(مقاله پژوهشی)

مطالعه ارتباط بین *پاپیلوما ویروس انسانی* و سرطان پروستات با روش های ایمونوهیستوشیمی و PCR در بیمارستان های اهواز

افسون شریعت[1*]، پرستو ارزانی[2]، معصومه شیرالی[2]

۱-استادیار گروه میکروب شناسی.
۲-دانشجوی دکتری گروه میکروب شناسی.

۱و۲-گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

* نویسنده مسئول:
افسون شریعت؛ گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۷۳۳۰۸۴۰۲
Email: afsoonsh1980@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: ژنوتیپ های پرخطر *پاپیلوما ویروس انسانی* (*Human papillomavirus, HPV*) با القاء تغییراتی در اپیتلیوم پروستات منجر به سرطان پروستات می شوند. هدف از این مطالعه، شناسایی ارتباط بین عفونت *HPV* و سرطان پروستات با روشهای ایمونوهیستوشیمی (Immunohistochemistry, IHC) و PCR (Polymerase chain reaction) در بیمارستان های اهواز بود.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی-مقطعی، ۵۰ نمونه پارافینه بافتی پروستات از بایگانی آزمایشگاه های پاتولوژی بیمارستان های اهواز در سال ۹۸ جمع آوری گردید. ۲۵ نمونه بافتی از بیماران با سرطان پروستات و ۲۵ نمونه دیگر از بیماران با هیپرپلازی خوش خیم پروستات (کنترل) انتخاب شد. با روش های IHC و PCR، عفونت *HPV* در نمونه ها تشخیص داده شد.

یافته ها: آنکوپروتئین *HPV* E7 در ۴ (۱۶٪) نمونه سرطان پروستات توسط IHC بیان گردید. با روش PCR ژن *L1* ویروسی در همان ۴ (۱۶٪) نمونه سرطان پروستات شناسایی گردید و ژن *HPV E7* نیز در همان نمونه های سرطانی تشخیص داده شد. بین عفونت *HPV* و سرطان پروستات ارتباط معناداری وجود داشت (P=0.03).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، عفونت *HPV16* نقش مهمی در توسعه سرطان پروستات در بیمارستان های اهواز دارد. بعلاوه، روش IHC میتواند جهت تشخیص آنکوپروتئین های *HPV* در بیماران سرطان پروستات بکار رود و این تکنیک را میتوان جایگزین روش PCR نمود.

واژگان کلیدی: *پاپیلوما ویروس انسانی*، سرطان پروستات، ایمونوهیستوشیمی، PCR، بیمارستان های اهواز.

دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۲/۱۳ **دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده: ۱۳۹۹/۶/۵** **اعلام قبولی: ۱۳۹۹/۶/۱۷**

مقدمه

سرطان پروستات رایجترین سرطان در مردان در سراسر جهان می باشد (۱). سابقه خانوادگی، افزایش سن، رژیم غذایی و عوامل محیطی در ایجاد این سرطان دخالت دارند (۲). بیماری های منتقل شده از طریق جنسی ممکن است نقش مهمی در شروع سرطان پروستات داشته باشند (۳). *ویروس پاپیلومای انسانی* (*Human papillomavirus, HPV*) یکی از رایجترین عوامل عفونی انتقال یافته از طریق جنسی است (۴). این ویروس یک ویروس کوچک فاقد پوشش با DNA حلقوی دو رشته ای متعلق به خانواده *پاپووا ویریده* می باشد (۵).

عفونت *ویروس پاپیلومای انسانی* می تواند سبب التهاب پروستات شده و شواهد نشان می دهد التهاب مزمن در بروز سرطان پروستات دخالت دارد (۶). سرطان زایی *HPV* در بافت انسانی اثبات شده است. خاصیت تومورزایی ویروس بدلیل ایجاد عفونت پایدار و بیان دو پروتئین ویروسی E6 و E7 بوده که بترتیب مهار کننده پروتئین های سرکوبگر تومور در انسان از قبیل: رتینوبلاستوما (Retinoblastoma, Rb) و p53 می باشند (۷). پروتئین های تومورزای E6/E7 در *HPV* سبب نامیرا شدن سلول های اپیتلیال پروستات می شوند (۸). اتصال پروتئین E7 *HPV* به Rb منجر به تجزیه این پروتئین تنظیم کننده سلولی، از دست رفتن یکی از نقاط کنترل چرخه سلولی و پیشروی سلول به سمت بدخیمی می گردد (۹).

اولین بار McNicol و همکاران در سال ۱۹۹۰ حضور DNA ویروسی را در بافت های پروستات بیماران با روش PCR شناسایی کردند (۱۰). در تحقیقی Yang و همکاران در سال ۲۰۱۵ بیان کردند خطر بروز سرطان پروستات طی عفونت با *HPV* افزایش می یابد (۱۱). مطالعات زیادی ارتباط بین عفونت *HPV* و سرطان پروستات را نشان می دهد (۱۲). عفونت با *HPV* های پرخطر از قبیل *HPV16* و *HPV18* در بیش از ۵۰٪ از نمونه های سرطان پروستات گزارش شده است (۱۳). در این مطالعه، ارتباط بین *پاپیلوما ویروس انسانی* و سرطان پروستات با روش های ایمونوهیستوشیمی و PCR در بیمارستان های اهواز مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی

بیماران مورد مطالعه

در این مطالعه توصیفی-مقطعی، بلوک های پارافینه ۲۵ بیمار مبتلا به سرطان پروستات و ۲۵ بیمار دارای هیپرپلازی خوش خیم پروستات مراجعه کننده به بیمارستان های گلستان و امام خمینی (ره) اهواز در بازه زمانی اردیبهشت ماه تا مهر ماه ۱۳۹۸ جمع آوری گردید. پس از بررسی های مجدد توسط پاتولوژیست، همه نمونه ها از لحاظ بافت شناسی تأیید شدند.

معیارهای ورود به مطالعه شامل بلوک های بیماران مبتلا سرطان پروستات و هیپرپلازی خوش خیم پروستات بود که اطلاعات کاملی در مورد سن و درجه هیستوپاتولوژیکی داشتند و معیار خروج از مطالعه شامل بلوک های فاقد اطلاعات بود. ویژگی های نمونه های بافتی بیماران در جدول (۱) آمده است. این مطالعه در کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی کازرون با شناسه اخلاق: IR.IAU.KAU.REC.1398.117 مورد تایید قرار گرفت.

روش ایمونوهیستوشیمی

از ۵۰ بلوک پارافینه توسط میکروتوم (Leitz, Germany) سکشن هایی با ضخامت ۵ میکرومتر روی اسلاید تهیه شد و جهت بررسی بیان پروتئین E7 *پاپیلوما ویروس* با روش ایمونوهیستوشیمی، کیت Mouse/Rabbit PolyDetector HRP/DAB (Dako, Denmark) مورد استفاده قرار گرفت.

همانطور که در مطالعه پیشین ذکر گردید، ابتدا اسلایدها با محلول های زایلن و اتانل پارافین زدایی شدند(۱۴). سپس جهت سرکوب فعالیت پراکسیداز داخلی، اسلایدها در محلول پراکسید هیدروژن ۳٪ و متانول انکوبه گردیدند. پس از شستشوی آنها با بافر فسفاته، باندهای غیراختصاصی با افزودن سرم نرمال بزی به اسلایدها غیرفعال شدند (۱۴). جهت تشخیص بیان پروتئین E7 در نمونه های بافتی، اسلایدها توسط تکنیک استرپ آویدین-بیوتین پراکسیداز با آنتی بادی منوکلنال E7 (Dako, Denmark) و دی آمینوبنزیدین (Dako, Denmark) بعنوان ماده کروموژن به مدت یک شبانه روز رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت اسلایدها زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. رسوبات قهوه ای رنگ در هسته سلول های عفونی و گاهی سیتوپلاسم نشان دهنده حضور پروتئین ویروسی E7 می باشد (۱۵).

استخراج DNA

ابتدا برش نازکی با ضخامت ۷ میکرومتر از هر بلوک پارافینه تهیه شد. سپس نمونه ها جهت پارافین زدایی با استفاده از زایلن ۱۰۰٪ بمدت ۵ دقیقه انکوبه شدند و توسط اتانل خالص آبدهی گردیدند. در مرحله بعد، استخراج DNA ژنومی از نمونه های بافتی توسط کیت ساخت شرکت سیناژن ایران طبق دستورالعمل انجام شد. در نهایت DNA استخراج شده در ۵۰ میکرولیتر بافر Tris-EDTA حل شد و غلظت DNA با استفاده از دستگاه NanoDrop (ThermoScientific, USA)اندازه گیری گردید و تا زمان انجام آزمایش PCR در فریزر ۲۰- درجه نگهداری شد (۱۶).

روش ملکولی PCR

DNA استحراج شده از نمونه های بافتی، جهت حضور *HPV* در ۵۰ نمونه بافتی با روش مولکولی PCR و توسط پرایمرهای عمومی GP5+/6+ : 5'- TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC-3' و 5'-GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C-3' با اندازه ۱۵۰ جفت باز بررسی شدند (۱۶). این پرایمرها توالی های حفظ شده در ژن *L1* ویروسی (کد کننده پروتئین کپسیدی) را هدف قرار داده و قادرند طیف وسیعی از انواع *HPV* را شناسایی نمایند (۱۶). مخلوط واکنش برای PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی:۱۰ میکرولیتر Master mix، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت، ۵ میکرولیتر DNA الگو و ۸ میکرولیتر آب دیونیزه بود.

برنامه تکثیر PCR برای پرایمرهای عمومی شامل: یک سیکل واسرشت اولیه در ۹۵درجه سلسیوس بمدت ۵ دقیقه بود که بدنبال آن ۳۰ سیکل واسرشت در ۹۵ درجه سلسیوس بمدت ۳۰ ثانیه، اتصال در ۴۸ درجه سلسیوس بمدت ۳۰ ثانیه، طویل سازی در ۷۲ درجه سلسیوس بمدت ۱ دقیقه و طویل سازی نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس بمدت ۵ دقیقه انجام شد.

همچنین جهت شناسایی ژنوتیپ *HPV* های پرخطر، روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تیپ برای ژن *HPV16 E7* : 5'ATA TAT GTT AGA TTT GCA ACC AGA GAC AAC 3' و 5'GTC TAC GTG TGT GCT TTG TAC GCA C 3' با اندازه ۱۹۶ جفت باز و پرایمر اختصاصی تیپ برای ژن *HPV18 E7* : 5'CCG AGC ACG ACA GGA GAG GCT 3' و 5' TCG TTT TCT TCC TCT GAG TCG CTT 3' با اندازه ۱۷۲ جفت باز انجام گردید (۱۷). برنامه تکثیر PCR برای پرایمرهای اختصاصی شامل: یک سیکل واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس بمدت ۵ دقیقه بود که بدنبال آن ۳۰ سیکل واسرشت در ۹۴ درجه سلسیوس بمدت ۳۰ ثانیه، اتصال در ۵۶ درجه سلسیوس بمدت ۳۰ ثانیه، طویل سازی در ۷۲ درجه سلسیوس بمدت ۴۰ ثانیه و طویل سازی نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس بمدت ۵ دقیقه انجام گرفت.

محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۵ ٪ الکتروفورز شدند و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیم برماید قابل مشاهده

گردیدند (۱۷). DNA ژنومی رده سلولی HeLa حاوی توالی *HPV18* از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد و بعنوان نمونه کنترل مثبت بکار رفت (۱۶). همچنین مخلوط واکنش PCR بدون افزودن DNA الگو (بجای DNA آب مقطر اضافه شد) بعنوان نمونه کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت (۱۶).

آنالیز آماری

نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ (SPSS Inc. Chicago, USA)و توسط آزمون-های آماری t-test و کای اسکوئر آنالیز شدند و $P<0.05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

با استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی، پروتئین E7 ویروسی بصورت رسوبات قهوه ای رنگ در هسته و سیتوپلاسم سلول ها در ۴ نمونه بافتی (۱۶٪) از سرطان پروستات توسط میکروسکوپ نوری مشاهده گردید که می تواند دلالت بر حضور *پاپیلوما ویروس* های پرخطر در این نمونه ها باشد (شکل ۱). اما در هیچ یک از نمونه های بافتی هیپرپلازی خوش خیم پروستات، این پروتئین ویروسی مشاهده نشد.

به منظور تایید روش IHC جهت تشخیص*HPV* در ۵۰ نمونه بافتی بیماران، PCR انجام شد. در همان ۴ نمونه بافتی سرطان پروستات که بیان پروتئین E7 با روش ایمونوهیستوشیمی تأیید شده بود، حضور DNA *پاپیلوما ویروس* با روش PCR توسط پرایمرهای عمومی اثبات گردید و ژنوم ویروسی در هیچ یک از نمونه های بافتی هیپرپلازی خوش خیم پروستات وجود نداشت. شکل (۲) محصولات PCR بر روی ژل آگارز برای ژن *L1* *پاپیلوما ویروس انسانی* را نشان می دهد.

همچنین، الکتروفورز ژل آگاروز محصولات PCR توسط پرایمرهای اختصاصی نشان داد که ۴ نمونه *HPV* مثبت در نمونه های بافتی سرطان پروستات، *پاپیلوما ویروس* های پرخطر *HPV16* بودند (شکل ۳). لازم به ذکر است ۴ نمونه بافتی سرطان پروستات *HPV* مثبت، درجه گلیسون بالایی داشتند.

با توجه به تجزیه و تحلیل آماری، بین سرطان پروستات و حضور *HPV* تفاوت معنی داری بدست آمد (p=۰/۰۳). در جدول(۲) میزان **ارتباط بین حضور *HPV* و نمونه بیماران** با روش های ایمونوهیستوشیمی و PCR نشان داده شده است.

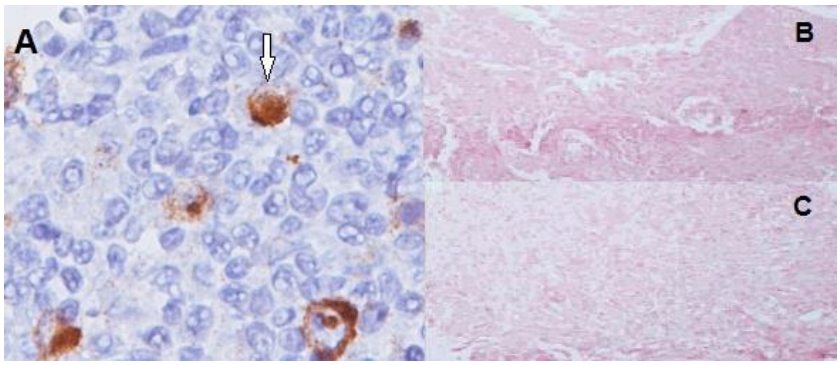
جدول ۱: ویژگی های بیماران مورد مطالعه بیماران

	سرطان پروستات (n= ۲۵)	هیپرپلازی خوش خیم پروستات (n =۲۵)
میانگین سنی (Mean±SD)	۶۵/۴±۸/۰۲	۶۷/۳۶ ± ۲/۴
مرحله پاتولوژیکی		
T۱	۰	–
T۲	۱۶	–
T۳	۷	–
T۴	۲	–
درجه گلیسون (Gleason score)		
Gleason ≤ ۶	۱۳	–
Gleason= ۷	۱۱	–
Gleason ≥ ۸	۱	–

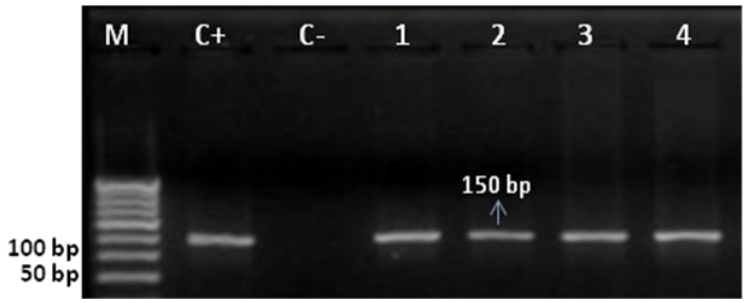
SD: Standard Deviation

جدول ۲: ارتباط بین حضور *HPV* و نمونه های بیماران

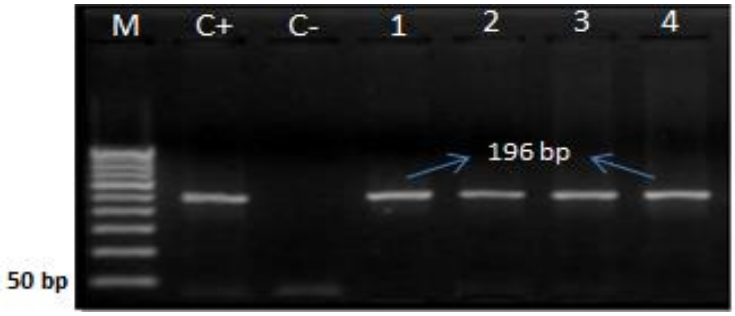
بیماران	تعداد (٪)	P-value
سرطان پروستات		
HPV مثبت	۴ (٪۱۶)	۰/۰۳
HPV منفی	۲۱ (٪۸۴)	
هیپرپلازی خوش خیم پروستات		
HPV مثبت	۰ (٪۰)	-
HPV منفی	۲۵ (٪۱۰۰)	



شکل ۱: شناسایی بیان پروتئین E7 *HPV* در نمونه های بافتی سرطان پروستات با روش ایمونوهیستوشیمی. (A) همانطور که با فلش مشخص شده رسوبات قهوه ای رنگ حاکی از حضور این پروتئین در سلول ها در نمونه بافتی *HPV* مثبت است. شکل های (B) و (C) نمونه های بافتی فاقد پروتئین E7 را نشان می دهند.



شکل ۲: الکتروفورز ژل آگارز محصولات PCR جهت تشخیص *HPV* توسط پرایمرهای عمومی (۱۵۰ جفت باز)؛ M: مارکر Ladder ۵۰ جفت بازی (CinnaClon, Iran) , C+: نمونه کنترل مثبت، C-: نمونه کنترل منفی، چاهک‌های ۱-۴: نمونه‌های *HPV* مثبت.



شکل ۳: الکتروفورز ژل آگارز محصولات PCR جهت تشخیص *HPV* توسط پرایمرهای اختصاصی (۱۹۶ جفت باز)؛ M: مارکر Ladder ۵۰ جفت بازی (CinnaClon, Iran) , C+: نمونه کنترل مثبت، C-: نمونه کنترل منفی، چاهک‌های ۱-۴: نمونه‌های *HPV16* مثبت.

بحث

در این مطالعه حضور *HPV* در نمونه های بافتی دو گروه از بیماران مبتلا به سرطان پروستات و بیماران با هیپرپلازی خوش خیم پروستات بررسی گردید. *پاپیلوما ویروس* در ۴ (۱۶٪) نمونه بافتی سرطان پروستات با روش های PCR و IHC تشخیص داده شد. بدلیل مشکل بودن دستیابی به بافت های نرمال پروستات، بافت های هیپرپلازی خوش خیم پروستات بعنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند.

عفونت *پاپیلوما ویروس* به دو روش نامیرا کردن سلولی و ایجاد التهاب مزمن در بروز سرطان پروستات مشارکت دارد (۱۸). بطوریکه این عفونت ویروسی سبب تحریک التهاب مزمن پروستات شده و غده پروستات، بافت های مجاور و سیستم ادراری آلوده میگردند (۲۰،۱۹). عمدتا غده پروستات بعنوان مخزنی جهت انتقال جنسی *پاپیلوما ویروس* از طریق مایع سمینال عمل کرده و عفونت مخاط سیستم تناسلی میتواند منجر به تکثیر سلول های مخاطی و ایجاد بدخیمی شود. بدین ترتیب *HPV* با سرطان پروستات مرتبط می باشد (۲۱،۱۰).

در مطالعات مختلف نتایج متناقضی از وجود ارتباط بین *HPV* و سرطان پروستات وجود دارد. در تحقیقی Martinez-Fierro و همکاران در سال ۲۰۱۰ شیوع ژنوم ویروسی را در ۲۰٪ از نمونه های سرطان پروستات یافتند (۲۲) که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. همچنین، بطور مشابهی در تحقیقات جداگانه ای که توسط Michopoulou و همکاران در سال ۲۰۱۴ و Medel-Flores و همکاران در سال ۲۰۱۸ انجام شد *HPV* پرخطر بترتیب در ۱۶٪ و ۱۹٪ نمونه های سرطان پروستات تشخیص داده شد (۲۴،۲۳). در پژوهش های جداگانه ای که توسط Moghoofei و همکاران در سال ۲۰۱۹ و Atashafrooz و همکاران در سال ۲۰۱۶ در ایران انجام شد ارتباط مثبت معنی داری بین عفونت *HPV* و سرطان پروستات بدست آمد (۲۵،۲۶) که با تحقیق حاضر مشابهت دارد. در این مطالعه نیز بین عفونت *پاپیلوما ویروس انسانی* و سرطان پروستات ارتباط معنی داری وجود داشت (p=۰/۰۳).

اما در مطالعه Aydin و همکاران در سال ۲۰۱۷ تنها ۱/۷٪ از نمونه های سرطان پروستات واجد *HPV* DNA بودند و ژنوم ویروس در هیچ یک از نمونه های بافتی هیپرپلازی خوش خیم پروستات وجود نداشت (۲۷). همچنین در تحقیقات جداگانه ای که در ایران توسط Jafari و همکاران در سال ۲۰۱۸ و Abdolmaleki و همکاران در سال ۲۰۱۸ بترتیب در شهرهای کرمان و سنندج انجام گرفت، ارتباطی بین *پاپیلوما ویروس انسانی* و سرطان پروستات مشاهده نشد (۲۸،۱۶).

متفاوت بودن نتایج این مطالعه با تحقیقات پیشین ممکن است بدلیل کاربرد روشهای مختلف جهت تشخیص عفونت ویروسی در نمونه های سرطانی، مشکلات تکنیکی این روشها، تفاوت در تشخیص ژنوم *HPV* و محدودیت هایی از قبیل تعداد کم نمونه های مورد بررسی باشد. بعلاوه، فراوانی و شیوع عفونت *HPV* در بیماران مبتلا به سرطان پروستات مرتبط با ناحیه جغرافیایی، سن بیمار، وضعیت ایمنی و فاکتورهای ژنتیکی فرد است.

در این مطالعه، ویروس پرخطر *HPV16* در ۴ (۱۶٪) نمونه سرطان پروستات جمع آوری شده از بیمارستان های اهواز شناسایی شد. مشابه با این تحقیق، در اکثر مطالعات صورت گرفته نیز *HPV* های پرخطری نظیر *HPV16* و *HPV18* در ایجاد سرطان پروستات نقش داشتند(۲۵،۲۹). بهترین راه جهت تشخیص *HPV* DNA در نمونه های بافتی سرطان پروستات، روش ملکولی PCR می باشد. اما نقطه ضعفی که استفاده از پرایمر عمومی *L1* برای شناسایی *HPV* در نمونه ها دارد، این است که در طی درج *HPV* درون ژنوم میزبان، اغلب ژن *L1* از دست رفته و اکثر نمونه های مثبت بصورت منفی کاذب گزارش می گردند (۳۰).

روش ایمونوهیستوشیمی نیز جهت شناسایی آنتی-ژن‌های اختصاصی ویروسی مؤثر بوده و دارای حساسیت و اختصاصیت بالایی می باشد (۳۱). در این مطالعه، پروتئین E7 ویروسی در ۴ (۱۶٪) نمونه سرطان پروستات با روش ایمونوهیستوشیمی شناسایی شد. مشابه با تحقیق حاضر، در مطالعه صورت گرفته توسط Mokhtari و همکاران در سال ۲۰۱۱ در اصفهان ارتباط مثبت معنی داری بین *HPV* و سرطان پروستات با روش ایمونوهیستوشیمی بدست آمد (۳۱). همچنین در تحقیقی که توسط Pascale و همکاران در سال ۲۰۱۳ در ایتالیا انجام گرفت، پروتئین ویروسی E7 در نمونه های سرطان پروستات با روش ایمونوهیستوشیمی شناسایی شد که با مطالعه حاضر مطابقت داشت (۳۲). بطور مشابهی، در پژوهش انجام شده توسط Kim و همکاران در سال ۲۰۱۴ در کره در مورد ارتباط *HPV* با سایر سرطان های دستگاه ادراری از جمله سرطان مثانه نیز پروتئین ویروسی بخوبی با روش ایمونوهیستوشیمی در نمونه های سرطانی تشخیص داده شد (۳۳).

بنابراین باتوجه به هزینه بالا و مهارت زیادی که برای انجام تکنیک PCR لازم است، می‌توان از روش ساده و نسبتا ارزان ایمونوهیستوشیمی جهت شناسایی پروتئین اختصاصی *HPV* در نمونه های بافتی سرطان پروستات استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این تحقیق میتوان دریافت که نه تنها روش ملکولی PCR بلکه روش ایمونوهیستوشیمی نیز با حساسیت خوبی قادر به تشخیص *HPV* در نمونه های بافتی سرطان پروستات می باشد. بنابراین از آنجا که روش ایمونوهیستوشیمی نسبتا سریع و ارزان قیمت است، میتواند جهت شناسایی عفونت *پاپیلوما ویروس انسانی* در بیماران مبتلا به سرطان پروستات جایگزین روش PCR گردد تا بتوان به موقع از انتشار این سرطان در مردان پیشگیری نمود.

قدردانی

تحقیق حاضر مستخرج از طرح پژوهشی دانشجویی مصوب در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون می باشد. بدین وسیله نویسندگان از همکاری کارکنان آزمایشگاه ها و بخش های پاتولوژی بیمارستان های اهواز تشکر و قدردانی به عمل می‌آورند.

منابع

1-Ferlay J, Soerimataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality: sources, methods and major patterns in Globocan 2012. Int J Cancer. 2015; 136(5): E359-86.
2-Hoffman RM. Screening for prostate cancer. N Engl J Med. 2011; 365(21): 2013-19.
3-Sutcliffe S, Nevin RL, Pakpahan R, Elliott DJ, Cole SR, De Marzo AM, et al. Prostate involvement during sexually transmitted infections as measured by prostate-specific antigen concentration. Br J Cancer. 2011; 105(5): 602-5.
4-Heidegger I, Borena W, Pichler R. The role of human papilloma virus in urological malignancies. Anticancer Res. 2015; 35(5): 2513-19.
5-Videla S, Darwich L, Cañadas M, Clotet B, Sirera G. Incidence and clinical management of oral human papillomavirus infection in men: A series of key short messages. Expert Rev Anti Infect Ther. 2014; 12(8): 947-57.
6-Taverna G, Pedretti E, Di Caro G, Borroni EM, Marchesi F, Grizzi F. Inflammation and prostate cancer: Friends or foe. Inflamm Res. 2015; 64(5): 275-86.
7-Mokhtari M, Taghizadeh F, Hani M. Is prostatic adenocarcinoma in a relationship with Human Papilloma Virus in Isfahan -Iran. J Res Med Sci. 2013; 18(8): 707–10.
8-Chen AC, Waterboer T, Keleher A, Morrison B, Jindal S, McMillan D, et al. Human papillomavirus in benign prostatic hyperplasia and prostatic adenocarcinoma patients. Pathol Oncol Res. 2011; 17(3): 613-17.
9-Egawa N, Egawa K, Griffin H, Doorbar J. Human papillomaviruses; epithelial tropisms, and the development of neoplasia. Viruses. 2015; 7(7): 3863-90.

10-McNicol PJ, Dodd JG. Detection of human papillomavirus DNA in prostate gland tissue by using the polymerase chain reaction amplification assay. J Clin Microbiol. 1990; 28(3): 409-12.
11-Yang L, Xie S, Feng X, Chen Y, Zheng T, Dai M, et al. Worldwide prevalence of human papillomavirus and relative risk of prostate cancer: A metaanalysis. Sci Rep. 2015; 5: 14667.
12-Ramezani A, Banifazl M, Eslamifar A, Aghakhani A. Association between human papillomavirus infection and risk of prostate cancer. Iranian J Pathol. 2011; 6(1): 3-7.
13-Al-Maghrabi JA. The role of human papillomavirus infection in prostate cancer. Saudi Med J. 2007; 28(3): 326-33.
14-Shariat A. Detection of LMP1 protein in Breast Cancer tissue samples from Fars province hospitals. Iran J Med Microbiol. 2017; 11(1): 67-74.
15-Lee HS, Lee JH, Choo JY, ByunHJ, Jun JH, Lee JY. Immunohistochemistry and Polymerase Chain Reaction for Detection Human Papilloma Virus in Warts: A Comparative Study. Ann Dermatol. 2016; 28(4): 479-85.
16-Abdolmaleki N, Khodabandehloo M, Ramezanzadeh R, Roshani D. No Association Between Human Papillomavirus and Prostate Cancer. Int J Cancer Manag. 2018; 11(4): e10049.
17-Lesnikova I, Lidang M, Hamilton-Dutoit S, Koch J. Rapid, sensitive, type specific PCR detection of the E7 region of human papillomavirus type 16 and 18 from paraffin embedded sections of cervical carcinoma. Infect Agent Cancer. 2010; 5:2.
18-Mesri EA, Feitelson MA, Munger K. Human viral oncogenesis: a cancer hallmarks analysis. Cell Host Microbe. 2014; 15(3): 266–82.
19-Guma S, Malglantay R, Lau R, Wieczorek R, Melamed J, Deng FM, et al. Papillary urothelial carcinoma with squamous differentiation in association with human papiloma virus: case report and literature review. Am J Clin Exp Urol. 2016; 4(1):12-16.
20-Tolstov Y, Hadaschik B, Pahernik S, Hohenfellner M, Duensing S. Human papillomaviruses in urological malignancies: A critical assessment. Urol Oncol. 2014; 32(1): 46.e19-27.
21-Noda T, Sasagawa T, Dong Y, Fuse H, Namiki M, Inoue M. Detection of human papillomavirus (HPV) DNA in archival specimens of benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer using a highly sensitive nested PCR method. Urol Res. 1998; 26(3): 165-9.
22-Martinez-Fierro ML, Leach RJ, Gomez-Guerra LS, Garza- Guajardo R, Johnson-Pais T, Beuten J, et al. Identification of viral infections in the prostate and evaluation of their association with cancer. BMC Cancer. 2010; 10: 326.
23-Michopoulou V, Derdas SP, Symvoulakis E, Mourmouras N, Nomikos A, Delakas D, et al. Detection of human papillomavirus (HPV) DNA prevalence and p53 codon 72 (Arg72Pro) polymorphism in prostate cancer in a Greek group of patients. Tumour Biol. 2014; 35(12): 12765-73.
24-Medel-Flores O, Valenzuela-Rodríguez VA, Ocadiz-Delgado R, Castro-Muñoz LJ, Hernández-Leyva S, Lara-Hernández G, et al. Association between HPV infection and prostate cancer in a Mexican population. Genetics and Molecular Biology. 2018; 41(4): 781-9.
25-Moghoofei M, Keshavarz M, Ghorbani S, Babaei F, Sadri Nahand J, Tavakoli A, et al. Association between human papillomavirus infection and prostate cancer: A global systematic review andmeta-analysis. Asia-Pac J Clin Oncol. 2019; 15(5): e59-e67.
26-Atashafrooz F, Rokhbakhsh-Zamin F. Frequency and Type Distribution of Human Papilloma Virus in Patients with Prostate Cancer, Kerman, Southeast of Iran. Asian Pac J Cancer Prev. 2016; 17(8): 3953-8.
27-Aydin M, Bozkurt A, Cikman A, Gulhan B, Karabakan M, Gokce A, et al. Lack of evidence of HPV etiology of prostate cancer following radical surgery and higher frequency of the Arg/Pro genotype in turkish men with prostate cancer. IBJU. 2017; 43 (1): 36-46.
28-Jafari E, Dabiri S, Mortazaeizadeh A, Sayadi AR, Amir Poor Rostami S. Non – Detection of HPV DNA in Prostatic Cancer and Benign Prostatic Hyperplasia: a case- control study in Kerman. J Kerman Univ Med Sci. 2018; 25(1): 77-83.
29-Bae J-M. Human papillomavirus 16 infection as a potential risk factor for prostate cancer: an adaptive meta-analysis. Epidemiol Health. 2015; 37: e2015005.
30-Naryshkin S, Austin RM. Limitations of widely used high-risk human papillomavirus laboratory developed testing in cervical cancer screening. Drug Health Patient Saf. 2012; 4: 167–72.
31-Mokhtari M, Taghizadeh F, Rouzbahani E, Narimani T. Comparison of Relative Frequency of Human Papillomatous Virus by Using of Immiunohistochemistry Method between Patients with Prostatic Adenocarcinoma or Benign Prostatic Hyperplasia. J Isfahan Med Sch. 2011; 29(127): 80-5.
32-Pascale M, Pracella D, Barbazza R, Marongiu B, Roggero E, Bonin S, et al. Is Human Papillomavirus Associated with Prostate Cancer Survival. Disease markers. 2013; 35(6): 607-13.
33-Kim SH, Joung JY, Chung J, Park WS, Lee KH, Seo HK. Detection of Human Papillomavirus Infection and p16 Immunohistochemistry Expression in Bladder Cancer with Squamous Differentiation. PLoS ONE. 2014; 9(3): e93525.

Studying the Association between *Human Papillomavirus* and Prostate Cancer by Immunohistochemistry and PCR Techniques among Patients in Ahvaz Hospitals

Afsoon Shariat[1*], Parastoo Arzani[2], Masoumeh Shirali[2]

1-Assistant Professor of Microbiology.
2-Ph.D Student of Microbiology.

1,2-Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.
.

**Corresponding author:*
Afsoon Shariat; Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.
Tel: +989173308402
Email: afsoonsh1980@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: High risk genotypes of *Human Papillomavirus* (*HPV*) induce proliferative changes in prostate epithelium that result prostate cancer. The aim of this study was to assess the association of *HPV* infection with prostate cancer using immunohistochemistry (IHC) and polymerase chain reaction (PCR) techniques among patients in Ahvaz hospitals.

Subjects and Methods: In this cross-sectional study, 50 paraffin embedded and formalin fixed prostate tissues were collected from the archive of pathology laboratories, Ahvaz Hospitals in 2019. A total of 25 tissues with diagnosis of prostate cancer and 25 tissues with benign prostatic hyperplasia (controls) were selected. *HPV* detection was performed by Immunohistochemistry (IHC) and PCR methods.

Results: *HPV* E7 oncoprotein was positively expressed in 4/25 (16%) prostate cancer specimens by IHC. *HPV L1* gene was identified in 4/25 (16%) prostate cancer samples by PCR. Also, *HPV16 E7* gene was detected in the same cancer specimens. Correlation between *HPV* infection and prostate cancer was significant (P = 0.03).

Conclusions: According to these results, *HPV16* infection plays an important role in prostate cancer development among prostate cancer patients in Ahvaz hospitals. Furthermore, IHC method can be used for the detection of *HPV* oncoproteins in prostate cancer patients and this technique is as an alternative method for PCR.

Keywords: *Human Papillomavirus*, Prostate cancer, Immunohistochemistry, PCR, Ahvaz hospitals.

►*Please cite this paper as:*
Shariat A, Arzani P, Shirali M. Studying the Association between Human Papillomavirus and Prostate Cancer by Immunohistochemistry and PCR Techniques among Patients in Ahvaz Hospitals. Jundishapur Sci Med J 2020; 19(4):425-434

Received: May 2, 2020 **Revised: Aug 26, 2020** **Accepted: Sep 7, 2020**