

## آلودگی با تیپ‌های پاپیلوما ویروس انسانی در مبتلایان به کانسر سلول سنگفرشی و نئوپلازی داخل اپی‌تلیالی سرویکس با گرید بالا

### چکیده

**زمینه و هدف:** مطالعات اپیدمیولوژیک در بسیاری از کشورها ارتباط قوی را بین ویروس پاپیلوما‌ی انسانی (HPV) و کانسر سرویکس نشان داده‌اند که غیروابسته به سایر عوامل خطر ساز دیگر می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه تعیین فراوانی آلودگی با تیپ‌های HPV در زنان مراجعه‌کننده مبتلا به کانسر سلول سنگفرشی (SCC) و نئوپلازی داخل اپی‌تلیالی سرویکس با گرید بالا (CIN III و CIN II) در بیمارستان میرزا کوچک‌خان بود. **روش بررسی:** ۱۰۰ زن مبتلا به SCC و CIN II و CIN III تایید شده توسط پاتولوژی مراجعه‌کننده بیمارستان میرزا کوچک‌خان در سال‌های ۸۳-۱۳۷۸ به یک مطالعه مقطعی وارد شدند. نمونه‌های گرفته شده از آنها جهت استخراج DNA به روش واکنش پلیمرز زنجیره‌ای و سپس تایپینگ HPV مورد بررسی قرار گرفتند. **یافته‌ها:** استخراج DNA در ۷۷ نمونه امکان‌پذیر بود که DNA ویروس پاپیلوما‌ی انسانی از ۴۷ نمونه (از ۷۷ مورد) جدا شد. آلودگی با HPV در بین مبتلایان به SCC در ۳۲ نمونه (۸۶/۵٪) و در گروه CIN II و CIN III در ۱۵ نمونه (۳۷/۵٪) دیده شد. شایع‌ترین تیپ‌ها به ترتیب ۱۶ و ۱۸ (۵۹/۳۸٪) و بعد ۳۳ (۳۴/۳۸٪) در گروه SCC و در گروه CIN II و CIN III ۱۶ (۵۳/۳۳٪) و ۱۸ (۴۰٪) بودند. در هر دو گروه شایع‌ترین عفونت همزمان با دو تیپ ۱۶ و ۱۸ به ترتیب در ۴۰/۶۲٪ و ۲۶/۷٪ موارد دیده شد. **نتیجه‌گیری:** شایع‌ترین تیپ‌های HPV به‌دست آمده از بیماران مبتلا به SCC و CIN II و CIN III تیپ‌های ۱۶ و ۱۸ بودند که مشابه الگوی آلودگی در بسیاری از کشورها می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** کانسر سلول سنگفرشی، نئوپلازی داخل اپی‌تلیالی، پاپیلوما ویروس انسانی، واکنش پلیمرز زنجیره‌ای، سرویکس

فریبا یارندی<sup>۱\*</sup>

نرگس ایزدی مود<sup>۲</sup>

زهرا افتخار<sup>۱</sup>

رضا نیاکان<sup>۳</sup>

صفورا تجزیه‌چی<sup>۴</sup>

۱- گروه آنکولوژی زنان و مامائی

۲- گروه پاتولوژی

بیمارستان میرزا کوچک‌خان

دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد

۴- گروه جراحی زنان و زایمان، بیمارستان میرزا کوچک‌خان، دانشگاه علوم پزشکی تهران

\*نویسنده مسئول، تهران، خیابان کریم‌خان، خیابان نجات‌اللهی، بیمارستان میرزا کوچک‌خان، بخش آنکولوژی  
تلفن: ۸۸۹۷۶۱

email: fariba\_yarandi@yahoo.com

### مقدمه

سرویکس در میان برخی جمعیتها و از جمله ایران وجود دارد. هدف از انجام این مطالعه تعیین فراوانی آلودگی با تیپ‌های پاپیلوما ویروس انسانی در زنان ایرانی مبتلا به کانسر سلول سنگفرشی و نئوپلازی داخل اپی‌تلیالی سرویکس با گرید بالا می‌باشد.

### روش بررسی

در یک مطالعه از نوع مقطعی (cross sectional)، ۱۰۰ زن ایرانی مبتلا به کانسر سلول سنگفرشی و نئوپلازی داخل اپی‌تلیالی سرویکس با گرید بالا، مراجعه‌کننده به بیمارستان میرزا کوچک‌خان در سال‌های ۸۳-۱۳۷۸ مورد مطالعه قرار گرفتند. با مراجعه به بایگانی بخش پاتولوژی بیمارستان میرزا کوچک‌خان بلوک‌های لازم تهیه شد و سپس نمونه‌ها مورد تأیید پاتولوژیست همان مرکز قرار گرفت. بلوک‌ها جهت استخراج DNA و HPV typing به آزمایشگاه

کانسر سرویکس (Cervical cancer) در بسیاری از کشورها معضل بهداشتی مهمی تلقی می‌شود.<sup>۱</sup> کانسر سرویکس دومین سرطان شایع زنان می‌باشد. همچنین علت عمده مرگ ناشی از کانسر در زنان است. تقریباً در هر سال نیم میلیون مورد جدید در جهان شناخته می‌شود. میزان بروز گزارش شده در کشورهای در حال توسعه بیشتر از کشورهای توسعه یافته است.<sup>۲</sup> در مطالعات گذشته نشان داده شده که عفونت با انواع خاصی از HPV نقشی کلیدی در پاتوژنز نئوپلازی سرویکس ایفا می‌کند<sup>۳</sup> و به عنوان مهم‌ترین ریسک فاکتور مرتبط با کانسر سرویکس محسوب می‌شود.<sup>۴</sup> با وجود این که عفونت HPV به عنوان عاملی قطعی در ایجاد این سرطان شناخته شده است، اطلاعات کمی در مورد فراوانی و توزیع این عفونت در جمعیت کشورها<sup>۱</sup> و نیز در مورد فراوانی انواع خاص HPV و ارتباط هر نوع با نئوپلازی

SCC میانگین و انحراف معیار سن بیماران مبتلا به SCC، در ۱۳/۴۸±۵۲/۱۶ سال بود (حداقل ۳۰ سال و حداکثر ۷۵ سال). در گروه بیماران مبتلا به CINII و CINIII نیز میانگین و انحراف معیار سن بیماران مبتلا به CINII و CINIII، ۶۱/۶۷±۳۹/۸۰ سال بود (حداقل ۲۶ سال و حداکثر ۵۲ سال). در این گروه ۸۶/۶۷٪ بیماران CINIII داشتند. شایع‌ترین تیپ‌های HPV در گروه بیماران مبتلا به SCC به ترتیب تیپ ۱۶ و ۱۸ هر یک با فراوانی ۱۹ مورد (۵۹/۳۸٪) و سپس تیپ ۳۳ با فراوانی ۱۱ مورد (۳۴/۳۸٪) بودند. همچنین شایع‌ترین تیپ‌های HPV در گروه بیماران مبتلا به CINII و CINIII نیز به ترتیب تیپ ۱۶ با فراوانی هشت مورد (۵۳/۳۳٪) و سپس تیپ ۱۸ با فراوانی شش مورد (۴۰٪) و پس از آن تیپ ۳۳ و ۵۸ هر یک با فراوانی چهار مورد (۲۶/۶۷٪) بودند. بدین ترتیب شایع‌ترین سه تیپ اول بین هر دو گروه مشترک بوده و شامل تیپ‌های ۱۶، ۱۸ و ۳۳ بود. در بین مبتلایان به SCC، آلودگی با دو تیپ یا بیشتر Coinfection (شامل ۱۱ تیپ بررسی شده) در ۷۸/۱۳٪ موارد دیده شد و در گروه مبتلایان به CINII و CINIII نیز در ۸۰٪ دیده شد که در هر دو گروه شایع‌ترین Coinfection عبارت بود از آلودگی همراه دو تیپ ۱۶ و ۱۸ که به ترتیب در ۱۳ مورد (۴۰/۶۲٪) و در چهار مورد (۲۶/۷٪) دیده شد. سن ازدواج در اکثر بیماران (۸۲/۱۴٪) گروه بیماران مبتلا به SCC و تمام بیماران (۱۰۰٪) گروه CINII و CINIII، بیشتر از ۱۶ سال بود. بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه، سابقه مصرف سیگار در ۳۶/۶۷٪ بیماران مبتلا به SCC و ۲۶/۶۷٪ بیماران مبتلا به CINIII و CINII مثبت بود. تعدد شرکاء جنسی (تعداد ازدواج بر اساس پرسش از بیمار) در ۱۲/۵٪ بیماران مبتلا به SCC و ۱۳/۳٪ بیماران مبتلا به CINII و CINIII وجود داشت. این مطالعه نشان داد تعداد زایمان سه و بیشتر در ۸۱/۲۵٪ گروه مبتلا به SCC و ۵۳/۳۳٪ از CINII و CINIII وجود داشت. سابقه ابتلاء به STD (بر اساس پرسش از بیمار) در ۵۸/۰۶٪ بیماران مبتلا به SCC و ۵۷/۱۴٪ بیماران مبتلا به CINIII و CINII مثبت بود. روش پیشگیری از بارداری به وسیله OCP در ۳۰٪ بیماران گروه SCC و ۴۰٪ بیماران گروه CINII و CINIII مثبت بود.

## بحث

بر اساس مطالعات صورت گرفته توزیع سنی این بیماری از یک الگوی دو کوهانه (Bimodal) پیروی می‌کند که دارای دو پیک سنی در

میکروبیولوژی دانشگاه شاهد منتقل شدند. سایر اطلاعات از پرونده‌های بخش کولپوسکوپی و انکولوژی و در صورت لزوم مصاحبه حضوری گرفته شده‌اند. به علت اینکه نمونه‌ها قبلاً در بافر فرمالین فیکس شده و پارافین اندود شده بودند، ابتدا مقاطع در لوله‌های حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر پروپیلن قرار داده شدند تا دیارافینه شوند. سپس نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه با Xylene سانتریفوژ شدند و دوباره با اتانول خالص شستشو داده شدند و در هوا خشک شدند. سپس نمونه‌ها به میکروتیوب‌های اپندورف (Eppendorf Microtube) حاوی بافر واکنش پلیمریزاسیون زنجیره‌ای Polymerase chain reaction (PCR) منتقل شدند و پس از افزودن Proteinase-k و هضم سلولی، سه بار در محلول فنل کلروفرم (Phenol chloroform) قرار گرفتند. پس از استخراج DNA، به نمونه‌ها سدیم استات Sodium acetate افزوده شد و در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد نگهداری و به مدت ۴۰ دقیقه در سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و بافر TE افزوده شد و بدین ترتیب DNAها جدا شدند. برای تایپینگ ویروس پاپیلومای انسانی از الکتروفورز تحت EDTA و NaOH روی فیلتر هیبریدیزه استفاده شد. در این مرحله ۱۱ گونه تیپ‌های شایع ویروس پاپیلومای انسانی (۱۶-۱۸-۳۱-۳۳-۳۵-۳۹-۴۵-۵۱-۵۲-۵۶-۵۸) که با بیوتین نشان‌دار 5-biotinylate-oligoneucleotide probe در استرپتاویدین کنژوگه شده‌اند مشخص شدند. ماحصل آزمایش توسط ترانس لومیناتور مطالعه گردید و تیپ‌های مختلف مشخص شدند. به منظور تبیین متغیرهای کمی از میانگین و انحراف معیار و برای متغیرهای کیفی از فراوانی نسبی و مطلق در برنامه SPSS ویراست ۱۱/۵ استفاده شد و  $p < 0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

در این مطالعه، به علت مشکلات تکنیکی جهت استخراج DNA موفق به استخراج DNA از ۷۷ نمونه از نمونه‌هایی که قبلاً پارافینه شده بودند، شدیم و در ۲۳ نمونه قادر به استخراج DNA نشدیم. ۴۷ نمونه (۶۱٪) از نظر آلودگی به HPV مثبت بودند و ۳۰ نمونه از نظر آلودگی به HPV منفی بودند. در مطالعه حاضر ۳۲ بیمار مبتلا به SCC و ۱۵ بیمار مبتلا به CINII و CINIII به تفکیک مورد بررسی قرار گرفته‌اند. یافته‌های این مطالعه نشان داد که در گروه بیماران مبتلا به

۳۳۰ زن انجام شد. ۴۳ درصد نمونه‌هایی که سیتولوژی نرمال داشتند از نظر HPV مثبت بودند که این مقدار در موارد CIN I و CIN II و SCC به ترتیب ۹۶ و ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد بود. ۴۹ درصد نمونه‌های آلوده به HPV ۱۶ بودند. Rabelo و همکارانش،<sup>۱۶</sup> ۷۴ بیمار شامل ۱۸ بیمار CIN III، ۴۸ بیمار SCC و چهار بیمار آدنوکارسینوم، یک بیمار آدنواسکواموس و سه بیمار کارسینوم غیر تمایز یافته را بررسی کردند. فراوانی HPV ۷۶ درصد تخمین زده شد و نه تنها HPV ۱۶ شایع‌ترین نوع در این مطالعه بلکه شایع‌ترین ویروس در تمام مناطق برزیل محسوب می‌شود. نوع ۱۸ دومین نوع HPV شایع در شمال، جنوب شرقی و جنوب برزیل بوده و انواع ۳۱ و ۳۳ به ترتیب دومین نوع شایع در مناطق شمال شرقی و مرکزی برزیل بودند. Sasagawa و همکارانش،<sup>۱۳</sup> مطالعه‌ای Case-control را در ژاپن روی ۳۶۶ نمونه غیرطبیعی سرویکس و ۱۵۶۲ نمونه نرمال انجام داده‌اند. در ژاپن نیز انواع ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳، ۳۵، ۴۵، ۵۱، ۵۲، ۵۶، ۵۸، ۶۷ در ضایعات CIN I و CIN II و SCC وجود داشتند. شایع‌ترین HPV نوع ۱۶ بود که پس از آن به ترتیب انواع ۵۱، ۵۲، ۵۸ قرار داشتند. Xi و همکارانش ۲۰۶۵ زن ۳۵ ساله و یا مسن تر در آفریقای غربی را که قبلاً از نظر سیتولوژی غربالگری نشده بودند بررسی کردند. در ۴۲۶ (۲۰٪) نفر Cytologic abnormality مشاهده شد که این موارد شامل ۲۵۴ (۱۲٪) Atypical squamous cell نامعین، ۸۶ (۴٪) ضایعه LSIL، ۶۶ (۳٪) HSIL و ۲۰ (۱۰٪) کانسر Invasive بودند. در ۱۸٪ موارد عفونت HPV وجود داشت. در زنانی که سیتولوژی آنان نرمال بود، با افزایش سن فراوانی high-risk HPV و نه Low-risk HPV افزایش می‌یافت. HPV ۱۶ (۲/۴٪) و HPV ۵۸ (۱/۶٪) در این زنان شایع‌ترین نوع HPV بود. این دو نوع HPV (۱۶ و ۵۸) بیشترین همراهی را با ریسک ایجاد HSIL و کانسر داشتند. این یافته‌ها نشان دادند که علاوه بر HPV ۱۶ باید HPV ۵۸ نیز در برنامه‌های واکسیناسیون بر علیه کانسر Cervix در این منطقه جغرافیایی مد نظر قرار گیرد. در مکزیک نیز نشان داده شده که HPV ۱۶ در ۵۲ درصد از بیماران مبتلا به کانسر و در ۷۹ درصد موارد CIN I، II، III وجود داشته است. این بررسی روی ۱۸۵ زن مراجعه کننده به درمانگاه انجام شد که از ۶۹ زن مبتلا به سرطان ۸۷ درصد، از ۲۴ مورد مبتلا به CIN II، III، ۸۳ درصد، از ۲۱ مورد مبتلا به CIN I ۳۳ درصد و از ۷۱ زن سالم ۱۷ درصد از نظر HPV مثبت بودند.<sup>۱۷</sup> Andersson و همکارانش<sup>۱۸</sup> با هدف تعیین طیف (Spectrum)

۳۹-۳۵ سال و ۶۴-۶۰ سال است.<sup>۱۷</sup> اخیراً مشخص شده است که انواع HPV به خصوص نوع ۱۶، ۱۸، ۳۳ در ایجاد نئوپلازی سرویکس نقشی اتیولوژیک دارند.<sup>۹</sup> نوع HPV ۱۶ شایع‌ترین نوع در سرطان مهاجم و CIN 2 و CIN 3 است.<sup>۱۰</sup> بر اساس مطالعه فرجادیان و همکارانش<sup>۴</sup> که بر روی ۱۰۱ نمونه کارسینوم سرویکس که در جنوب ایران (شیراز) صورت گرفته است در کل ۸۸ نمونه (۸۷/۱٪ نمونه) از نظر HPV مثبت بودند که از این میان ۸۳ مورد SCC و پنج مورد آدنوکارسینوم بودند. با توجه به شیوع بالای کانسر سرویکس در آفریقای جنوبی برای بررسی میزان فراوانی آلودگی با HPV، از ۵۶ زن مبتلا به کانسر سرویکس و ۱۴۱ زن با تشخیص پاتولوژی CIN (II، III، بیوپسی Punch تهیه شد که ۹۴ درصد (۴۷ نمونه) از موارد کانسر سرویکس و ۸۸ درصد (۱۱۴ نمونه) از موارد CIN (II، III) از نظر HPV DNA مثبت بوده‌اند.<sup>۵</sup> دکتر همکار و همکارانش در منطقه مازندران ایران فراوانی HPV را یکصد نمونه بیوپسی سرویکس بررسی کردند که ۷۸/۶ درصد موارد کانسر سرویکس، ۶۴/۳ درصد موارد دیسپلازی / متاپلازی (dys/metaplasia) و ۹ درصد موارد سالم از نظر HPV مثبت بودند.<sup>۲۰</sup> Gonzalez و همکارانش<sup>۲</sup> با بررسی ۱۰۴ نمونه بیوپسی از زنان مبتلا به CIN (I، II، III) و SCC نشان داده‌اند که فراوانی عفونت با HPV در بین این ضایعات ۵۶/۴٪ بود. بر اساس مطالعات انجام شده در کشورهای مختلف جهان بوسیله مرکز بین‌المللی تحقیقات کانسر (IARC)، شایع‌ترین انواع HPV high risk که دهانه رحم را آلوده می‌کنند به ترتیب شیوع عبارتند از:

(۵۳٪) HPV ۱۶، (۱۵٪) HPV ۱۸، (۹٪) HPV ۴۵، (۶٪) HPV ۳۱، (۳٪) HPV ۳۳<sup>۱۱</sup> گزارشات منتشر شده در مورد فراوانی ژنوتیپ HPV نشان می‌دهد که HPV ۱۶ شایع‌ترین نوع است.<sup>۱۲</sup> انواع پرخطر در CIN I و CIN II و در SCC بسیار فراوان‌تر از موارد نرمال و CIN I می‌باشند و قادر هستند در ضایعات بیشتر باقی‌مانده و به طرف CIN III و CIN II و SCC پیشرفت کنند.<sup>۱۳</sup> سایر مطالعات صورت گرفته نیز نتیجه مشابهی را نشان داده‌اند. Wall و همکارانش<sup>۱۴</sup> در یک مطالعه Cohort، ۱۰۶۱ زن را مورد بررسی قرار داده‌اند و نشان دادند در جمعیت روستایی گامبیا فراوان‌ترین نوع HPV در زنان مبتلا به SCC CIN I، CIN II، HPV ۱۶ بود و همچنین انواع HPV ۱۸، ۳۳، ۵۶ و ۳۵ نیز انواع شایعی بودند. Tonon و همکارانش<sup>۱۵</sup> نیز در منطقه‌ای از آرژانتین به نتایج مشابهی رسیدند. این مطالعه Case-control بر روی

۱۸ بودند. به نظر می‌رسد این اختلاف الگو بیشتر مربوط به جمعیت‌های مطالعه شده باشد. بدین ترتیب که جمعیت استان‌های مازندران و تهران از الگویی مشابه الگوی جهانی تبعیت می‌کند ولی مناطق جنوبی کشور از الگوی متفاوتی پیروی می‌کند. اگرچه برای نتیجه‌گیری نهایی نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه می‌باشد. هر عاملی که بر وارد شدن DNA HPV به ژنوم انسان تاثیر بگذارد، ممکن است سبب پیشرفت ضایعه به سوی بیماری مهاجم شود.<sup>۱۰</sup> در مطالعه Cavancanti و همکارانش مصرف سیگار و OCP به تنهایی با پیشرفت ضایعات ارتباط نداشتند ولی وقتی افرادی که از هر دو مورد استفاده می‌کردند (سیگار + OCP) با موارد مصرف هر یک به تنهایی و یا عدم مصرف هیچکدام از آن مقایسه شدند، پیشرفت ضایعات به طرف بدخیمی وجود داشت. وجود هر سه عامل سیگار، OCP و بیماری‌های منتقله از طریق تماس جنسی (STD) باعث ایجاد پیشرفت در ۱۰٪ ضایعات می‌شد.<sup>۲۴</sup> این نتایج مشابه نتایج Vandenvelde<sup>۲۵</sup> بود که وی نیز نشان داد ریسک فاکتورهای شناخته شده کانسر سرویکس برای بالا بردن ریسک پیشرفت بدخیمی با HPV-DNA نقش Co-operate دارند. در واقع کانسر یک بیماری Multiple-step است بنابراین عفونت ویروس با HPV یکی از ریسک فاکتورهای دخیل در این Complex می‌باشد و باید آن را در قالب سه رویداد ذیل بررسی کرد: عفونت ویروسی مزمن، اختلال ایمنی بدن و Co-Carcinogen. عوامل خطر ساز متعددی در این مورد ذکر شده‌اند که در این مطالعه برخی از آنها مورد بررسی قرار گرفته است (جدول ۱). یکی از عوامل خطر ساز در بروز کانسر سرویکس سن پایین در اولین intercourse (زیر ۱۶ سالگی) است.<sup>۱۰</sup> بر اساس یافته‌های این مطالعه این عامل خطر ساز نقش احتمالی اندکی دارد زیرا سن ازدواج در اکثر بیماران (۸۲/۱۴٪) گروه بیماران مبتلا به SCC و تمام بیماران (۱۰۰٪) گروه CINII و CINIII، بیشتر از ۱۶ سال بود (جدول ۱). مصرف دخانیات از عواملی است که باعث می‌شود عفونت‌های HPV با برجا شوند و به طرف CIN پیشرفت کنند<sup>۱۰</sup> و به این علت مصرف سیگار از دیگر عوامل خطر ساز بروز کانسر سرویکس محسوب می‌شود.<sup>۱۰</sup> اگرچه در برخی مطالعات این ارتباط تایید نشده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این مطالعه، سابقه مصرف سیگار در ۳۶/۶۷٪ بیماران مبتلا به SCC و ۲۶/۶۷٪ بیماران مبتلا به CINII و CINIII مثبت بود (جدول ۱). داشتن شرکای جنسی متعدد نیز از دیگر عوامل خطر ساز

انواع انکوژنیک HPV در ضایعات خوش‌خیم، Pre-(LSIL, HSIL) malignant و ضایعات بدخیم ۲۱۵ بیوسی HPV مثبت را تحت PCR قرار داده و آنالیز سکانس‌های DNA را در آنان انجام دادند آنها نیز شایع‌ترین انواع انکوژنیک HPV را (۱۶ و ۱۸) در ۴۵ درصد از موارد Invasive Squamous carcinoma نشان دادند. بر اساس مطالعه Deluca و همکارانش<sup>۱۹</sup> در آرژانتین نیز نشان داده شده که علاوه بر انواع ۱۸ و ۱۶ HPV که شایع‌ترین ژنوتیپ HPV high-risk در جهان می‌باشند، انواع دیگری مثل ۴۵ و ۵۸ و همچنین موارد Co-infection در بین زنان منطقه شمال شرقی آرژانتین شایع می‌باشد. Kay و همکارانش<sup>۵</sup> نیز نشان دادند که فراوانی انواع HPV که در نمونه‌های بیوسی کانسر سرویکس به‌دست آمد به ترتیب HPV: ۱۶ (۸۲٪)، ۱۸ (۱۰٪)، ۳۳ (۱۰٪)، ۳۱ (۲٪)، ۵۸ (۲٪)، ۳۵ (۲٪)، ۵۹ (۲٪) بود. ضایعات نئوپلازی اینتراپی تلیال شامل HPV ۱۶ (۵۶/۶٪)، ۳۳ (۱۴٪)، ۳۱ (۱۰/۹٪)، ۵۲ (۳/۹٪)، ۵۸ (۳/۱٪)، ۳۵ (۲/۳٪)، ۱۸ (۱/۶٪) و ۱۱ (۰/۸٪) بود. بدین ترتیب به نظر می‌رسد ایران نیز مانند کشورهای دیگر از الگویی مشابهی در آلودگی به تیپ‌های مختلف HPV تبعیت می‌کند. این در حالی است که همکار و همکارانش<sup>۲۰</sup> در مطالعه‌ای در منطقه مازندران ایران نشان دادند که انواع ۱۸ و ۱۶ HPV در ۶۰/۶٪ موارد، ۳۳ و ۳۱ HPV در ۲۱/۲٪ و انواع ۱۱ و ۱۶ HPV در ۱۸/۲٪ از کارسینومهای سرویکس وجود داشتند. اما فرجادیان و همکارانش<sup>۴</sup> در مطالعه‌ای که در منطقه در جنوب ایران (شیراز) صورت گرفته نشان دادند که ۱۶ HPV در ۲۶/۷٪ از موارد کانسر سرویکس یافت شد و هیچیک از نمونه‌ها از نظر ۱۸ HPV مثبت نبودند. آنها در نهایت نتیجه گرفته‌اند که ۱۸ و ۱۶ HPV انواع شایع high risk در بیماران نبودند و انواع شایع در جمعیت منطقه‌ای جنوبی ایران متفاوت از سایر جمعیت‌های مطالعه شده می‌باشد. اگرچه الگوهای متفاوت در برخی کشورهای دیگر نیز گزارش شده است. فراوانی انواع دیگر high risk آن براساس فاکتورهای جغرافیایی، دموگرافیک و کلینیکوپاتولوژیک متغیر می‌باشد.<sup>۲۱، ۲۲</sup> به عنوان مثال Gonzalez و همکارانش<sup>۲</sup> نشان دادند که فراوانی تیپ‌های مختلف HPV در افراد HPV مثبت به ترتیب ۵۸ (۲۸/۵٪)، ۱۶ (۲۵/۷٪)، ۱۸ (۱۳/۳٪)، ۳۳ (۱۱/۴٪) و ۳۱ (۸/۵٪) بود. در تمام grade بیماری‌ها و ضایعات، HPV۵۸ شایع‌ترین HPV بود. Beerens و همکارانش<sup>۳۳</sup> نیز نشان دادند که در گروه CINIII و CINII شایع‌ترین نوع HPV به ترتیب انواع ۱۶، ۵۲، ۵۱ و ۳۱ و به‌ندرت نوع

بیماران مبتلا به CINIII و CINII مثبت بود البته قابل ذکر است که با توجه به اینکه سابقه STD از طریق شرح حال به دست می‌آید، این نتایج قابل اعتماد نمی‌باشد (جدول ۱). مصرف OCP از عواملی است که باعث می‌شود عفونت‌های HPV با برجا شوند و به طرف CIN پیشرفت کنند.<sup>۱۰</sup> Stern و همکارانش<sup>۳۷</sup> نشان دادند که در مصرف‌کنندگان OCP میزان پیشرفت ضایعات بیشتر بوده است. استفاده از OCP می‌تواند در Deregulation سیکل سلولی مداخله کرده و abnormality کاربوتایپ ایجاد نماید. بر اساس یافته‌های این بررسی نیز روش پیشگیری از بارداری به وسیله OCP در ۳۰٪ بیماران گروه SCC و ۴۰٪ بیماران گروه CINII و CINIII، مثبت بود. این مطالعه محدودیت‌هایی نیز داشت. به عنوان مثال کم بودن تعداد نسبی بیماران که بیشتر ناشی از هزینه بالای استخراج DNA از نمونه‌های بیوپسی و HPV Typing به روش PCR و ضعف تکنیکی در استخراج DNA از نمونه‌های پارافینه (که منجر به از دست دادن ۲۳ نمونه شد) و نوین بودن موضوع، نبودن سوابق اطلاعاتی در خصوص طرح‌های مشابه در کشور ما بوده است. بر اساس نتایج این مطالعه تیپ‌های ۱۶، ۱۸ و ۳۳ از شایع‌ترین تیپ‌های به دست آمده از بیماران می‌باشند که مشابه الگوی بسیاری از کشورهای جهان است. از مهمترین ریسک فاکتورهای دخیل در پیشرفت ضایعات نیز می‌توان به زایمان‌های متعدد و عفونت با سایر بیماری‌های مقاربتی، مصرف OCP و مصرف دخانیات اشاره کرد در حالی که نقش سایر ریسک فاکتورها مانند سن ازدواج بسیار کم‌رنگ است. امید است تا در مطالعات بعدی ضمن بررسی بیماران با حجم نمونه‌های بالاتر به بررسی این تیپ‌ها و مقایسه آن بین سایر مناطق نیز پرداخته شود.

بروز کانسر سرویکس محسوب می‌شود<sup>۱۱</sup> نتایج مطالعه حاضر نشان داد که این ریسک فاکتور نیز نقش احتمالی ضعیفی دارد. تعدد شرکاء جنسی (تعداد ازدواج براساس پرسش از بیمار) در ۱۲/۵٪ بیماران مبتلا به SCC و ۱۳/۳٪ بیماران مبتلا به CINII و CINIII وجود داشت (جدول ۱). پاریته زیاد نیز از دیگر عوامل خطر ساز بروز کانسر سرویکس است.<sup>۱۲</sup> نقش این عامل خطر ساز نسبت به سایر عوامل در جامعه ما احتمالاً پر رنگتر است. این مطالعه نشان داد که تعداد زایمان سه و بیشتر در ۸۱/۲۵٪ گروه مبتلا به SCC و ۵۳/۳۳٪ گروه مبتلا به CINII و CINIII وجود داشت (جدول ۱). عفونت با سایر بیماری‌های مقاربتی از عواملی است که باعث می‌شود عفونت‌های HPV با برجا شوند و به طرف CIN پیشرفت کنند.<sup>۱۳</sup> نشان داده شده که عفونت‌های STD مانند عفونت هرپس، HIV و به خصوص سیفلیس در پیشرفت ضایعات آلوده به HPV موثر هستند. محققین معتقدند این عفونت‌ها می‌توانند به عنوان کو-فاکتور در فعال کردن مکانیزمهای Transforming سلولی و یا ساپرس کردن ایمنی موضعی دستگاه ژنتیال نقش داشته باشند.<sup>۱۴</sup> در مطالعات دیگر نیز سابقه STD و به ویژه سیفیلیس ارتباط مثبت با پیشرفت ضایعه داشتند. Meekin و همکارانش<sup>۱۵</sup> نیز ارتباط بین وجود بیماری‌های STD قبلی و یا جدید و پیشرفت ضایعات آلوده به HPV را به سمت ضایعات high-grade را نشان داده اند. تمام STDها را در اختلال ایمنی بدن دخیل دانست که این موضوع در مورد HIV به خوبی توضیح داده شده است و در موارد هرپس و تریکومونا و تریپونما پالیدیوم نیز مشکلات موضعی ایجاد می‌شود. بر اساس نتایج این مطالعه سابقه ابتلاء به STD (بر اساس پرسش از بیمار) در ۵۸/۰۶٪ بیماران مبتلا به SCC و ۵۷/۱۴٪

## References

- Melo A, Montenegro S, Hooper T, Capurro I, Roa JC, Roa I. Human papilloma virus (HPV) typing in preneoplastic and neoplastic lesions of the uterine cervix in the IX region-Chile. *Rev Med Chil* 2003; 131: 1382-90.
- González-Losa Mdel R, Rosado-Lopez I, Valdez-González N, Puerto-Solís M. High prevalence of human papillomavirus type 58 in Mexican colposcopy patients. *J Clin Virol* 2004; 29: 202-5.
- Xi LF, Touré P, Critchlow CW, Hawes SE, Dembele B, Sow PS, et al. Prevalence of specific types of human papillomavirus and cervical squamous intraepithelial lesions in consecutive, previously unscreened, West-African women over 35 years of age. *Int J Cancer* 2003; 103: 803-9.
- Farjadian S, Asadi E, Doroudchi M, Dehaghani AS, Tabei SZ, Kumar VP, et al. High risk HPV types in southern Iranian patients with cervical cancer. *Pathol Oncol Res* 2003; 9: 121-5.
- Kay P, Soeters R, Nevin J, Denny L, Dehaeck CM, Williamson AL. High prevalence of HPV 16 in South African women with cancer of the cervix and cervical intraepithelial neoplasia. *J Med Virol* 2003; 71: 265-73.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001; 94: 153-6.
- Suris JC, Dexeus S. Survival in cervical cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 1998; 19: 11-3.
- Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-27.
- Coker AL, Jenkins GR, Busnardo MS, Chambers JC, Levine LZ, Pirisi L. Human papillomaviruses and cervical neoplasia in South Carolina. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1993; 2: 207-12.

10. Hatch KD, Fu YS. Cervical and vaginal cancer. In: Berel JS, Adashi EY, Hillard PA, editors. *Novak's Textbook of Gynecology*. 12th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996; p. 1111-53.
11. Munoz N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. *J Clin Virol* 2000; 19: 1-5.
12. Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796-802.
13. Sasagawa T, Basha W, Yamazaki H, Inoue M. High-risk and multiple human papillomavirus infections associated with cervical abnormalities in Japanese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 45-52.
14. Wall SR, Scherf CF, Morison L, Hart KW, West B, Ekpo G, et al. Cervical human papillomavirus infection and squamous intraepithelial lesions in rural Gambia, West Africa: viral sequence analysis and epidemiology. *Br J Cancer* 2005; 93: 1068-76.
15. Tonon SA, Picconi MA, Zinovich JB, Liotta DJ, Bos PD, Galuppo JA, et al. Human papillomavirus cervical infection and associated risk factors in a region of Argentina with a high incidence of cervical carcinoma. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1999; 7: 237-43.
16. Rabelo-Santos SH, Zeferino L, Villa LL, Sobrinho JP, Amaral RG, Magalhaes AV. Human papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiania, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98: 181-4.
17. Torroella-Kouri M, Morsberger S, Carrillo A, Mohar A, Meneses A, Ibarra M, et al. HPV prevalence among Mexican women with neoplastic and normal cervixes. *Gynecol Oncol* 1998; 70: 115-20.
18. Andersson S, Mints M, Sallstrom J, Wilander E. The relative distribution of oncogenic types of human papillomavirus in benign, pre-malignant and malignant cervical biopsies. A study with human papillomavirus deoxyribonucleic acid sequence analysis. *Cancer Detect Prev* 2005; 29: 37-41.
19. Deluca GD, Lucero RH, Civetta MT, Vicente L, de Gorodner OL, Schelover E, et al. Human papillomavirus genotypes in women with cervical cytological abnormalities from an area with high incidence of cervical cancer. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2004; 46: 9-12.
20. Hamkar R, Azad TM, Mahmoodi M, Seyedirashti S, Severini A, Nategh R. Prevalence of human papillomavirus in Mazandaran Province, Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J* 2002; 8: 805-11.
21. Lo KW, Wong YF, Chan MK, Li JC, Poon JS, Wang VW, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a multicenter study in China. *Int J Cancer* 2002; 100: 327-31.
22. Lai HC, Sun CA, Yu MH, Chen HJ, Liu HS, Chu TY. Favorable clinical outcome of cervical cancers infected with human papilloma virus type 58 and related types. *Int J Cancer* 1999; 84: 553-7.
23. Beerens E, Van Renterghem L, Praet M, Sturtewagen Y, Weyers S, Temmerman M, et al. Human papillomavirus DNA detection in women with primary abnormal cytology of the cervix: prevalence and distribution of HPV genotypes. *Cytopathology* 2005; 16: 199-205.
24. Cavalcanti SM, Zardo LG, Passos MR, Oliveira LH. Epidemiological aspects of human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. *J Infect* 2000; 40: 80-7.
25. Vandenvelde C, Van Beers D. High-risk genital papillomaviruses and degree of dysplastic changes in the cervix: a prospective study by fast multiplex polymerase chain reaction in Belgium. *J Med Virol* 1993; 39: 273-7.
26. Meekin GE, Sparrow MJ, Fenwicke RJ, Tobias M. Prevalence of genital human papillomavirus infection in Wellington women. *Genitourin Med* 1992; 68: 228-32.
27. Stern E, Forsythe AB, Youkeles L, Coffelt CF. Steroid contraceptive use and cervical dysplasia: increased risk of progression. *Science* 1977; 196: 1460-2.

## HPV infection among patients with high grade cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma of cervix

### Abstract

Yarandi F.<sup>1\*</sup>  
Izadi Mood N.<sup>2</sup>  
Eftekhar Z.<sup>1</sup>  
Niakan R.<sup>3</sup>  
Tajziachi S.<sup>4</sup>

1- Department of Division of  
Oncology  
2- Department of Pathology

Mirza Koochak Khan Hospital,  
Tehran University of Medical  
Sciences

3-Department of Microbiology,  
Shahed University of Medical  
Sciences

4-Resident of Gyn/O Mirza  
Koochak Khan Hospital,  
Tehran University of Medical  
Sciences

**Background:** Cervical cancer is the second most common cancer of the women worldwide. It is also an important cause of cancer-related mortality in women, after breast cancer. Nearly half million of new cases are identified yearly. The incidence rate in developing countries is greater than the developed countries. Epidemiologic studies have shown that the association of genital human papilloma virus (HPV) with cervical cancer is strong, independent of other risk factors, and consistent in several countries. The aim of this study was to determine the frequency of HPV in patients with high grade cervical intraepithelial neoplasia (CINIII, CIN II) and squamous cell carcinoma (SCC) of cervix.

**Methods:** Hundred specimens from patients with SCC and CINIII, CIN II, confirmed by histological review, referring to Mirza Koochak Khan Hospital from 1999-2004 were enrolled in a cross sectional study. Polymerase chain reaction was utilized for identification and typing of HPV DNA. To increase the sensitivity of HPV detection, nested PCRs were performed using MY09/MY11 as outer and GP5/GP6 as inner primers.

**Results:** It was possible to extract 77 of 100 specimens that HPV DNA was detected in 47 of 77 specimens. Infection with HPV was present in 32 specimens (86.5%) among SCC patients and in 15 specimens (37.5%) among CINIII, CIN II patients. The most frequent HPV types in SCC patients were HPV 16 and 18 (59.38%) and then 33 (34.38%) and in CINIII, CIN II patients was 16 (53.33%) and 18 (40%). the most frequent co-infection in both groups was HPV 16 and 18 which was present in 40.62% and 26.7% of cases respectively.

**Conclusions:** The most frequent HPV types in patients with SCC and CINIII, CIN II was 16 and 18 that is identical to many other countries infection pattern.

**Keywords:** Classification, human papilloma virus, high grade cervical intraepithelial neoplasia, squamous cell carcinoma, polymerase chain reaction.

\*Corresponding author: Mirza  
Koochak Khan Hospital, Nejatollahi  
St., Karimkhan Ave., Tehran.  
Tel: +98-21-88897761  
email: fariba\_yarandi@yahoo.com