

چاپ چهارم

بولتن داخلی

(نیوفرف سباق)



آزمایشگاه

دنا

DeNA Laboratory

سری ششم • شماره سیزده (بازنگری دوم) • پائیز ۱۳۹۴

HPV و ارتباط آن با سرطان سرویکس



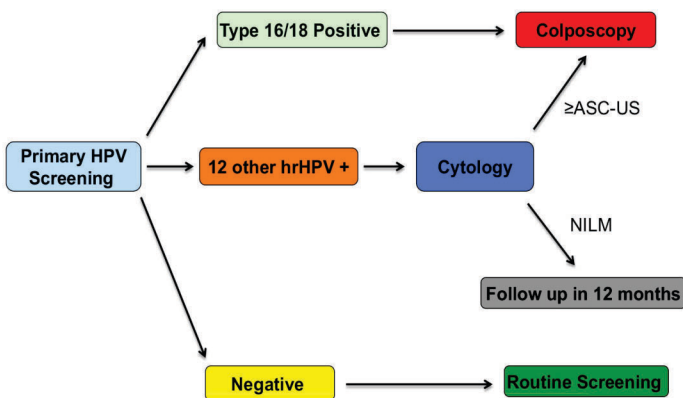
نمای میکروسکوپ الکترونی ویروس HPV



ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) و ارتباط آن با سرطان دهانه رحم

این دستورالعمل پیشنهاد می‌کند:

- آزمایش HPV به عنوان غربالگری اولیه می‌تواند برای زنان از سن ۲۵ سالگی مورد توجه قرار گیرد.
- زنان با نتایج منفی آزمایش HPV نیازی نیست که دوباره برای حداقل سه سال آزمایش شوند. این فاصله‌ی زمانی غربالگری در دستورالعمل‌های جدید برای یک نتیجه نرمال سیتولوژی نیز پیشنهاد می‌گردد.
- یک تست مثبت HPV برای ژنوتایپ ۱۶ یا ۱۸ به همراه وجود واکنش سیتولوژیک باید با کولپوسکوپی پیگیری شود.
- نتیجه مثبت تست برای ۱۲ ژنوتایپ دیگر HPV بجز ۱۶ یا ۱۸ باید با آزمایش سیتولوژی پیگیری گردد. به نظر می‌رسد استفاده از ترکیب تعیین ژنوتایپ و واکنش سیتولوژی برای زنان مثبت از نظر ۱۲ ژنوتایپ دیگر hrHPV یک روش قابل قبول برای مدیریت زنان hrHPV مثبت است.



۱- سیتولوژی آلودگی به HPV:

بر طبق سیستم بتسدا موارد غیر طبیعی سلول‌ها سنگفرشی به ۴ دسته تقسیم می‌شوند:

- ❖ ASC, Atypical Squamous Cells (ASC-US, ASC-H)
- ❖ LSIL, Low grade Squamous Intraepithelial Lesion
- ❖ HSIL, High Grade Squamous Intraepithelial Lesion
- ❖ Squamous Cell Carcinoma

نقش سیتولوژی سرویکس:

از نتایج سیتولوژی به عنوان تشخیص قطعی و یا شروع درمان نمی‌توان استفاده نمود، زیرا سیتولوژی سرویکس به عنوان یک تست غربالگر برای یافتن سلول‌های غیر طبیعی سرویکس می‌باشد که ریسک تبدیل شدن به کانسسر را دارا می‌باشند. پس با توجه به نتیجه سیتولوژی بیمارانی که نیاز به پیگیری بعدی مانند کولپوسکوپی و یا بیوپسی دارند انتخاب می‌شوند.

البته سیتولوژی، بخصوص پاپ اسمیر معمولی محدودیت‌هایی را دارا می‌باشد:

- ❖ موارد unsatisfactory در ۸٪ موارد دیده می‌شود.
- ❖ موارد مثبت کاذب در ۲۰-۳۰٪ موارد گزارش شده است. گاهی وجود سلول التهابی، باکتری، گلبول قرمز و قارچ به میزان زیاد مانع تشخیص سلول غیر طبیعی می‌شوند.
- ❖ تاخیر در فیکس نمودن اسلاید و تماس آن با هوا نیز باعث تخریب سلول‌ها می‌گردد.

❖ در نمونه‌هایی که اسلاید از لایه سلولی نازک تهیه شده است (Monolayer Cytology) مانند ThinPrep cytology در صد موارد منفی کاذب کمتر می‌گردد و چون سلول‌ها سریعاً در محلول فیکساتیو قرار می‌گیرند ساختار سلولی بهتر حفظ می‌گردد. همچنین گلبول‌های قرمز، سلول‌های التهابی و موکوس از زمینه حذف می‌گردند.

بیش از ۱۲۰ نوع ویروس HPV شناخته شده است که بیش از ۴۰ نوع آن می‌تواند منجر به ایجاد عفونت‌های تناسلی در مردان و زنان شود. از اواسط سال ۱۹۷۰ بود که ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) به عنوان اتیولوژی اصلی سرطان دهانه رحم پیشنهاد گردید.

ویروس پاپیلومای انسانی که به آن HPV گفته می‌شود، شایع‌ترین عفونت مقاربتی (STI) است. متأسفانه اکثر بیماران آلوده به عفونت HPV، اطلاعی از بیماری خود ندارند.

اگرچه مکانیسم‌های دقیق انتقال ویروس از فردی به فرد دیگر هنوز شناخته نشده است اما معمولاً از راه تماس جنسی به خصوص تماس تناسلی یا مقعدی منتقل می‌گردد. البته احتمال انتقال ویروس از راه ارتباط دهانی تناسلی نیز امکان پذیر است. در افراد هموسکسوال نیز امکان انتقال وجود دارد. افراد مبتلا می‌توانند سال‌ها بدون علامت باشند و در این مدت، ویروس را به شریک جنسی خود منتقل کنند. امکان دارد یک فرد بیش از یک نوع ویروس HPV مبتلا شود. به صورت خیلی نادر امکان انتقال ویروس از مادر باردار مبتلا به نوزاد خود حین زایمان و ژینال وجود دارد. در این موارد کودک می‌تواند مبتلا به پاپیلوس تنفسی (RRP) گردد که در واقع زگیل داخل گلو رشد می‌کند.

علائم بالینی ابتلا به HPV: اکثریت مبتلایان بی علامت هستند و در صورت سالم بودن سیستم ایمنی، ۹۰٪ موارد HPV از بدن مبتلایان پاک خواهد شد.

تعدادی از انواع HPV تناسلی عامل ایجاد زگیل تناسلی می‌شوند و تعدادی دیگر می‌توانند سلول‌های طبیعی را غیر طبیعی نموده و سبب سرطان شوند. انواع HPV که باعث زگیل تناسلی می‌شود با انواعی که سبب سرطان می‌شود متفاوت است.

الف. زگیل تناسلی به صورت توده‌های کوچک مجزا یا به هم متصل در نواحی تناسلی ایجاد می‌شود. زگیل می‌تواند کوچک و بزرگ، برجسته، مسطح یا شبیه گل کلم باشد. تشخیص زگیل بالینی بوده و با مشاهده می‌توان آن را تشخیص داد. معمولاً طی چند هفته تا چند ماه پس از تماس جنسی فرد با فرد مبتلا در بدن فرد رشد می‌کند. در صورت عدم درمان زگیل سه حالت رخ می‌دهد، یا خود به خود حذف می‌شود یا بدون تغییر می‌ماند و یا در اندازه یا تعداد افزایش می‌یابد. ولی باید توجه کرد، زگیل تبدیل به سرطان نمی‌شود.

ب. سرطان سرویکس ۹۹٪ با HPV همراهی دارد و معمولاً تا مراحل پیشرفته بدون علامت است و همچنین متأسفانه در مراحل پیشرفته بسیار سخت درمان می‌شود. لذا مهمترین مسئله در کنترل سرطان سرویکس، غربالگری منظم کلیه خانم‌های واجد شرایط می‌باشد. سرطان سرویکس دومین سرطان شایع در میان زنان جهان است. سایر سرطان‌ها که با درصد کمتری با ویروس HPV در ارتباط هستند عبارتند از سرطان مقعد، سرطان واژن و سرطان اوروفارنکس.

*** درمان:** اگر زگیل در ناحیه تناسلی پیدا شود، می‌توان اصلاً درمان نکرد ولی روش‌های درمانی متعددی دارویی و جراحی وجود دارد که در حال حاضر هیچکدام به دیگری ارجحیت ندارد. در رابطه با سرطان دهانه رحم، اگر در غربالگری روتین، پاپ اسمیر غیر طبیعی وجود داشته باشد معمولاً در طول زمان خود به خود برطرف می‌شود. لذا بر اساس راهنمایی بالینی موجود با پاپ اسمیر غیر طبیعی برخورد می‌شود.

پروتنکل انجام HPV به عنوان تست غربالگری سرطان سرویکس

انجمن سرطان زنان (The Society of Gynecologic Oncology (SGO) انجمن آمریکایی برای کولپوسکوپی پاتولوژی دهانه‌ی رحم (ASCCP) American Society for Colposcopy and Cervical Pathology با همکاری پنج سازمان پزشکی ملی آمریکا (ASCP, ACS, ACOG, CAP, ASC)، یک دستورالعمل موقت را برای تست HPV به عنوان آزمایش اولیه برای غربالگری سرطان دهانه رحم، منتشر کردند.

Atypical squamous cell (ASC) :

در مواردی که تغییرات سیتولوژیکی غیر طبیعی بوده ولی برای تشخیص squamous intraepithelial lesion کافی نیست از واژه atypical squamous cell استفاده می‌کنیم. در سیستم جدید بتسدا با توجه به تغییرات مورفولوژیکی به دو دسته ASC-US و ASC-H تقسیم می‌شوند. باید در زمان وجود التهاب شدید در سیتولوژی از تشخیص ASC اجتناب کرد. میزان در صد گزارش ASC-US حدود در نهایت باید در نظر داشت که تشخیص نهایی بر اساس کولپوسکوپی و بیوپسی و مشاهده تغییرات ناشی از ویروس است.

۲- اپیدمیولوژی

بررسی‌های اپیدمیولوژیکی توزیع HPV در جوامع مختلف بسیار مهم است. ۵۰٪ افرادی که رابطه جنسی دارند مستعد ابتلا به HPV می‌باشند و همچنین ۱۶٪ زنان آلوده به ژنوتایپ‌های High risk در معرض ابتلا به سرطان دهانه رحم می‌باشند، به همین دلیل تحقیقات بسیار گسترده‌ای در سراسر جهان انجام شده است. یکی از این تحقیقات که بین سال‌های ۱۹۹۵ تا ۲۰۰۹ انجام شد و خود شامل ۱۹۴ مطالعه گوناگون بود، یک میلیون خانم بدون هیچ مشکلی سیتولوژیکی، در نقاط مختلف دنیا مورد بررسی قرار گرفتند، نشان داد که به طور میانگین میزان آلودگی به HPV، ۱۱/۷٪ می‌باشد که میزان شیوع آن در نقاط مختلف دنیا متفاوت است. بیشترین شیوع در کشورهای جنوب صحرا آفریقا ۲۴٪، اروپای شرقی ۲۱/۴٪ و آمریکای لاتین ۱۶/۱٪ درصد دیده شد. میزان شیوع در مناطق مختلف به شرح کشورهای توسعه یافته: ۱۱/۳٪

کشورهای کمتر توسعه یافته: ۱۱/۸٪

آفریقا: ۲۱٪

آمریکا: ۱۱٪

آسیا: ۹٪

اروپا: ۱۴٪

میانگین کلی: ۱۱/۷٪

افرادی که مثبت بودند وقتی از نظر ژنوتایپ بررسی شدند، ۵ ژنوتایپ که فراوانی بیشتری داشتند به شرح زیر بودند:

نوع ژنوتایپ	درصد فراوانی
۱۶	۲/۳
۱۸	۴/۱
۵۲	۰/۹
۳۱	۰/۸
۵۸	۰/۷

شیوع کلی ژنوتایپ‌ها در مناطق مختلف به شرح زیر می‌باشد:

قاره اروپا: ۱۶ < ۳۱ < ۱۸

قاره آفریقا: ۱۶ < ۵۲ < ۱۸

آمریکای شمالی: ۱۶ < ۱۸ < ۵۲

آمریکای لاتین و کارائیب: ۱۶ < ۱۸ < ۳۱

آسیا: ۱۶ < ۱۸ < ۵۲

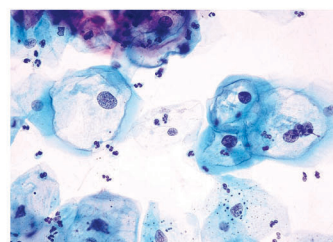
شیوع در مجموع: ۱۶ < ۵۲ < ۳۱

تا به امروز آماری در ایران به صورت رسمی گزارش نشده که بتوان به صورت قطعی به آن استناد کرد و از طرفی نتیجه برخی مطالعات تفاوت بسیار زیادی با یکدیگر داشته‌اند. در بررسی‌هایی که در سال‌های ۹۳ تا ۹۴ در آزمایشگاه دنا (نیلوفر سابق) انجام شد ۲۹۰۳ نمونه مورد بررسی قرار گرفته و تعیین ژنوتایپ شدند، ۴۵ درصد موارد مثبت بودند البته

مراجعه کننده مشکوک به ابتلا بودند در صورتی که در کشورهای دیگر بررسی‌های انجام شده به صورت غربالگری است.

سیتومورفولوژی : تشخیص مورفولوژیکی تغییرات سلولی این ویروس یکی از بهترین روش‌های تشخیصی در سیستم ژنیاتال است. البته باید در نظر داشت که حدود یک سوم بیماران HPV DNA positive سیتولوژی غیر طبیعی دارند. در بیش از ۸۰٪ موارد squamous intraepithelial lesions با استفاده از تکنیک‌های تظاهر بالینی معمولاً به صورت ضایعات اپیتلیالی وروکوز flatly بوده و خصوصیات سیتوپاتیک در تمامی این‌ها یکسان است.

ویروس پاپیلوما یک نوع ویروس Double stranded DNA می‌باشد که هم هسته و هم سیتوپلاسم سلول را درگیر می‌سازد و در سلول‌های سنگفرشی سطحی تکامل یافته و باعث ایجاد سلول koilocyte می‌گردد. تغییرات سیتوپلاسمیک آن شامل Dyskeratosis است که خصوصیت مهم عفونت این ویروس می‌باشد خصوصیت کلاسیک ویروس وجود Koilocyte بوده که در سلول‌های سنگفرشی مشاهده می‌گردد. در نمونه‌های سیتولوژی سرویکس مشاهده سلول‌های Koilocytic تیبیک به نفع این عفونت ویروسی است که در اسمیر قادر به Subtype نیستیم.



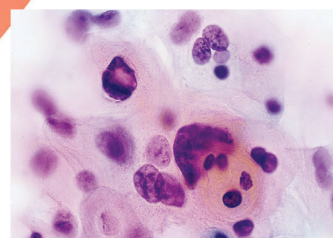
باید در نظر داشت که گاهی علی‌رغم وجود عفونت با این ویروس، تغییرات مورفولوژیکی در اسمیر و بافت با میکروسکوپ نوری دیده نمی‌شود.

Grading Squamous Intraepithelial Lesions:

بر طبق سیستم بتسدا از دو گروه low grade و high grade استفاده می‌شود. اکثریت موارد LSIL گذرا بوده و ریسک سرطان‌زایی آنها کم است. در حالیکه پتانسیل پیشرفت به کانسر در HSIL بالا می‌باشد. Koilocytosis و دیسپلازی خفیف (CIN1) در گروه LSIL قرار دارند. دیسپلازی متوسط و شدید (CIN2,3) و کارسینوم in situ در گروه HSIL قرار دارند. استاندارد طلایی تعیین HSIL و LSIL بررسی مورفولوژیکی با میکروسکوپ است.

Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion:

در ۲ درصد کل نمونه‌های سیتولوژی دیده می‌شود. در ۱۸٪ مواردی که در سیتولوژی LSIL گزارش می‌شوند در بیوپسی امکان دارد که CIN2,3 تشخیص داده شود.



(LSIL) keratinizing type.

High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion:

در ۰/۵ درصد کل نمونه‌های سیتولوژی دیده می‌شود. تشخیص افتراقی آن متاپلازی سنگفرشی و آتروفی، هیستئوسیتی‌ها، سلول‌های پولیپ‌آتیپیک، تغییرات سلولی ناشی از IUD و بخصوص همراهی ASC-US با آتروفی است.

برنامه ی واکسیناسیون به خوبی اجرا گردد.
چند نوع واکسن موجود است؟

الف- گارداسیل

ب- سرواریکس

هر دو واکسن بر روی HPV نوع ۱۸ و ۱۶ موثر هستند.

ولی گارداسیل در جلوگیری از ابتلا به ژنوتایپ های ۱۱ و ۶ یعنی عامل زگیل دستگاه تناسلی نیز موثر است. واکسن گارداسیل دارای سه مرحله تزریق می باشد به این صورت که دومین تزریق دو ماه بعد از اولین تزریق و سومین تزریق چهار ماه بعد از دومین تزریق صورت می گیرد.

در سرطان سرویکس بیش از هر نوع بدخیمی دیگری، اثرات پیشگیری، تشخیص زودرس و درمان به موقع بر کاهش میزان مرگ و میر مشهود است.

در بررسی انجام شده شیوع ژنوتایپ ۱۶ < ۱۸ < ۳۱ در موارد High risk و در کل به ترتیب ۶ < ۱۶ < ۱۱ < ۴۲ < ۴۳ بود.

Multiple infection: یکی از مواردی که در جوامع مختلف مورد بررسی قرار گرفته ابتلا به ژنوتایپ های متعدد HPV به طور همزمان در یک فرد (Multiple infection) می باشد. در بررسی های که در آزمایشگاه دنا انجام شده موارد متعددی از عفونت های هم زمان مشاهده شد که از نظر تعداد به صورت زیر می باشد:

عفونت با بیشتر از ۳ ژنوتایپ	عفونت با ۳ ژنوتایپ	عفونت با ۲ ژنوتایپ	عفونت با ۱ ژنوتایپ	تعداد موارد مثبت
۸۶ (%.۶)	۱۸۸ (%.۱۴)	۳۸۲ (%.۲۹)	۶۶۵ (%.۵۱)	۱۳۱۱

۳ - تشخیص آزمایشگاهی

از آنجا که کشت سلولی و روش های سرولوژیک در شناسایی این ویروس و انواع آن فاقد ارزش هستند، اهمیت روش های مولکولی از جمله واکنش زنجیرهای پلیمرز (PCR) در تشخیص قطعی و زودرس این ویروس آشکار می گردد.

آزمایشات مولکولی در حال حاضر پیشرفته ترین و دقیق ترین راه تشخیص ابتلا به HPV است که با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای تشخیص انواع ژنوم HPV به کار می رود. نتیجه کلی استفاده از روش های حساس مولکولی در تشخیص ابتلا به پاپیلومای انسانی بسیار مفید بوده و علاوه بر این روش می توان انواع گونه های مختلف HPV در افراد بیمار و حتی در افراد به ظاهر سالم نیز شناسایی نمود.

تا به امروز روش های مختلفی از PCR مانند Nested-PCR و RFLP-PCR به صورت کیت های تجاری برای شناسایی انواع تایپ های ویروس به بازار آمده که دچار کاستی هایی مانند حساسیت پایین و نتایج مثبت و منفی کاذب می باشند. با ظهور Real-Time PCR و روش های هیبریداسیون می توان با حساسیت و دقت بسیار بالاتر به شناسایی انواع پرخطر و کم خطر ویروس در انواع نمونه های بیماران پرداخت. یکی از بهترین روش ها برای تشخیص و ژنوتایپینگ HPV استفاده از Direct FlowChip است که بر اساس تکنولوژی DNA-Flow است. در این روش که دارای حساسیت و ویژگی بالایی است نیازی به استخراج DNA نبوده و هر دو مرحله فرابالگری و ژنوتایپینگ همزمان انجام می گیرد. از مزایای دیگر آن می توان به توانایی آن در بررسی نمونه های تازه و پارافینه اشاره کرد. علاوه بر این از آنجا که یک روش تمام اتوماتیک است، در کمتر از ۲ ساعت می توان جواب آزمایش را به دست آورد.

این تکنیک توانایی آن را دارد که ۱۸ ژنوتایپ High risk و ۱۸ ژنوتایپ Low risk را تشخیص دهد.

۴ - واکسیناسیون

در سرطان سرویکس بیش از هر نوع بدخیمی دیگری، اثرات پیشگیری، تشخیص زودرس و درمان به موقع بر کاهش میزان مرگ و میر مشهود است. آخرین آمار CDC محل کنترل بیماری های عفونی در آمریکا نشان می دهد که مقایسه ی ۳ سال قبل از واکسینه شدن با ۳ سال بعد از واکسینه شدن نتایجی معادل ۵۰٪ کاهش در ابتلا داشته است. این آمار در دختران سنین ۱۳-۱۷ سال می باشد و تنها از هر ۳ دختر آمریکایی در این سنین فقط ۱ نفر واکسینه شده است.

استرالیا اولین کشوری در دنیا است که از سال ۲۰۰۷ به طور روتین همه دختران و از سال ۲۰۱۳ همه پسران سنین ۱۱-۱۲ را واکسینه نموده است و نتایجی معادل ۵۹٪ کاهش به دست آورده است. این آمار در آقایان معادل ۲۸٪ بوده است.

به هر حال هر واکسیناسیونی همراه با اختلالاتی نیز هست. باید همیشه در نظر داشته باشند که اول باید والدین جوانان توجیه شوند تا

References:

1. Who/Ico Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Cancers in Iran. Summary Report 2010.
2. <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/vis/default.htm#hpv>
3. Comprehensive Cytopathology Marluce Bibbo MD ScD FIAC FASCP, Third Edition, 2008
4. Diagnostic Cytopathology, Winfred Grey, Third Edition, 2010
- 5- Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: Interim clinical guidance Warner K. Huh a, Kevin A. Ault b, David Chelmow c, Diane D. Davey , Gynecologic Oncology, Feb. 2015



بولتن داخلی

مدیر مسئول: دکتر محمد رضا حکمت

به کوشش گروه علمی آزمایشگاه دنا (نیلوفر سابق)

دکتر مسعود گرشاسبی، دکتر میترا رفیع زاده، دکتر نوشین ندایی

آرمان شهیدی، دکتر محمد رضا حکمت

گروه آزمایشگاه های دنا

۱- تهران، آزمایشگاه دنا (نیلوفر سابق)، خیابان ولیعصر، بین بیمارستان دی و پل همت، خیابان نیلو، نبش بن بست دوم
تلفن: ۴۳۹۳۶

۲- اسلامشهر، آزمایشگاه گامت، خیابان امام سجاد (زر افشان)، نبش کوچه ۲۱ (شهید موسوی)، پلاک ۳
تلفن: ۵۳۳۴۰۲۴۳

۳- کرج، آزمایشگاه دنا، خیابان طالقانی شمالی، بالاتر از خیابان بهار، نبش خیابان کاج، پلاک ۱۵۱
تلفن: ۲۶-۳۲۲۱۳۵۹۵

www.DNA-Lab.ir