

بررسی رابطه‌ی ویروس پاپیلوم انسانی با سرطان سلول سنگفرشی در نمونه‌ی بیوپسی مری بیماران مراجعه کننده به بیمارستان ولی عصر زنجان، سال ۸۲-۱۳۸۱

دکتر علیرضا خادم المله^۱، *دکتر علی جمالیان^۲، دکتر سوسن اعلایی^۳

*نویسنده‌ی مسئول: دانشگاه علوم پزشکی زنجان drali_j@yahoo.com

خلاصه

سابقه و هدف: سرطان سلول سنگفرشی مری از جمله سرطان‌های توأم با مرگ و میر بالا است که در تمام نقاط دنیا دیده می‌شود. مطالعاتی در رابطه با نقش ویروس‌ها به خصوص ویروس پاپیلوم انسانی با این بیماری انجام شده و نتایج مختلف و متضادی به دست آمده است. نظر به اهمیت تعیین رابطه‌ی این ویروس با سرطان سلول سنگفرشی، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین رابطه‌ی ویروس پاپیلوم انسانی با سرطان سلول سنگفرشی در نمونه‌ی بیوپسی بیماران طی سال ۱۳۸۱ تا ۱۳۸۲ در زنجان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه‌ی مورد - شاهده‌ی بر روی نمونه‌های بیوپسی مری به دست آمده از ۳۴ بیمار بزرگتر از ۲۵ سال (۱۷ نمونه مورد و ۱۷ نمونه شاهد) که در طی سال ۱۳۸۱ تا پایان سال ۱۳۸۲ در واحد پاتولوژی بیمارستان ولیعصر زنجان بررسی شده بودند، انجام گرفت. نمونه‌های بیوپسی پس از رنگ آمیزی با روش هماتوکسیلین - ائوزین از نظر تشخیص سرطان سلول سنگفرشی، توسط میکروسکوپ نوری از نظر سیتولوژی (وجود سلول‌های دژنره و واکوله ...) و هیستولوژی (ویروس پاپیلوم انسانی) مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون کای دو مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج مطالعه نشان می‌داد که از ۱۷ بیمار مبتلا به سرطان سلول سنگفرشی ۱۱ نفر (۶۴/۷ درصد) و از ۱۷ بیمار غیر مبتلا به این سرطان ۱۳ نفر (۷۶/۴ درصد) مبتلا به ویروس پاپیلوم انسانی بودند، که این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار نبود. هم‌چنین رابطه‌ی معنی‌داری بین ویروس پاپیلوم انسانی با محل تومور و درجه‌ی تمایز سرطان به دست نیامد.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: رابطه‌ی معنی‌داری بین ابتلا به ویروس پاپیلوم انسانی و سرطان سلول سنگفرشی مری یافت نشد. با توجه به اندک بودن نمونه‌های پژوهش و میزان حساسیت و ویژگی روش سیتوپاتولوژی، انجام مطالعات گسترده‌تر و استفاده از روش‌های دقیق‌تر مانند بررسی‌های کروموزومی، سیتوژنتیک و PCR پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: سرطان سلول سنگفرشی (SCC)، ویروس پاپیلوم انسانی (HPV)، بیوپسی مری.

تاریخ دریافت: ۸۴/۲/۲۱

تاریخ پذیرش: ۸۴/۵/۱۰

^۱ متخصص داخلی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

^۲ دستیار داخلی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

^۳ متخصص پاتولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

سرطان سلول سنگفرشی از جمله سرطان های با مرگ و میر بالا می باشد که در تمام نقاط دنیا دیده می شود. اما میزان بروز آن در مناطق مختلف دنیا و حتی در یک کشور متفاوت است. در ایران آمارهای مختلف و اغلب غیر دقیقی در مورد شیوع سرطان مری وجود دارد ولی بررسی های انجام شده نشان می دهد که استان های گیلان، مازندران و آذربایجان شرقی دارای شیوع بیشتری از نظر ابتلا به سرطان مری هستند (۱). هر چند تاکنون توجیه علمی قطعی در مورد تفاوت میزان بروز و عوامل اتیولوژیک بیماری در مناطق مختلف ارایه نگردیده است، اما عوامل مختلفی به عنوان «عامل خطر» معرفی شده اند (۱).

در ایران علاوه بر فقر غذایی و کمبود برخی از عناصر معدنی، مصرف مایعات داغ و رژیم های غذایی حاوی مواد تحریک کننده، به عنوان عوامل خطر احتمالی در نظر گرفته شده اند. این عوامل خطر در مناطق مختلف دنیا که این بیماری در آن مناطق شایع است، متفاوت می باشند. به عنوان مثال در آمریکا و کشورهای اروپایی، مصرف بالای الکل و استعمال سیگار از عوامل خطر ابتلا به سرطان مری محسوب می شوند، در حالی که در کشور چین مصرف مواد غذایی آلوده به برخی قارچ ها و نیتروزامین ها به عنوان عوامل خطر معرفی شده اند (۱).

با مطالعاتی که در سال های اخیر صورت گرفته، نقش ویروس ها به عنوان عوامل بروز برخی از سرطان ها در انسان به اثبات رسیده است. هم چنین در برخی از کتب مرجع از سروتیپ های خاصی از ویروس پاپیلوم انسانی (۱۶، ۱۸ و ۳۳) به عنوان عوامل خطر ابتلا به سرطان مری نام برده شده است (۲). از طرفی با مشاهده تغییرات ژنتیکی خاص در سرطان سلول سنگفرشی مری، فرضیه ی دخالت ویروس ها در بروز این بیماری از طریق تغییرات ژنتیکی قوت گرفته است. بررسی ها نشان می دهند که ویروس پاپیلوم انسانی (HPV)^۱ با ایجاد و تغییر در ژنوم P53 موجب تظاهر غیر طبیعی این ژن و افزایش احتمالی ابتلا به سرطان سلول

سنگفرشی مری می شود (۲). هر چند بر اساس مطالعات انجام شده در نقاط مختلف دنیا در رابطه با میزان همراهی ژنوم های ویروس پاپیلوم انسانی با سرطان سلول سنگفرشی مری، نتایج متفاوت و ضد و نقیضی به دست آمده است، اما در یک جمع بندی کلی می توان مشاهده کرد که در مناطقی از جهان که این سرطان از شیوع بالاتری برخوردار است، رابطه ای بین عفونت با سروتیپ های خاصی از HPV و سرطان سلول سنگفرشی مری وجود دارد. با توجه به شیوع نسبتاً بالای سرطان سلول سنگفرشی در ایران (چهارمین سرطان شایع در ایران) و مرگ و میر بالای ناشی از آن، انجام مطالعه ای در زمینه ی میزان همراهی HPV با این سرطان می تواند به عنوان پایه ای برای مطالعات بعدی در زمینه ی یافتن راه های مناسب برای پیشگیری، تشخیص سریع و درمان به موقع سرطان سلول سنگفرشی مری، موثر باشد. در این راستا، این تحقیق با هدف تعیین میزان همراهی ویروس پاپیلوم انسانی با سرطان مری در نمونه های بیوپسی مری بیماران طی سال ۱۳۸۱ تا ۱۳۸۲ در زنجان انجام گرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه ی مورد - شاهدی بر روی نمونه های بیوپسی مری به دست آمده از ۳۴ بیمار بزرگتر از ۲۵ سال مراجعه کننده به بیمارستان ولیعصر زنجان انجام شد. ۱۷ نمونه که تشخیص سرطان سلول سنگفرشی مری در مورد آن ها مطرح شده بود به عنوان گروه مورد و ۱۷ نمونه که به علل مختلفی تحت آندوسکوپی و نمونه برداری قرار گرفته بودند و طبق نتایج پاتولوژی به این سرطان مبتلا نبودند، به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. بیماران گروه مورد و شاهد به روش نمونه گیری آسان انتخاب شدند و در مورد بیماران گروه شاهد در حد امکان سعی شد که از نظر سن، جنس و محل انجام بیوپسی با بیماران گروه مورد منطبق

¹ Human Papilloma Virus

گروه مورد و شاهد، زنجان ۱۳۸۱-۸۲

گروه	ابتلا به ویروس پاپیلوم	بلی	خیر	جمع
مورد (دارای سرطان سنگفرشی مری)	۱۱	۶	۱۷	
شاهد (فاقد سرطان سنگفرشی مری)	۱۳	۴	۱۷	
جمع	۲۴	۱۰	۳۶	

نتایج آزمون من ویتنی نیز عدم وجود اختلاف معنادار را تأیید کرد همان‌طور که در جدول (۱) نشان داده شده است، ۷۶/۵ درصد (۱۳ نفر) از گروه شاهد دارای ویروس پاپیلوم انسانی بوده، در حالی که ۶۴/۷ درصد (۱۱ نفر) از افراد گروه مورد دارای ویروس پاپیلوم انسانی بودند. آزمون آماری کای دو این اختلاف را معنی‌دار نشان نداد.

در خصوص ارتباط محل تومور با ابتلا به HPV با توجه به این که محل تومور ۵ درصد از بیماران مبتلا، به طور دقیق مشخص نگردیده بود، بررسی ۱۲ مورد باقی مانده، عدم ارتباط محل تومور و ابتلا به ویروس HPV را نشان داد که آزمون آماری کای دو این اختلاف را معنی‌دار نشان نداد (جدول ۲).

نتایج بررسی درجه‌ی تمایز^۲ تومورهای سلول سنگفرشی مری و ارتباط آن با ابتلا به HPV نشان داد که از ۱۷ مورد بیمار مبتلا به سرطان سلول سنگفرشی مری، ۸ مورد درجه‌ی I (خوب تمایز یافته)، ۷ مورد درجه‌ی II (متوسط تمایز یافته) و ۲ مورد درجه‌ی III (کم تمایز یافته) بودند که میزان ابتلا HPV در هر یک از گروه‌ها (I, II, III) به ترتیب ۶ مورد (۷۵ درصد)، ۴ مورد (۵۷/۲ درصد) و ۱ مورد (۵۰ درصد) بود. آزمون آماری کای دو ارتباط معنی‌داری را بین ویروس پاپیلوم انسانی و درجه‌ی سرطان سلول سنگفرشی نشان نداد.

جدول ۲ - رابطه‌ی محل سرطان سلول سنگفرشی مری و ویروس پاپیلوم انسانی در نمونه‌های بیوپسی بیماران، زنجان ۱۳۸۱-۸۲

باشند. حجم نمونه با استفاده از نتایج مطالعه‌ی مشابهی که در دانشگاه آتاتورک ترکیه (۳) صورت گرفته بود، تعیین گردید (در مطالعه‌ی مذکور ۳۳ درصد افراد مبتلا به سرطان سلول سنگفرشی مری آلوده به ویروس پاپیلوم انسانی بودند اما هیچ یک از افراد سالم این ویروس را نداشتند).

نمونه‌های بیوپسی مورد مطالعه توسط همکاران آندوسکوپيست، در واحد آندوسکوپي بیمارستان ولیعصر تهیه شده و به واحد آسیب شناسی بیمارستان ارسال می‌گردید. نمونه‌ها پس از رنگ آمیزی با روش هماتوکسیلین - ائوزین به طور هم‌زمان نیز از نظر تشخیص سرطان سلول سنگفرشی با میکروسکوپ نوری تحت بررسی سیتولوژی (وجود سلول‌های دژنره و واکواله و...) و هیستولوژی (وجود ویروس پاپیلوم انسانی) توسط یک پاتولوژیست همکار طرح قرار می‌گرفتند. اطلاعات مورد نیاز در مورد محل ضایعه و بیوپسی مری انجام شده از برگه‌های گزارش پاتولوژی و آندوسکوپي استخراج گردید و همراه با مشخصات فردی بیماران (سن، جنس) در چک لیست‌های از پیش تهیه شده درج گردید. پس از جمع‌آوری اطلاعات، داده‌ها با استفاده از آزمون کای دو مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

نتایج بررسی بیوپسی مری ۳۴ بیمار نشان داد که ۵۸/۸ درصد (۱۰ نفر) از بیماران گروه مورد و ۳۵/۲ درصد (۶ نفر) از بیماران گروه شاهد را مردان تشکیل می‌دادند. بر اساس آزمون آماری کای دو هیچ اختلاف معناداری از نظر توزیع جنسی بین دو گروه وجود نداشت. علی‌رغم پراکندگی بیشتر توزیع سنی بین گروه شاهد (۶۷/۶±۱۵/۳ سال)، آزمون تی هیچ اختلاف معناداری را از نظر توزیع سنی در گروه شاهد و مورد نشان نداد. جدول ۱- فراوانی همراهی ابتلا به ویروس پاپیلوم انسانی در

«سچوان» چین با روش PCR از نظر DNA ویروس HPV بررسی گردید. در ۳۲ مورد از این نمونه‌ها DNA تیپ ۱۶ و ۱۸ ویروس رویت شد. بر عکس در بافت سالم مری که از نواحی بدون سرطان برداشت شده بود DNA مذکور یافت نشد. در بررسی دیگری که در یک ناحیه‌ی پر خطر کشور چین بر روی ۷۰۰ نمونه‌ی سرطان سلول سنگفرشی به منظور غربالگری DNA ویروس پاپیلوم انسانی با روش PCR صورت گرفت، مشخص شد که ۱۱۸ مورد از این نمونه‌های سرطانی، آلوده به ویروس پاپیلوم انسانی بودند. اما نکته‌ی قابل توجه این که ویروس HPV به ندرت در سلول‌های سالم یا دیسپلاستیک مشاهده گردید (۶).

نتایج یک مطالعه‌ی موردی - شاهده‌ی که در سال ۱۹۹۵ در کشور پرتغال بر روی ۱۷ مورد سرطان سلول سنگفرشی مری و ۱۰ نمونه‌ی شاهد با روش‌های PCR و سیتولوژی صورت گرفت، نشان‌گر همراهی بالای ویروس پاپیلوم انسانی با سرطان سلول سنگفرشی مری در مقایسه با بافت‌های سالم بود (۷). نتایج مطالعات دیگری که در کشور چین (۸)، نروژ (۹)، اسلونی (۱۰) و ترکیه (۳) و ... با روش‌های مختلف صورت گرفته‌اند همراهی ویروس HPV را با سرطان SCC مری تأیید کرده‌اند.

علاوه بر مطالعات بیان شده مقالاتی نیز وجود دارند که همراهی و تاثیر ویروس پاپیلوم انسانی را در بروز این سرطان مورد تردید قرار داده‌اند. نتایج یک بررسی که در ژاپن (۱۹۹۷) بر روی ۴۱ نمونه‌ی سرطان سلول سنگفرشی مری از نظر وجود ژنوم ۱۶ و ۱۸ HPV و EBV انجام شد، حاکی از عدم دخالت این ویروس‌ها در سرطان مری بود (۲). در یک مطالعه‌ی مورد - شاهده‌ی که در سوئد انجام گرفته نمونه‌های بیوپسی مری مربوط به ۱۲۱ بیمار مبتلا به سرطان سلول سنگفرشی مری و ۱۷۳ بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم مری در محل اتصال مری به معده با ۳۰۲ نمونه‌ی شاهد مقایسه گردید و شواهد مثبتی دال بر ارتباط بین عفونت HPV تیپ ۱۸ و ۱۶ و انواع مختلف سرطان مری به دست نیامد (۱۱).

تعداد مبتلایان محل تومور	سرطان سلول سنگفرشی	ویروس پاپیلوم انسانی
فوقانی مری	-	-
میانی مری	۷	۵
تحتانی مری	۵	۴

بحث

یافته‌های تحقیق نشان داد که ارتباط آماری معنی‌داری بین ویروس پاپیلومای انسانی و سرطان سلول سنگفرشی مری وجود ندارد. در این مطالعه هیچ ارتباط معناداری بین ابتلا به HPV با محل آناتومیک تومور و یا با درجه‌ی تمایز تومور یافت نگردید. به عبارت ساده‌تر وجود ویروس پاپیلوم انسانی هیچ نقشی در محل بروز سرطان سلول سنگفرشی مری و یا میزان تمایز تومور نداشت. در مورد مطالعات مشابه انجام شده می‌توان گفت به غیر از مطالعه‌ای که هم اکنون در دانشگاه شهید بهشتی توسط مرکز تحقیقات گوارش در حال انجام است و با بررسی‌های سیتورژنیک نقش احتمالی HPV را در سرطان سلول سنگفرشی مری بررسی می‌کند، مطالعه‌ی دیگری در این رابطه در کشور ما انجام نشده است. در کشورهای مختلف مطالعات متعددی با روش‌های گوناگون انجام شده است که نتایج ضد و نقیضی داشته‌اند.

در یک مطالعه‌ی توصیفی که در کشور ژاپن با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) انجام گرفته است میزان آلودگی بالای با HPV در سرطان سلول سنگفرشی مری (SCC)^۳ گزارش شده است (۴). در مطالعه‌ی دیگری که در هنگ کنگ بر روی ۱۲۷ مورد نمونه SCC مری با روش‌های PCR، IHC^۵، SBH^۶، صورت گرفته است وجود آلودگی با تیپ‌های ۱۶ و ۱۸ ویروس پاپیلوم انسانی در نمونه‌های این سرطان مشخص شده است (۵). در یک مطالعه نمونه‌های سرطان سلول سنگفرشی مری متعلق به ۱۵۲ بیمار ساکن در منطقه‌ی

^۳ Polymerase Chain Reaction

^۴ Squamous Cell Carcinoma

^۵ Southern Blot Hybridization

^۶ Immuno Histo Chemistry

در بررسی دیگری که در کشور اسلونی بر روی نمونه‌های سرطان سلول سنگفرشی متعلق به یک ناحیه‌ی کم خطر از نظر وجود HPV تیپ‌های ۱۶، ۱۸ و ۱۸ با روش PCR صورت گرفت، در هیچ یک از ۱۲۱ نمونه، DNA ویروس پاپیلوم انسانی یافت نشد. این مطالعه نقش HPV در سرطان مری را بیشتر در مناطق پر خطر از نظر سرطان مری قلمداد کرده بود (۱۲). مطالعات دیگری که در کشور انگلستان بر روی ۲۲ نمونه (۱۳)، هلند بر روی ۵۳ نمونه (۱۴) و بلژیک بر روی ۲۱ نمونه (۱۵) به روش PCR انجام گرفته‌اند، نیز نقشی را برای HPV در سرطان سلول سنگفرشی مری قائل شدند.

اکثر مطالعات پیش گفت که رد پای HPV را در ایجاد سرطان سلول سنگفرشی مری جستجو کرده‌اند، از روش‌های بسیار دقیق و اختصاصی تری نظیر PCR، روش‌های کروموزومی و سیتوژنتیک استفاده نموده‌اند. صرف نظر از روش‌های آزمایشگاهی مختلف، آن چه که در این بین می‌تواند توجیه‌کننده‌ی اختلافات بین نتایج مطالعات مختلف باشد، نوع مطالعه، حجم نمونه‌ها و استعداد ژنتیکی ساکنین منطقه برای ابتلاء به سرطان مری و

یا ویروس HPV است. به هر حال به نظر می‌رسد HPV به میزان بالاتری در نمونه‌های سرطانی و حتی نمونه‌های بافت سالم به دست آمده از مناطق پر خطر یافت می‌گردد. شاید وجود این ویروس در نمونه‌های بافت‌های سالم ساکنین مناطق پر خطر، زمینه‌ای برای بروز بیشتر سرطان سلول سنگفرشی مری در این مناطق باشد. در صورت درک نوع رابطه‌ی موجود بین SCC با HPV از طریق انجام مطالعاتی با تعداد نمونه‌های بیشتر و روش‌های آزمایشگاهی اختصاصی‌تر هم‌چون PCR، و به وسیله‌ی بررسی‌های سیتوژنتیک و آنالیز کروموزومی در نواحی پر خطر و کم خطر یک کشور و مقایسه‌ی آن‌ها با یکدیگر، می‌توان گامی موثر در جهت پیشگیری و درمان به موقع این سرطان مهلك برداشت.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان و جناب آقای دکتر موسوی نسب تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- ۱- وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی. گزارش وضعیت سرطان در ایران. تهران: وزارت بهداشت و آموزش پزشکی، ۱۳۷۵، صفحات ۲ تا ۱۰.
- 2- Mizobuchi S, Sakamoto H, Tachimori Y, et al. Absence of HPV 16 and 18 DNA and EBV DNA in esophageal squamous cell carcinoma. *J Pay Clin Oncol* 1997; 27(1): 1-5.
- 3- Hami KK. Detection of Human papiloma virus in esophageal carcinoma by the histopathological method and PCR. *Turk J Med Sci* 2002; 32: 223 - 30.
- 4- He DT, Sas SW. Human papiloma virus infection and esophageal squamous cell carcinoma. *Chung Hua Ping Li Hsneh Tsas Chin* 1996; 3: 3.
- 5- Yeakins TD, Nakagawa H, Rusty AK. The association of Epstein Barr virus DNA with esophageal squamous cell carcinoma oncogene. *Int Cancer* 1996; 13 (8): 8.
- 6- Chang F, Syrjanen S, Shee Q. Human papiloma virus Involvement in esophageal carcinogenesis in the high medicine area of china. A study of 700 case by screening and type specific insitu hybridization, scand. *Gastro Entral Zoo Fb* 1997; 35 (2): 123.
- 7- Fidalgo Po, Carvo MI, Charve S, et al. High prevalence of Human opiloma virus in squamous cell caecinoma and

- matched, normal esophageal mucosa, assessment by polymerase chain reaction. **Cancer** 1995; 76(9): 1522-8.
- 8- He D, Zhang DK, Lam KV, et al. Prevalence of HPV infection in esophageal squamous cell carcinoma in Chinese patients and its relationship to the p53 gene mutation. **Int J Cancer** 1997; 72(6): 959-64.
- 9- Jorge BT, Harulinen T, England A, et al. A prospective seroepidemiological study of the role of HPV in esophageal cancer in Norway. **Cancer Res** 1997; 55(18): 3989-92.
- 10- Toh YK, Wane H, Tanaka S, et al. Detection of HPV DNA in esophageal carcinoma in Japan by PCR. **Cancer** 1999; 70(9): 2374-8.
- 11- Lagergren J, Wang B, Storn R, et al. Human papilloma virus infection and esophageal cancer: a nation wide seroepidemiologic case-control study in Sweden. **J Cancer INST** 1999; 91(2): 151-6.
- 12- Koh TC, Outerk N, Tjony A, Hung SP, et al. No evidence of known types of HPV in squamous cell cancer of esophagus in a low risk area: Kollerødum esophageal tumor study. **Enr J Cancer** 1997; 33(11): 1865-2.
- 13- Morgan RJ, Perry AC, Newcomb PR, et al. HPV and esophageal SCC in the U.K. **Enry Surg Oncol** 1997; 23(6): 51.
- 14- Yavavim P, Ekoe JM, Thorer FP. Food habits and esophageal cancer: an overview. **Cancer Dere T Prev** 1992; 16(3): 163.
- 15- Lambot MA, Hact J, Peny NO, et al. Evaluation of HPV in esophageal SCC in Belgium. **A Eta Gastro EnTral Belg** 2000; 63: 7.