Karam JA, Lotan Y, Karakiewicz PI. Critical evaluation of urinary markers for bladder cancer detection and monitoring. *Rev Urol*. 2008;10(2):120-35.
8. Alexiev BA, Randhawa P, Vazquez Martul E, Zeng G, Luo C, Ramos E, et al. BK virus-associated urinary bladder carcinoma in transplant recipients: report of 2 cases, review of the literature, and proposed pathogenetic model. *Hum Pathol*. 2013;44(5):908-17.
9. Abol-Enein H. Infection: is it a cause of bladder cancer? *Scand J Urol Nephrol Suppl*. 2008(218):79-84.
10. Badawi H, Ahmed H, Aboul Fadl L, Helmi A, Fam N, Diab M, et al. Herpes simplex virus type-2 in Egyptian patients with bladder cancer or cystitis. *APMIS*. 2010;118(1):37-44.
11. Abe T, Shinohara N, Tada M, Harabayashi T, Sazawa A, Maruyama S, et al. Infiltration of Epstein-Barr virus-harboring lymphocytes occurs in a large subset of bladder cancers. *Int J Urol*. 2008;15(5):429-34.
12. Freund CT, Tong XW, Block A, Contant CF, Kieback DG, Rowley DR, et al. Adenovirus-mediated suicide gene therapy for bladder cancer: comparison of the cytomegalovirus- and Rous sarcoma virus-promoter. *Anticancer Res*. 2000;20(5A):2811-6.
13. Pashos CL, Botteman MF, Laskin BL, Redaelli A. Bladder cancer: epidemiology, diagnosis, and management. *Cancer Pract*. 2002;10(6):311-22.
14. 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.
15. Freedman ND, Silverman DT, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Abnet CC. Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women. *JAMA*. 2011;306(7):737-45.
16. Gazzaniga P, Vercillo R, Gradilone A, Silvestri I, Gandini O, Napolitano M, et al. Prevalence of papillomavirus, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and herpes simplex virus type 2 in urinary bladder cancer. *J Med Virol*. 1998;55(4):262-7.
17. 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.
18. Chuang CK, Liao SK. Epstein-Barr virus infection in urothelial transitional cell carcinoma tissues. *BJU Int*. 2004;93(4):495-8.
19. 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.