بررسی مولکولی ویروس اپشتین بار (EBV) در نمونه های بافتی زنان مبتلا به سرطان پستان در شهرخرم آباد

سیده حدیث حجازی [۱]، سید حسام الدین حجازی [۲]، غلامرضا طالعی* [۳]

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد، واحد بروجرد، بروجرد، ایران

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

۳- دانشیار، گروه ویروس شناسی، مرکز تحقیقات هپاتیت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

یافته / دوره بیست و یکم / شماره ۱ / بهار ۹۸ / مسلسل ۷۹

چکیده

دریافت مقاله: ۹۷/۱۰/۱ پذیرش مقاله: ۹۷/۱۱/۱۳

مقدمه: سرطان پستان یکی از شایع ترین بدخیمی زنان در جهان بوده و تشخیص زود هنگام این سرطان عامل کلیدی برای درمان آن مطرح شده است . این سرطان یک بیماری است که از نظر شدت بیماری دارای چندین مرحله بوده و ویروسها می توانند در آن نقش بازی کنند. ویروس اپشتین بار(EBV) به عنوان یک عامل مهم در ایجاد برخی از سرطان های انسان شناخته شده است و لذا این مطالعه با هدف تعیین رابطه بین EBV و سرطان پستان صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها: تعداد سی و دو بلوک پارافینی از بیماران مبتلا به توده یا تومور پستان از بیمارستان شهدای عشایر خرم آباد تهیه گردید و ۳۰ مورد از افراد نرمال با همان شرایط سنی به عنوان گروه شاهد انتخاب گردید. استخراج DNA-EBV با استفاده از کیت (سینا کلون) انجام گردید و جهت بررسی کیفیت DNA استخراج شده از دستگاه نانو دراپ وانجام PCR نمونه‌ها برای حضور ژن بتا اکتین استفاده گردید. سپس نمونه‌های مناسب از نظر وجود DNA-EBV با روش PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌ها با آزمون مجذور کای و نرم‌افزار SPSS.16 آنالیز شدند.

یافته‌ها: از ۳۲ نمونه بافت سرطان پستان ۱۱ مورد (۳۴٪/۳) و از ۳۰ نمونه گروه شاهد ۲ مورد (۶٪/۶) از نظر وجود DNA ویروس EBV مثبت گزارش شده از لحاظ آماری آزمون مجذور کای برای ویروس EBV در نمونه‌های سرطانی و شاهد عدد P=0/002 را نشان داد که رابطه معنی‌دار بین ویروس اپشتین‌بار و سرطان پستان را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری: در این مطالعه ارتباط بین وجود ویروس اپشتین بار با سرطان پستان در زنان مبتلا به این بیماری در استان لرستان معنی دار بوده که نشان می‌دهد ویروس اپشتین‌بار می‌تواند یکی از دلایل ایجاد سرطان پستان باشد گرچه بررسی های اپیدمیولوژیکی، بیولوژیکی و مولکولی بیشتری مورد نیاز است تا مکانیسم دخالت این ویروس در فرایند سرطان زایی روشن گردد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان ، اپشتین‌بار ویروس EBV، ویروس سرطان زا ، PCR.

*آدرس مکاتبه: خرم آباد ، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده پزشکی، گروه ویروس شناسی.

پست الکترونیک: taleireza@yahoo.com

مقدمه

سرطان یک بیماری پیچیده چند عاملی است که پس از بیماریهای قلبی عروقی، سوانح و حوادث، سومین عامل مرگ و میر در ایران است. در عصر حاضر، سرطان یکی از داغ ترین مباحث در زمینه زیست شناسی سلولی و مولکولی بوده وسالانه بیش از ۳۰۰۰۰ نفر از ایرانیان در اثر سرطان، جان خود را از دست می‌دهند. تخمین زده می‌شود سالیانه بیش از ۷۰۰۰۰ مورد جدید سرطان، در کشور اتفاق می‌افتد. با افزایش امید به زندگی و افزایش درصد سالمندی در جمعیت کشور، انتظار می‌رود موارد بروز سرطان در دو دهه آینده به دو برابر مقدار فعلی، افزایش یابد (۱). همچنین سرطان ها و تومورها که در فاصله سال‌های ۵۸ تا ۶۰ پنجمین علت مرگ ومیر بوده-اند، در سال‌های ۶۱ تا ۶۵ به چهارمین و در سال های بعد به سومین علت مرگ تبدیل شده اند(۲).

مطالعات نشان داده است که سرطان پستان در کشورهای پیشرفته و آسیایی روند رو به رشدی داشته و مرگ و میر ناشی از سرطان‌ها و تومورها در دهه اخیر روند صعودی را طی کرده است. با توجه به اینکه حدود ۱۰٪ از انواع سرطانها منشا ژنتیکی داشته و عوامل محیطی نقش زیادی در انواع سرطان ها دارند در سالهای اخیر نقش ویروسها در ایجاد سرطان بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. سرطان پستان بیماری است که بعضی از ویروس‌ها ممکن است در یکی از این چند مرحله از فرآیند بیماری زایی بر اساس تئوری اتیولوژی ویروسی نقش داشته باشند (۳،۴). در مورد فیزیوپاتولوژی سرطان پستان القاء سرطان توسط عوامل عفونی متعدد با سرکوب کردن سیستم ایمنی مطرح شده است (۵). سرطان پستان یکی از مهمترین سرطان های زنان در سرتاسر جهان و نیز کشور ایران است نرخ شیوع سرطان پستان در کشورهای غربی در طول چند دهه گذشته روند صعودی داشته و این شیوع در ایران ۲۵/۰۶ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ زن تخمین زده شده است. مطالعات زیادی برای شناخت عوامل خطر این تومور انجام گرفته است که از آنها می‌توان به قاعدگی زود هنگام و یائسگی دیررس، تراکم بافت پستان، قومیت، عدم باروری و در نهایت قرار گرفتن در معرض یک عفونت ویروسی مانند ویروس تومور پستان موش (MMTV)، ویروس اپشتین بار (EBV) و ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) به عنوان عامل خطر برای این سرطان پیشنهاد شده است (۸-۶). ویروس اپشتین بار (EBV) از خانواده هرپس ویروس ها در زیر خانواده گاما هرپس ها قرار می گیرد و به گاما ۱ معروف است. ژنوم این ویروس kb ۱۸۴ می باشد و تقریبا دارای ۱۰۰ ژن کدکننده است. EBV از طریق بزاق انتشار می‌یابد و علاوه بر مونونوکلئوز عفونی که در نوجوانان و بزرگسالان رخ می دهد با بدخیمی‌هایی از قبیل: لنفوم بورکیت, لنفوم پرولیفراتیو, کارسینوم نازوفارنکس و لنفوم هوچکین در افراد HIV مثبت در ارتباط است (۱۰-۹). Labreque و همکاران این احتمال که سرطان پستان مجرایی و لوبولار مهاجم ممکن است با EBV ارتباط داشته باشد را برای اولین بار مطرح نمودند و موجب شدند تا مطالعات بیشتری در این زمینه صورت بگیرد (۱۱). مطالعات زیادی در کشورهای مختلف با روش‌های متفاوتی در این زمینه صورت گرفته و ما نیز در این پژوهش به بررسی حضور یا عدم حضور ژنوم ویروس EBV در نمونه های بافتی مبتلایان به سرطان پستان در شهرستان خرم آباد به روش PCR پرداختیم.

مواد و روش‌ها

۳۲ بلوک پارافینی از بیماران مبتلا به توده یا تومور پستان از بیمارستان شهدای عشایر خرم آباد تهیه گردید و همچنین۳۰ نمونه افراد نرمال (فیبرو آدنوما، یعنی هیچگونه بدخیمی در آنها مشاهده نشد) به عنوان گروه شاهد انتخاب گردید. این نمونه ها مربوط به سال های ۱۳۹۴-۱۳۹۱ بوده و افراد نرمال و بیماران حداقل ۲۰ سال و حداکثر ۵۴ سال سن داشتند. از هر بلوک پارافینی

حدود ۱۰ قطعه برش‌های بافتی به ضخامت ۵ میکرومتر به وسیله دستگاه میکروتوم برش داده شد و در میکروتیوپ ۱/۵ میلی لیتر استریل شده جمع‌آوری گردید. ابتدا از بافت‌های انتخاب شده پارافین زدایی صورت گرفت، سپس استخراج DNA از بافت افراد نرمال و بیماران مبتلا به سرطان پستان با استفاده از کیت (سینا ژن) انجام گردیده و تمام نمونه‌های استخراج شده در فریزر ۲۰- نگهداری گردیدند. طراحی پرایمر برای ژن بتا اکتین به عنوان کنترل داخلی و ویروسEBV صورت گرفت.سپس با استفاده از ژنوم استخراج شده ویروسEBV (بعنوان کنترل مثبت) و پرایمرهای طراحی شده واکنش PCR ، Setup گردید و نمونه های نرمال و بیمار برای حضور ویروس EBV مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت با آنالیزهای آماری معنی‌دار بودن ارتباط بین ابتلا به ویروس و سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت.

الف. پارافین زدائی

برای پارافین زدایی از نمونه ها ابتدا یک میلی لیتر گزیلن (MERK/آلمان) به بافت پارافینه اضافه شد و این روش دوبار تکرارگردید. با اضافه کردن اتانول مطلق واتانول ۷۰٪ به بافت و سپس گرماگذاری و سانتریفوژ در نهایت بافت فاقد پارافین جهت استخراج DNA. فراهم گردید.

ب. استخراج DNA (کیت استخراج)

به بافت فاقد پارافین ابتدا ۱۸۰ میکرولیتر بافر تخریب و ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K اضافه گردید و گرماگذاری در ۵۶ درجه به مدت ۱ تا ۳ ساعت انجام شد و بقیه مراحل بر اساس پروتکل کیت استخراج سینا ژن انجام گرفت.

ج . ارزیابی خلوص و کیفیت DNA استخراج شده

غلظت و خلوص DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ و مناسب بودن نمونه ها جهت واکنش PCR توسط پرایمر های اختصاصی ژن بتا اکتین تعیین شد. نسبت جذب نوری (Optical Density) طول موج‌های ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر سنجیده شد و نمونه‌های دارای جذب نوری حدود ۱/۸ تا ۲ که نشان دهنده کیفیت بالای DNA استخراج است انتخاب شدند.

د . طراحی پرایمرو واکنشPCR برای ژن بتاآکتین

ابتدا برای ژن بتا اکتین طراحی پرایمر انجام شد که توالی آن در جدول ۱ نشان داده شده است سپس برای تمامیDNA استخراج شده از نمونه‌های نرمال و افراد مبتلا به سرطان پستان با پرایمرهای اختصاصی ژن بتا آکتین به عنوان کنترل داخلی واکنش PCR انجام شد.

جدول ۱. توالی آغازگرهای ژن بتا اکتین و مشخصات آن

آغازگر	توالی (۳′ →۵′)	اندازه	دمای اتصال	درصد GC	اندازه محصول PCR (bp)
رفت (Act F)	AGACGCA GGATGGC ATGGG	۱۹	۶۲/۴۱	۶۳/۱۶	۱۶۱
برگشت (Act R)	GAGACC TTCAAC ACCCCA GCC	۲۱	۶۲/۹۳	۶۱/۹۰	۱۶۱

برای انجام واکنشPCR، مخلوط ۲۵ میکرولیتری برای هر نمونه بر اساس دستورالعمل شرکت سیناژن، تهیه شد. (یک میکرو لیترپرایمرF، یک میکرولیتر پرایمر R، دو میکرولیتر (۲۰ نانوگرم) DNA تخلیص شده با کیت استخراج DNA، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس PCR (شرکت Amplicon)، سپس با آب دیونیزه حجم نهایی واکنش به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد.

شرایط دمایی واکنش : یک چرخه : دمای 94° C به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه: شامل واسرشت‌سازی در 95° C به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرها در دمای 61° C به مدت ۵۰ ثانیه و طویل شدن در دمای 72° C به مدت ۴۵ ثانیه قرار گرفتند. در انتها در دمای 72° C به مدت ۱۰ دقیقه باقی ماندند تا اطمینان حاصل شود که محصول به طور کامل سنتز شده است. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد برای مشاهده باند ۱۶۱ جفت بازی الکتروفورز شدند.

انجام واکنش PCR برای بررسی حضور ویروس اپشتین‌بار

هر کدام از نمونه‌ها که برای ژن بتا اکتین مثبت بودند، برای شناسایی و تشخیص ویروس EBV، مجدد PCR شدند. در این مرحله چون باید ویروس احتمالی در نمونه‌ها تکثیر شود به همین علت نیاز به پرایمر ویروس اپشتین‌بار است. توالی این پرایمر طراحی شده در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. توالی پرایمر های ژن ویروس اپشتین‌بار

آغازگر	توالی (۳′ ←۵′)	اندازه	دمای اتصال	درصد GC	اندازه محصول PCR (bp)
رفت(EBV F)	TCTTGATAG GGATCCGCT AGGATA	۲۴	/۷۷ ۵۹	/۸۳ ۴۵	۴۹۷
برگشت(EBV R)	ACCGTGGTT CTGGACTAT CTGGAT	۲۴	۶۲/۹۶	/۰۰ ۵۰	۴۹۷

برای انجام واکنش، مخلوط ۲۵ میکرولیتری برای هر نمونه طبق دستور کار شرکت سیناژن، تهیه شد. (یک میکرو لیترپرایمرF، یک میکرولیترپرایمر R، دو میکرولیتر (۲۰ نانوگرم) DNA تخلیص شده با کیت استخراج DNA، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس PCR (شرکت Amplicon)، سپس با آب دیونیزه حجم نهایی واکنش به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد).

شرایط دمایی واکنش : یک چرخه : دمای 94° C به مدت ۵ دقیقه و سپس ۴۰ چرخه: شامل واسرشت‌سازی در 95° C به مدت ۴۵ ثانیه ، اتصال پرایمر ها در دمای شیب گرادیان دمایی 54 ، ۵۶و۵۸ درجه سانتیگراد به مدت 45 ثانیه و طویل شدن در دمای 72° C به مدت ۴۵ ثانیه قرار گرفتند. در انتها در دمای 72° C به مدت ۱۰ دقیقه باقی ماندند تا اطمینان حاصل شود که محصول به طور کاملسنتز شده است. سپس محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد جهت مشاهده باند ۴۹۷ جفت بازی در دمای مناسب الکتروفورز شدند .

در تمامی مراحل برای تشخیص آلودگی‌های احتمالی از کنترل مثبت (DNA ژنوم ویروس) و کنترل منفی (آب) استفاده شد. سپس برای بررسی صحت پرایمر طراحی شده و قطعه تکثیر شده واکنش Nested-PCR با پرایمر زیر انجام شد.

F:CATGGTAGCCTTAGGACATAA

R: AGACTTAGTTGATGCCCTA

v آنالیز آماری

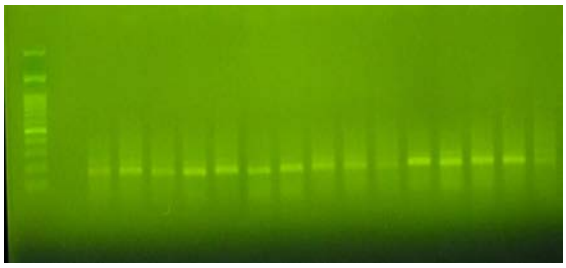
برای آنالیز آماری، داده‌ها بر طبق آزمون مجذور کای و نرم‌افزار SPSS 16 و شدت همبستگی با آزمون کرامر مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها

استخراج DNA و بررسی کیفیت آن:

پس از استخراج DNA از بافت های سرطانی و نرمال کیفیت آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تمامی نمونه ها جذب نوری و غلظت قابل قبولی با دستگاه نانو دراپ داشتند. جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ در این نمونه ها بین۱/۸ تا ۲ مشاهده گردید.

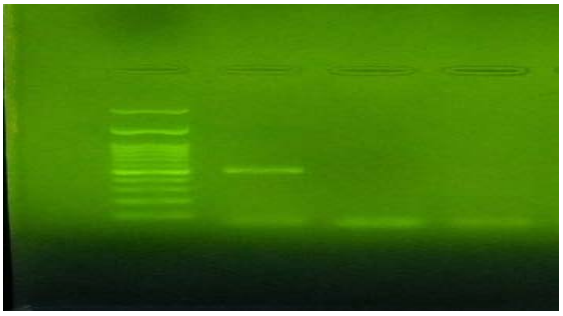
در ادامه با استفاده از DNA های استخراج شده و پرایمرهای اختصاصی ژن بتا اکتین واکنش PCR انجام شد. همه نمونه ها از لحاظ کیفی مناسب و باند مورد نظر ۱۶۱ را تکثیر نمودند (شکل ۱).



شکل ۱. الکتروفورز محصول PCR ژن بتا اکتین در نمونه‌های سرطانی وافراد نرمال. چاهک ۱: نشان‌گر وزن مولکولی ۱۰۰، چاهک ۲: کنترل منفی (آب)، چاهک ۳ تا ۱۰: نمونه‌های سرطانی، چاهک ۱۱ تا ۱۷: نمونه‌های نرمال

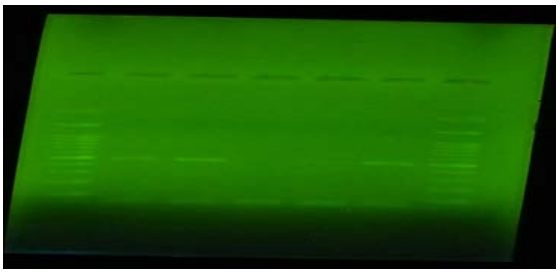
انجام واکنش PCR برای بررسی حضور ویروس اپشتین‌بار

ابتدا با استفاده از ژنوم ویروس واکنش PCR را با استفاده از شیب گرادیان دمایی تنظیم کردیم که بهترین دمای بهینه برای اتصال پرایمر ها ۵۴ درجه سانتیگراد مشخص گردید که در شکل ۲ نشان داده شده است و در واکنش های بعدی از ژنوم ویروس به همراه پرایمر بعنوان کنترل مثبت استفاده گردید.



شکل ۲. گرادیان دمایی : چاهک ۱ نشانگر وزن مولکولی bp۱۰۰، چاهک ۲ دمای ۵۴ ،چاهک ۳ دمای ۵۶ و چاهک ۴ دمای ۵۸

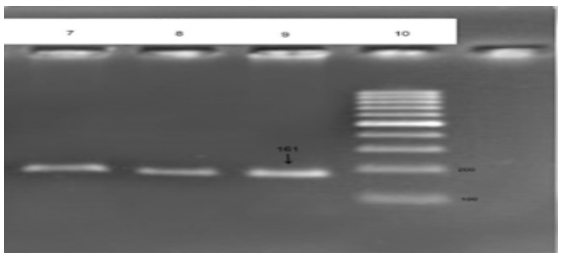
نتایج حاصل از PCR با DNA ژنومیک مربوط به نمونه های سرطانی و شاهد با کمک پرایمر های اختصاصی ویروس EBV نشان داد که از ۳۲ نمونه بافت سرطان پستان ۱۱ مورد (۳۴٪/۳) و از ۳۰ نمونه گروه شاهد ۲ مورد (۶٪/۶) از نظر وجود ویروس EBV مثبت هستند (شکل۳).



شکل ۳. نتایج PCR برخی نمونه های بافت سرطانی با استفاده از آغازگر اختصاصی ژن ویروس اپشتین-بار. چاهک ۱: نشان‌گر وزن مولکولی (bp ۱۰۰فرمنتاز)، چاهک ۲: کنترل مثبت (ویروس)، چاهک ۴ تا ۷: نمونه‌های سرطانی و چاهک شماره ۸ نشانگر مولکولی

نتایج آزمایشNested-PCR

با استفاده از پرایمر داخلی ژن بتا اکتین و محصول PCR واکنش قبل بعنوان DNA الگو واکنش **Nested-PCR** انجام گرفت . که تصویر آن در شکل ۴ نشان داده شده است.



شکل ۴. تکثیر نمونه های DNA محصول واکنش PCR را با پرایمر های داخلی

آنالیز آماری

برای آنالیز آماری، داده‌ها بر طبق آزمون مجذور کای نرم‌افزار SPSS 16 مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آماری آزمون مجذور کای برای ویروس EBV در نمونه‌های سرطانی و شاهد عدد P=0/002 را نشان داد مقدار معیار تصمیم کوچک‌تر از ۰/۰۵ شد، لذا فرضیه صفر رد می‌شود، یعنی بین سرطان پستان و ویروس اپشتین‌بار رابطه معنی‌داری وجود دارد.

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان پستان دومین عامل مرگ ناشی از سرطان‌ها به شمار می‌رود و در کشورهای توسعه یافته تقریبا از هر ۸ زن یک نفر مبتلا به سرطان پستان می‌باشد که در اغلب اوقات منجر به برداشت کامل بافت پستان، شیمی درمانی، پرتودرمانی و هورمون درمانی می‌گردد (۱۲). مطالعات جهانی نشان می‌دهد که ابتلا به این سرطان در حال افزایش می‌باشد (۱۳،۱۴). مطالعات زیادی برای شناخت عوامل خطر این سرطان انجام شده است، اما عوامل خطر شناخته شده برای کمتر از نیمی از تمام موارد سرطان پستان توجیه کننده است و مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با ایجاد سرطان پستان در حد بسیار کمی شناخته شده است (۱۵،۱۶). دخالت ویروس‌های مختلف در علت سرطان پستان انسان به طور گسترده مورد

مطالعه قرار گرفته و نتایج بسیار متغیری گزارش شده است. بعضی شواهد موافق یا مخالف با این موضوع بوده از این رو این مسئله بحث برانگیز است (۱۷). EBV یکی از هشت ویروس هرپس انسانی است که اولین بار به وسیله Barr و Epstein در سال ۱۹۶۴ شناسایی شد. محققین آن را عامل لنفوما که در بخش های خاصی از آفریقای شرقی شایع بود، می دانستند. علائم بالینی این لنفوما نیز توسط DennisBurkitt بیان شد (۱۸). ویروس اپشتین-بار ویروسی است بسیار شایع که بیش از نیمی از جمعیت افراد بالغ دنیا را آلوده کرده است. در مراحل اولیه‌ی آلودگی، ویروس EBV در بدن میزبان به مدت طولانی و بدون علائم خاصی به زیستن ادامه می‌دهد. EBV لنفوسیت های B را آلوده می کند. EBV از طریق بزاق انتشار می‌یابد و بیشتر کودکان در کشورهای در حال توسعه در سه سال اول زندگی با این ویروس درگیر می-شوند که بیشتر موارد عفونت بدون علامت است. انتقال ویروس ممکن است از طریق تماس نزدیک بین افراد خانواده صورت بگیرد (۱۹). بر اساس مطالعه‌ای که Q yang و همکارانش در سال۲۰۱۱ بر روی ۱۴۴۵ بیمار که شامل گروه شاهد و بیمارمی شد انجام دادند مشاهده شد که ۲۹ درصد بیمارانی که به سرطان پستان مبتلا بودند قبلا به EBV نیز آلوده شده بودند. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که بالاترین میزان شیوع این بیماری در آسیا می باشد وکمترین میزان شیوع آن در آمریکا, این متا آنالیز افزایش قابل توجهی در خطر ابتلا به بدخیمی سرطان پستان در بیمارانی که نتایج تست EBV در آنها مثبت بوده را نشان می داد (۲۰). در تحقیقی دیگر که Mazauni و همکاران در سال ۲۰۱۱ در فرانسه با مطالعه‌ای که بر روی۱۹۶ بیمار انجام دادند DNA ویروس اپشتین‌بار در ۳۳ درصد از نمونه‌های سرطانی وجود داشت بر طبق نتایج این آزمایش بیمارانی که به اپشتین‌بار نیز مبتلا بودند نمونه تومورهای آنها فنوتیپ تهاجمی تری را دارا بودند و بیشتر گیرنده استروژن منفی بودند و بیان بالای فعالیت تایمیدین کیناز در موارد آلوده به EBV بالاتر بود (۲۱).

در مطالعه حاضر از تعداد ۳۲ نمونه سرطان پستان،۱۱ مورد (۳۴٪/۳) مثبت گردید. همچنین از تعداد ۳۰ نمونه بافت خوش خیم فیبروآدنوما ۲ مورد (۶٪/۶) مورد مثبت شدند. نتایج حاصل از این مطالعه که به روش PCR انجام دادیم مشابه نتایج محققین دیگری بود که ارتباط این ویروس را با سرطان پستان گزارش کردند (۲۲). از جمله مطالعاتی که در سال۲۰۱۰ توسط Lorenzetti و همکاران در خصوص ارتباط این ویروس و سرطان پستان بود، ۳۱٪ موارد مثبت گزارش کرده بودند (۲۳). همچنین این نتایج مشابه پژوهشی بود که در سال ۲۰۱۸ توسط خانم سلحشور و همکاران در استان اصفهان، به بررسی ارتباط این ویروس و سرطان سینه پرداختند و رابطه آن را معنی دار گزارش نمودند (۲۴). این نتایج و یافته ها نشان می دهدکه می توان اپشتین‌بار ویروس را یکی از عوامل به وجود آورنده سرطان پستان به شمار آورد. در برخی مطالعات هم ممکن است نتوان ارتباط معنی داری بین سرطان پستان و EBV استنباط کرد مانند مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۳ توسط Herrmann K و همکاران انجام دادند (۲۵) و یا مطالعه‌ای که خانم سعیدی و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی افراد مبتلا به سرطان پستان در استان خوزستان انجام دادند و ارتباط معنی داری بین این ویروس و سرطان سینه گزارش نگردید (۲۶). ارتباط EBV با سرطان پستان با وجود حضور مستمر مواد ژنتیکی EBV در حتی بیش از ۵۱٪ از تومورهای سرطان پستان، دائما مورد بحث بوده است. این اختلافات ناشی از شکست برخی از محققان برای شناسایی EBV در سرطان است. بنابراین گرچه اینگونه به نظر می رسد که ویروس EBV دارای نقش مهمی در اتیولوژی بیماری سرطان پستان داشته باشد اما قطعاً مطالعات و

بررسی‌های بیشتری می‌بایست در ارتباط با نقش این ویروس در ایجاد سرطان پستان صورت بگیرد تا مکانیسم آن در فرایند بیماریزایی روشن شود. بنابرین پیشنهاد میگردد که ارتباط بین این ویروس و سرطان در جوامع و قومیت های مختلفی مورد بررسی قرار گیرد تا در صورت تایید بتوان با تولید واکسن از ابتلا به سرطان سینه که جمعیت زیادی از زنان کشورمان وجهان به آن مبتلا هستند و سایر بیماری های مرتبط با این ویروس جلوگیری و پیشگیری بعمل آید.

تشکر و قدردانی

در نهایت از دانشگاه لرستان و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی لرستان که امکان استفاده از امکانات آن مرکز را برای انجام این پژوهش فراهم نمودند و آزمایشگاه بیمارستان شهدای عشایر که بافت‌های توموری را دراختیارما قرار دادند و تمامی بیمارانی که در این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می نماییم.

References

1. Kagami S, Saeki H, Idezuki T, Yano *S*, Kawabata Y, OkochiH, et al. Epithelioid sarcoma associated withlung adenocarcinoma. The Journal of dermatology, 2005; 32: 904-908
2. Atieh A, Zahra R, Fatemeh H, Maryam K, Mohammad M, Mohammad Esmaeil A. Parity and breastfeeding are preventive measures against breast cancer in Iranian women. Breast Cancer, 2011; 18: 51-55
3. Labrecque LG1, Barnes DM, Fentiman IS, Griffin BE, Epstein-Barr virus in epithelial cell tumors: a breast cancer study. Cancer research, 1995; 55: 39-45
4. Glaser SL1, Hsu JL, Gulley ML, Epstein-Barr virus and breast cancer: state of the evidence for viral carcinogenesis. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention, 2004; 13: 688-697
5. Mazouni C1, Fina F, Romain S, Ouafik L, Bonnier P, Brandone JM, Martin PM, Epstein-Barr virus as a marker of biological aggressiveness in breast cancer. British journal of cancer, 2011; 104:332-337
6. Key TJ1, Verkasalo PK, Banks E,. Reviews Epidemiology of breast cancer. 2001; 2:133-140
7. Bonnet M1, Guinebretiere JM, Kremmer E, Grunewald V, Benhamou E, Contesso G, et al. Detection of Epstein-Barr Virus in Invasive Breast Cancers. J Natl Cancer Inst. 1999; 18:1376-1381
8. Wang T, Chang P, Wang L, Yao Q, Guo W, Chen J, et al. The role of human papillomavirus infection in breast cancer. Med Oncol. 2012; 29:48–55
9. Ribeiro-Silva A, Ramalho LNZ, Garcia SB, Zucoloto S. Does the correlation between EBNA-1 and p63 expression in breast carcinomas provide a clue to tumorigenesis in Epstein-Barr virus-related breast malignancies? Brazilian J Med Biol Res, 2004; 37:89–95
10. Glaser SL, Hsu JL, Gulley ML. Epstein-Barr virus and breast cancer: state of the evidence for viral carcinogenesis. Cancer Epidemiol Prev Biomarkers. 2004;13:688–697
11. Labrecque LG, Barnes DM, Fentiman IS, Griffin BE. Epstein-Barr virus in epithelial cell tumors: a breast cancer study. Cancer Res. 1995;55:39–45.
12. Heravi Karimovi M, Pourdehqan M, Jadid Milani M, Foroutan SK, Aieen F. Study of the effects of group counseling on quality of sexual life of patients with breast cancer under chemotherapy at Imam Khomeini Hospital. J Maz Univ Med Sci. 2006;16:43–51.
13. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin. 2005;55:74–108.
14. Wilson CM, Tobin S, Young RC. The exploding worldwide cancer burden: the impact of cancer on women. Int J Gynecol Cancer. 2004;14:1–11.
15. Madigan MP, Ziegler RG, Benichou J, Byrne C, Hoover RN. Proportion of breast cancer cases in the United States explained by well-established risk factors. JNCI J Natl Cancer Inst. 1995;87:1681–5.
16. Hankinson SE, Colditz GA, Willett WC. Towards an integrated model for breast cancer etiology: the lifelong interplay of

genes, lifestyle, and hormones. Breast Cancer Res. 2004 ;6 :213-218

17. Joshi D, Buehring GC. Are viruses associated with human breast cancer? Scrutinizing the molecular evidence. Breast Cancer Res Treat. 2012;135:1–15.
18. Greenwald P1, Dunn BK.. Landmarks in the history of cancer epidemiology. Cancer Res. 2009 ;15:2151-2162
19. A. A. Gru, B. H. Haverkos, A. G. Freud, J. Hastings, N. B. Nowacki, C. Barrionuevo, C. E. Vigil, et al. The Epstein-Barr Virus (EBV) in T Cell and NK Cell Lymphomas: Time for a Reassessment. Curr Hematol Malig Rep. 2015; 10: 456–467.
20. Huo Q1, Zhang N, Yang Q.. Epstein-Barr virus infection and sporadic breast cancer risk: a meta-analysis. Plos one 2012;7: 31656
21. Mazouni C , Fina F , Romain S , Quafik L , Bonnier P , Brandone J-M , et al. Epstein – Bar virus As a marker of biological aggressiveness in breast cancer. British journal of the cancers. Br J Cancer. 2011; 104: 332–337.
22. Cohen JI. Introduction to Herpesviridae. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Philadelphia . Churchill Livingstone; 2010 ; pp:2011-2017
23. Lorenzetti M , De matteo E , Gass H , Vasquez P , Lara J , Gonzalez P , Preciado M , Chabay P. characterization of Epstein – Bar virus latency pattern in Argentina. PLoS One. 2010; 5: 13603
24. Salahshournia zahra , hejazi Hesam , Hadi Faranak , Saeedi Zahra . The Study of Relationship Between Epstein - Barr virus and Breast Cancer in Isfahan Province. Breastdisease.2018;11:17-24(In Persian)
25. Herrmann K, Niedobitek G. Epstein–Barr virus-associated carcinomas: facts and fiction. J Pathol.2003;199:140–145.
26. Saeedi Z., Hadi F., Hejazi S., Salahshournia Z. 'The Relationship Between EBV Virus and Breast Cancer in Khuzestan Province of Iran', Journal of Applied Biotechnology Reports,2018; 5: 37-41

Study on the association of Epstein - Barr virus with breast cancer in Khorramabad breast cancer patients, Iran

Hejazi H[1], Seyed Hesamaldin Hejazi[2], Taleii Gh[*3]

1.Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Borojerd, Iran
2.Department of Biology, Faculty of Science, Lorestan University, Khorramabad, Iran
3.Associate Professor, Department of Virology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran, taleireza@yahoo.com

Received: *29 Dec 2018* Accepted: *2 Feb 2019*

Abstract

Background: Breast cancer is one of the most common malignancies in the world, and early diagnosis of this cancer is a key factor in its treatment. This cancer is a multi-stage disease, in which viruses can play a role. EBV is known as an important factor in the development of some human cancers. Therefore, this study was conducted to determine the relationship between Epstein-Barr virus, EBV, and breast cancer.

Materials and Methods: Thirty-two paraffin blocks from patients with lung mass or breast tumor were collected from Khorramabad Shohada Aschary Hospital. Thirty normal individuals with the same age were selected for the control group. Extraction of EBV-DNA was performed using Sina Clone. To evaluate the DNA quality extracted from the nano-droplet and PCR, samples were used for the presence of the beta-actin gene. Then appropriate samples of EBV-DNA were evaluated for PCR. Data was analyzed by the chi-square test and SPSS.16 software.

Results: Of 32 samples of breast cancer, 11 cases (34.3%) and 30 controls (2.6%) were positive for the presence of EBR-DNA in the Chi-square test. Cancer and control had a P-value of 0.002, which showed a significant correlation between the Epstein-Barr Virus and breast cancer.

Conclusion: In this study, the relationship between the presence of the Epstein-Barr virus and breast cancer in women with this condition is significant in Lorestan province, which indicates that Epstein-Barr virus can be one of the reasons for breast cancer, although more epidemiological, biological and molecular analyses will be required It is necessary to clarify the mechanism for the involvement of this virus in the carcinogenicity process.

Keywords: Breast Cancer, Ectopic Virus EBV, Carcinogenic Virus, PCR.

Citation: Hejazi H, Hejazi S H, Taleii Gh. Study on the association of Epstein - Barr virus with breast cancer in Khorramabad breast cancer patients, Iran. Yafte. 2019; 21(1):89-98.