ردیابی ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) در آملوبلاستوما به روش مولکولی واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR)

رضا زارع محمودآبادی[۱]، شادی ثقفی[۱]، فرناز مهاجرتهران[۲]*، فرهاد جعفری[۳]، شقایق رفیعی[۳]، مائده شکری[۳]

[۱] دانشیار گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

[۲] PhD ژنتیک، گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

[۳] دانشجوی دندانپزشکی دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ ارائه مقاله : ۹۷/۱/۲۰ – تاریخ پذیرش : ۹۷/۸/۳

Detection of Human Papillomavirus (HPV) in Ameloblastoma Using the Polymerase Chain Reaction (PCR)

Reza Zare Mahmoud Abadi[1], Shadi Saghafi[1], Farnaz Mohajertehran[2]*, Farhad Jafari[3], Shaghayegh Rafiee[3], Maede Shokri[3]

[1] Associate Professor, Department of Oral & Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

[2] PhD Genetics, Department of Oral & Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Mashhad, Iran

[3] Dental student, Faculty of Dentistry, Mashhad, Iran

Received: 9 April 2018; Accepted: 25 October 2018

Introduction: Ameloblastoma is a prevalent odontogenic maxillofacial tumor. Human papillomavirus (HPV) is considered to be one of the main risk factors for ameloblastoma. The current research aimed to investigate the presence of HPV in the ameloblastoma of jaw samples using the polymerase chain reaction (PCR).

Materials and Methods: This study was conducted on 77 formalin-fixed and paraffin-embedded tissue blocks, which were obtained from the archives of the Department of Pathology at Mashhad Dentistry School and Ghaem Hospital in Mashhad, Iran. Deparaffinization and DNA extraction in the samples were performed in accordance with the instructions of the YTA genomic DNA extraction mini kit. After PCR, the presence of HPV was evaluated in the samples. Data analysis was performed in SPSS version 16 using descriptive statistic (frequency distribution tables and charts), Chi-square, and logistic regression.

Results: Among 77 lesions, 20 cases were follicular, four cases were acanthomatous, three cases were basal cells, eight cases were desmoblastic, 17 cases were unicystic, and 25 cases were plexiform. Moreover, five samples (6.5%) were positive for HPV. HPV was detected in one follicular case, two unicystic cases, and two plexiform cases.

Conclusion: Considering the low prevalence of HPV in the examined lesions, it could not be concluded that the virus was involved in the etiology and pathogenesis of the lesions. Therefore, further investigations must be conducted on larger sample sizes for more accurate results.

Key words: Human Papillomavirus (HPV), Ameloblastoma, Polymerase Chain Reaction (PCR).

 # Corresponding Author: mohajertf1@mums.ac.ir

J Mash Dent Sch 2019; 42(4): 298-306 .

چکیده

مقدمه: آملوبلاستوما از شایع ترین تومورهای ادونتوژنیک می‌باشد. از فاکتورهای موثر در بروز این بیماری، ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) است. مطالعه حاضر، با هدف بررسی حضور HPV در نمونه‌های تومور آملوبلاستومای فکین با استفاده از روش PCR انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه، ۷۷ بلوک پارافینی مربوط به آملوبلاستوما از آرشیو بخش پاتولوژی دانشکده دندانپزشکی مشهد و بیمارستان قائم مشهد جمع آوری و پس از دپارافینیزه کردن نمونه‌ها، DNA آنها با استفاده از Genomic DNA extraction mini YTA kit براساس دستور کارخانه سازنده استخراج گردید. پس از انجام فرآیند PCR، حضور HPV در آنها مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶، آزمون کای دو و رگرسیون لوجستیک مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

* مولف مسؤول، نشانی: مشهد، میدان آزادی، دانشکده دندانپزشکی، گروه آسیب شناسی دهان، تلفن: ۱۷-۳۸۸۲۹۵۰۲-۰۵۱ ، ۰۹۱۵۱۲۵۲۲۶۴

E-mail: mohajertf1@mums.ac.ir

یافته‌ها: از مجموع ۷۷ ضایعه مورد بررسی، ۲۰ مورد فولیکولار، ۴ مورد اکانتوماتوز، ۳ مورد بازال سل، ۸ مورد دسموبلاستیک، ۱۷ مورد یونی سیستیک و ۲۵ مورد پلکسی فرم بود. در مجموع ۵ مورد (۶/۵ درصد) از آنها از نظر HPV مثبت بود. بدین صورت که در نوع فولیکولار یک مورد، در نوع یونی سیستیک دو مورد و در نوع پلکسی فرم نیز دو مورد از نظر HPV مثبت شده بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به فراوانی کم ویروس پاپیلومای انسانی در ضایعات مورد بررسی، نمی‌توان این گونه نتیجه گرفت که این ویروس در اتیولوژی و پاتوژنز این دسته از ضایعات نقش داشته باشد و جهت اظهار نظر دقیق تر به مطالعات با حجم نمونه بزرگ تر نیاز است.

کلمات کلیدی: ویروس پاپیلومای انسانی، آملوبلاستوما، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR).
مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۷ دوره ۴۲ / شماره ۴ : ۳۰۶-۲۹۸ .

مقدمه

آملوبلاستوما یک تومور اپی تلیالی ادنتوژنیک فک است که از بقایای اپی‌تلیال مالاسز یا سایر عناصر اپی‌تلیالی مینایی در حال تشکیل به وجود می‌آید. معمولاً خوش خیم می‌باشد. دارای رشد مهاجم است و یکی از شایع ترین تومورهای ادونتوژنیک ناحیه فک و صورت می‌باشد که به آهستگی رشد می‌کند. به صورت لوکالیزه یک نئوپلاسم مهاجم بوده و در دهه‌های سوم تا چهارم زندگی و در مردان شایعتر می‌باشد. این تومور تمایل زیادی به عود دارد. یکی از علائم اصلی این بیماری، تورم (Swelling) و درد ناحیه فک می‌باشد که به تدریج بر شدت آن افزوده می‌شود ولی بطور کلی بدون علائم می‌باشد.[۱]

بر اساس اطلاعات موجود علت بروز این نئوپلاسم می‌تواند ضربه به فک، راشیتیسم، کشیدن دندان، استعمال مواد مخدر و اعتیاد به سیگار باشد. در مقالات جدید HPV نیز به عنوان یک فاکتور اتیولوژیک مورد توجه قرار گرفته است.[۲]

ویروس پاپیلومای انسانی (Human Papilloma Virus)، ویروسی کوچک با DNA دو رشته‌ای می‌باشد و بطور معمول در بافت های اپیتلیوم زندگی کرده و سبب افزایش تکثیر این دسته از سلول ها می‌شود. این عقیده وجود دارد که ویروس HPV در هنگام تروما و ضربه‌های خفیف وارد بافت اپیتلیوم شده و برای تکثیر در این ناحیه باقی می‌ماند.[۳]

تاکنون بیش از ۱۰۰ نوع ژنوتایپ از ویروس HPV شناخته شده است که تنها گروه کوچکی از آنها باعث ایجاد تومور در بافت های اپیتلیوم نقاط مختلف بدن می‌شوند.

HPV نوع ۱۶ و ۱۸ ریسک بالای ابتلا به سرطان دارند. این ویروس مسئول ضایعات صورتی و دهانی متعدد در بیماران دارای سیستم ایمنی سالم می‌باشد. شایع ترین شکل آن Oral Squamous Papilloma و Verruca Vulgaris (common wart) می‌باشد. افزایش شیوع ضایعات مربوط به HPV در بیماران مبتلا به HIV دیده شده است. شایعترین محل درگیری آن، نواحی دهانی تناسلی (Orogenital) می‌باشد و ممکن است درگیری دهان نیز دیده شود. در ضایعات داخل دهانی ممکن است انواع HPV دیده شود اما در افراد مبتلا به HIV اغلب انواع غیرمعمول تر آن نظیر HPV-7 (در رابطه با Butcher warts) یا HPV-32 (اغلب در Hecks Disease) دیده می‌شود.[۴و۵]

معمولا ضایعات دهانی HPV متعدد هستند و ممکن است روی هر سطح مخاطی ایجاد شود. شایع ترین محل های درگیر، مخاط لبیال، مخاط باکال و لثه‌ها هستند. دیسپلازی در ضایعات وابسته به HPV در بیماران مبتلا به ایدز دیده می‌شود. بنابراین بررسی دقیق بیماران از نظر ایجاد کارسینوم سلول سنگفرشی (SCC) ضروری می‌باشد. درمان انتخابی این اختلال، جراحی و خارج کردن ضایعه است اما عود آن به خصوص در بیمارانی که نقص شدید سیستم ایمنی دارند، شایع است.[۶] با اینکه اطلاعات قابل

توجهی در رابطه با نقش اتیولوژیک HPV در طیف گسترده‌ای از تومورهای خوش خیم و بدخیم به دست آمده است، اما دانسته‌های ما درباره‌ی رابطه‌ی HPV و تومورهای دهانی و آملوبلاستوما اندک می‌باشد.[۷] همچنین مطالعات اندکی در رابطه با اتیولوژی ژن‌های HPV در تومور دهانی به خصوص در نژاد ایرانی انجام شده است. هدف ما در این مطالعه، بررسی HPV در نمونه‌های تومور آملوبلاستومای فکین با استفاده از روش PCR بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بر روی بلوک های پارافینه افراد مبتلا به آملوبلاستوما در آرشیو بخش پاتولوژی دهان، فک و صورت دانشکده دندانپزشکی مشهد و بیمارستان قائم (عج) دانشگاه علوم پزشکی مشهد، انجام شد. روش نمونه گیری به صورت غیر احتمالی و مبتنی بر هدف بود.

معیارهای ورود به این مطالعه شامل تأیید تشخیص پاتولوژی توسط دو پاتولوژیست و کافی بودن میزان ضایعه در بلوک‌های پارافینی جهت استخراج DNA بود. معیارهای خروج ازاین مطالعه شامل عدم تایید کیفیت بلوک پارافینه، کیفیت پایین DNA استخراج شده از بافت و نداشتن پرونده پیگیری کامل بود.

با توجه به این که بررسی افراد با این بیماری‌ها نیازمند زمان طولانی می باشد، لذا در این مطالعه از بلوک‌های پارافینی مربوط به ضایعاتی که در سایر مطالعات مورد بررسی قرار داده شده و نتایج آن بر اساس یافته‌های بالینی هیستولوژیک کاملاً تایید شد، استفاده گردید. به این ترتیب ۷۷ نمونه مبتلا به آملوبلاستوما که در فرمالین فیکس شده و پارافینیزه بودند و در بخش پاتولوژی دهان، فک و صورت دانشکده دندانپزشکی مشهد و بیمارستان قائم (عج) دانشگاه علوم پزشکی مشهد، نگهداری می‌شدند، انتخاب شدند. به هر بلوک پارافینی بدون ذکر نام و مشخصات بیماران، یک شماره داده شد و فرد عمل کننده نیز از نوع ضایعه هر بلوک بی اطلاع بود.

از هر بلوک پارافینی تحت شرایط کاملا استریل و توسط وسایلی که از قبل اتوکلاو شده بودند، مقاطع مورد نظر توسط میکروتوم (Leitz 1512 ,Germany) زیر هود بیولوژیک، تهیه گردید. از مقطع اول با ضخامت ٤ میکرون برای رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین و از مقاطع دیگر با ضخامت ۵ میکرون، جهت استخراج DNA استفاده گردید.

ابتدا مقاطع پارافینه‌ای که در میکروتیوب استریل قرار گرفته بود توسط روش گزیلول/ اتانول پارافین زدایی گردید. سپس با سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه، بافت خالص رسوب کرده و بقیه مراحل استخراج DNA بر روی رسوب حاصل انجام شد. سپس لیز سلولی، حذف پروتئین و آزاد شدن DNA از این نمونه با استفاده از کیت Genomic DNA extraction mini kit (YTA, Iran) براساس دستور کارخانه سازنده استخراج گردید. توسط دستگاه نانودراپ DNA حاصل از استخراج، برای تشخیص کیفیت و میزان خلوص و غلظت DNA تخلیص شده استفاده گردید.

جهت تشخیص ویروس HPV توسط پرایمرهای MY09 و MY11، واکنش PCR انجام شد که ژن β گلوبین (PCO3/PCO4) به عنوان ژن Housekeeping و کنترل داخلی برای ارزیابی صحت انجام واکنش PCR، مورد استفاده قرار گرفت. پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه جهت تشخیص ۲۰ ژنوتیپ HPV شامل انواع ٦، ۱۱، ۱۳، ١٦، ۱۸، ۳۰، ۳۱، ۳۲، ۳۳، ۳۵، ۳۹، ٤٠، ٤٣، ٤٥، ٥١، ٥٤، ٥٥، ٥٦، ٥٩ و ٦٦ ویروس مورد استفاده قرار گرفت. سکانس پرایمرها در جدول ۱ موجود می‌باشد.

با کمک پرایمرهای اختصاصی که در جدول ۱ نشان داده شده است در دستگاه ترموسایکلر PCR (ABI, USA)

طی ۳۵ سیکل و تحت شرایط دمایی زیر ۹۵°C به مدت ۱ دقیقه، ۵۶ °C به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه، واکنش PCR انجام شد.

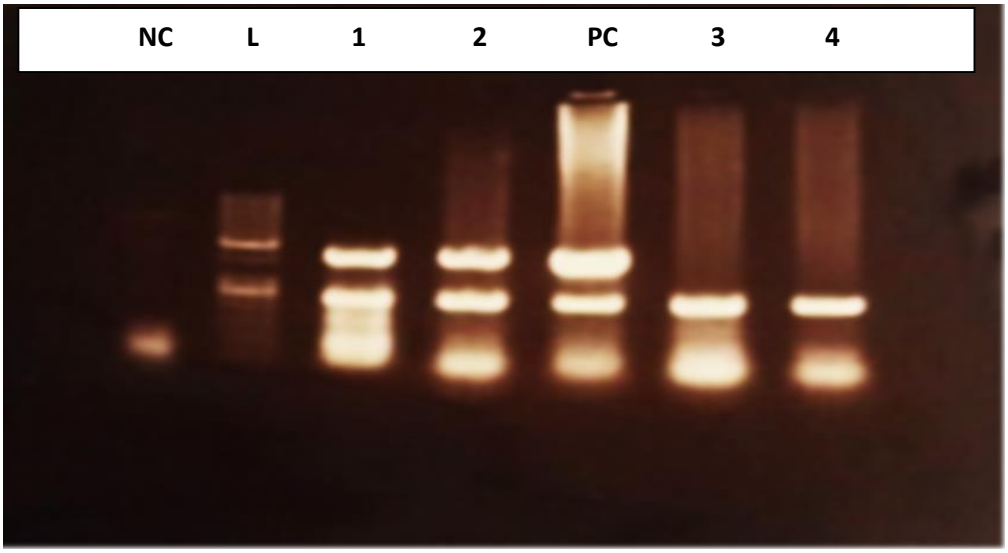
پس از فرایند PCR، قطعات DNA بر اساس اندازه جداسازی شدند. محصولات تکثیر شده به وسیله PCR با استفاده از ژل آگاروز تحت الکتروفورز قرار گرفتند. نمونه‌ها در ژل آگاروز ۲ درصد و تحت ولتاژ ۱۰۰ V الکتروفورز شدند و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شدند. ژل الکتروفورز در زیر نور ماورا بنفش (UV) مورد مشاهده قرار گرفت. نمونه‌های کنترل مثبت ۲ باند داشتند. باند کنترل داخلی که ۲۵۰ bp است و باند HPV که ۴۵۰bp می‌باشد. وجود یک باند ۲۵۰bp، نشان دهنده ی کیفیت خوب DNA استخراج شده و همچنین صحت انجام آزمایش PCR در نمونه بود، ولی در این بیماران ویروس HPV منفی بود. بیماران دارای HPV، دارای هر دو باند بودند. (شکل ۱)

در نهایت داده‌ها وارد نرم افزار آماری SPSS با ویرایش ۱۶ شدند و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند با استفاده از آزمون آماری کای اسکوئر مقایسه شدند. در نهایت جهت تعیین رابطه بین متغیرهای زمینه‌ای نمونه‌های بیوپسی با متغیرهای اصلی از آزمون کای اسکوئر و رگرسیون لوجستیک استفاده شد.

جدول ۱ : توالی DNA پرایمرهای HPV (MY09/MY11) و ژن β گلوبین (PC03/PCO4)

M=A or C; R=A or G; W=A or T; Y=C or T

Primer	Sequence
MY09 (Forward)	5'-CGTCCMARRGGAWACTGATC-3'
MY11 (Reverse)	5'-GCMCAGGGWCATAAYAATGG-3'
PC03 (Forward)	5'-ACACAACTGTGTTCACTAGC-3'
PC04 (Reverse)	5'-CAACTTCATCCACGTTCACC-3'



تصویر ۱ : تصویر ژل الکتروفورز در زیر نور ماورا بنفش. ردیف های ۱ و ۲ بیماران دارای HPV و ردیف‌های ۳و ٤ بیماران HPV منفی هستند.

L: Ladder 50 bp و NC: Negative Control و PC: Positive Control

یافته‌ها

در مطالعه حاضر در مجموع ۷۷ ضایعه موجود در آرشیو بخش پاتولوژی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی مشهد و بیمارستان قائم مشهد مورد مطالعه قرار گرفت که از این تعداد ۵ مورد (٦/۵ درصد) از نظر HPV مثبت بود. این موارد به تفکیک نوع آملوبلاستوما در جدول ۲ آمده است.

نوع فولیکولار که یک مورد آن از نظر HPV مثبت شده بود، مربوط به یک مرد بود. در نوع یونی سیستیک، یک مورد مرد و یک مورد زن از نظر HPV مثبت شده بود. در نوع پلکسی فرم نیز یک نفر مرد و یک نفر زن از این نظر مثبت شده بود. توزیع فراوانی نوع آملوبلاستوما بر حسب جنس در نمودار ۱ نشان داده شده است که بیشترین موارد با ابتلای ١٦ مرد و ۹ زن مربوط به نوع پلکسی فرم بوده است.

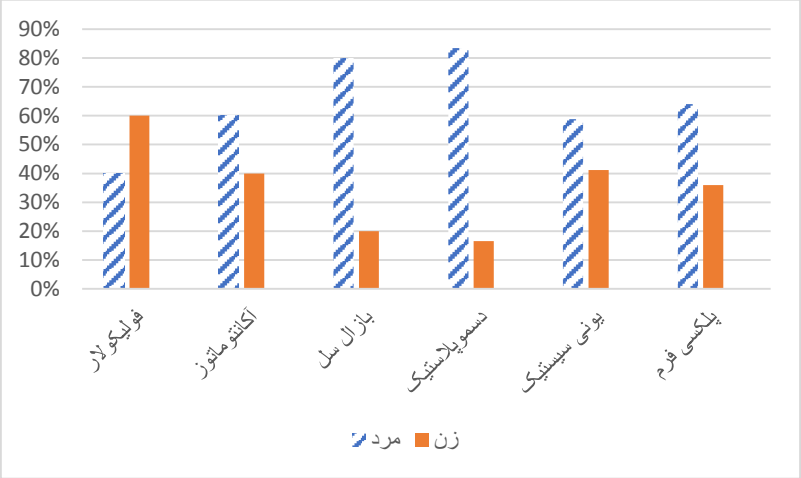
میانگین سن و انحراف معیار افراد مبتلا به آملوبلاستوما در گروه‌های مورد مطالعه در نوع فولیکولار ۲۰/۷۰±۳۹، در اکانتوماتوز ۱۲/۱۱±٤۳، در نوع بازال سل ۳۵/٦۱±۲۱، در نوع دسموپلاستیک ۱۸/۳۸±۵۰، در سیستیک ۷/۹۰±۲۰ و در نوع پلکسی فرم ۱۷/۲۵±۲۵ سال بود.

نتیجه آزمون آماری کای اسکوئر نیز نشان داد بین جنس و مثبت شدن HPV ارتباط آماری معنی داری وجود داشت (P=۰/۰٤۵). به این صورت که از پنج فرد مبتلا به HPV در این مطالعه، ۳ نفر (٦۰ درصد) مرد و ۲ نفر (٤۰ درصد) زن بودند.

نتیجه رگرسیون لوجستیک Binary نشان داد که بین سن و مثبت شدن HPV ارتباط آماری معنی‌دار وجود نداشت (P=۰/۳۲٦).

جدول ۲ : توزیع فراوانی موارد مثبت HPV بر حسب نوع آملوبلاستوما

نوع آملوبلاستوما		تعداد	درصد
فولیکولار	HPV مثبت	۱	۵/۰
	HPV منفی	۱۹	۹۵/۰
اکانتوماتوز	HPV مثبت	–	–
	HPV منفی	٤	۱۰۰/۰
بازال سل	HPV مثبت	–	–
	HPV منفی	۵	۱۰۰/۰
دسموبلاستیک	HPV مثبت	–	–
	HPV منفی	٦	۱۰۰/۰
یونی سیستیک	HPV مثبت	۲	۱۱/۸
	HPV منفی	۱۵	۸۸/۲
پلکسی فرم	HPV مثبت	۲	۸/۰
	HPV منفی	۲۳	۹۲/۰
کل	HPV مثبت	۵	٦/۵
	HPV منفی	۷۲	۹۳/۵



نمودار ۱ : توزیع فراوانی نوع آملوبلاستوما بر حسب جنس

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) در آملوبلاستوما به روش PCR قابل ردیابی است، خصوصا اگر آملوبلاستوما از نوع یونی سیستیک، پلکسی فرم و یا فولیکولار باشد. انواع ۱۶و ۱۸ HPV به عنوان سرطانزاهای پر خطر، انواع ۳۱، ۳۳، ۳۵، ۳۹، ٤٥، ٥١، ٥٢ و ٥٦ به عنوان پرخطر با شیوع کمتر و انواع ٦ و ١١ در گروه کم خطر طبقه بندی می‌شوند و دارای توالی موتیف‌های حفظ شده‌ای هستند که در همه ژنوتیپ‌های شناخته شده حضور دارند. این عناصر می‌توانند با یک Consensus primer، به عنوان هدف استفاده شوند و محصول PCR تولید کنند که نوع HPV موجود در آن مهم نباشد. یک امتیاز جالب PCR با دامنه ی وسیع این است که تمام انواع HPV می‌توانند در یک PCR منفرد غربالگری شوند که موجب حفظ زمان و مواد می‌شود. همچنین ژنوتیپ‌های جدید HPV، بدون اینکه نیاز به تغییر پروتکل PCR باشد، می‌توانند شناسایی شوند.[۸]

اگرچه HPV با تعدادی از ضایعات پرولیفراتیو اپی‌تلیالی از جمله بدخیمی‌های سلول سنگفرشی در ارتباط است، این ویروس در ۲۰-۱۰ درصد مخاط دهانی نرمال جمعیت بالغ یافت می‌شود. منطقه ورود و ناحیه تکثیرHPV در حفره دهان ناشناخته است. از آنجا که پاکت‌های لثه‌ای تنها نقطه‌ای از مخاط دهان هستند که سلول‌های بازال (به عنوان سلول‌های هدف ویروس) به محیط اکسپوز هستند، این طور فرض شده که این ناحیه محل نهفتگی ویروس HPV است.[۹]

اولین مطالعه پیرامون ارتباط HPV با آملوبلاستوما توسط Kahn صورت گرفت و حضور ویروس در آملوبلاستومای افراد جوان شرح داده شد. از ۳۸ مورد از نمونه‌های آملوبلاستوما در افراد زیر ۲۰ سال، ۱۰ نمونه برای بررسی وجود HPV با استفاده از آنالیز ایمونوهیستوشیمی مورد بررسی قرار گرفتند. ۳ نمونه از این ۱۰ مورد از لحاظ وجود HPV مثبت بودند در حالی که هیچ یک از نمونه‌های آملوبلاستوما در بالغین مسن تر مثبت نبود.[۱۰]

در مطالعه حاضر ۵ مورد (٦/٥ درصد موارد) از ۷۷ نمونه بررسی شده از لحاظ HPV مثبت بودند. ولی Rider و همکاران[۱۱] در مطالعه ی خود بر روی ۲۰ کیست رادیکولار پس از اعمال آنتی بادی پلی کلونال و پروسه‌های

رنگ آمیزی ایمنوفلورسانس مشاهده کردند که تمامی ۲۰ نمونه آزمایش شده برای حضور HPV منفی بودند. آنها نتیجه گرفتند که در نمونه‌های کیست رادیکولار، بافت گرانولیشن می‌تواند به تنهایی منبع تامین فاکتورهای رشدی و تاثیر بر تکثیر بقایای اپی تلیالی مالاسز باشد وHPV در آن دخیل نمی‌باشد. ولی در مطالعه‌ای دیگر عنوان شده است که پاپیلوماویروس می‌تواند به بزاق ریخته شود و این احتمال وجود دارد که این ویروس‌ها از طریق اکسپوژرهای کرونال به بافت پالپی و پری رادیکولار دسترسی داشته باشند.[۱۲]

HPV می‌تواند به عنوان منبع احتمالی التهاب فولیکول دندانی عمل کند و یا از طریق مسیرهایی فولیکول ملتهب را آلوده کند، چرا که رابطه میان التهاب مزمن و عفونت HPV از لحاظ بیولوژیک امکان پذیر است و با بسیاری مطالعات مولکولی و اپیدمیولوژیک مورد حمایت قرار گرفته است.

Xuan و همکاران[۱۳] در مطالعه ای، رابطه میان بروز ژن Sonic Hedgehog (SHH) و عفونت HPV-16 را در سرطان سرویکس رحم نشان داد. با توجه به این مطلب که مولکول‌های سیگنال دهنده SHH در آملوبلاستوما نشان داده شده اند، می‌توان نتیجه گرفت که HPV در بروز این ضایعه می‌تواند ایفای نقش کند.[۱۴و۱۵]

در مطالعه ی حاضر از پرایمرهای GP5+/GP6+ استفاده شد که بسیار حساس هستند و حتی در نمونه‌های با بار میکروبی بسیار پایین مثبت می‌شوند. این پرایمرها قادر به شناسایی توالی بسیار کوتاه از DNA ویروس در نمونه‌های فیکس شده می‌باشند که این موضوع منجر به حساسیت بسیار بالای این پرایمرها می‌شود. علی رغم این که طی پروسه فیکس شدن DNA به قطعات بسیار کوچک شکسته می‌شوند، اما این پرایمرها هم چنان قادر به شناسایی آن‌ها می‌باشند.[۱۶]

مطالعاتی که از روش‌های ایمونوهیستوشیمی یا پرایمرهای مختلف جهت تشخیص HPV استفاده کرده اند، حساسیت‌های متفاوتی نسبت به تشخیص این ویروس دارند. پرایمرهای GP5+/GP6+ قادر به تشخیص ۲۰ ژنوتیپ HPV شامل انواع ٦، ۱۱، ۱۳، ۱٦، ۱۸، ۳۰، ۳۱، ۳۲، ۳۳، ۳۵، ۳۹، ٤۰، ٤۳، ٤۵، ۵۱، ۵٤، ۵۵، ۵٦، ۵۹ و ٦٦ می‌باشند که این ژنوتیپ‌ها ۵ تا از ٦ ژنوتیپ تشخیص داده شده در مطالعات قبلی بر روی تومورهای ادنتوژنیک بودند.[۱۷-۱۹] در صورتی که برخی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعات، قادر به شناسایی ژنوتیپ‌های محدودی از HPV می‌باشند[۱۷] شاید حساسیت تکنیک‌های آزمایشگاهی یکی از عوامل موثر در گزارش فراوانی بالاتر HPV در مطالعه ی ما نسبت به مطالعاتی که ویروس را در ضایعات شناسایی نکرده بودند، باشد.

جراحی پذیرفته شده ترین درمان در رابطه با بسیاری از کیست‌ها و تومورهای ادونتوژنیک است. ولی به هر حال نقایص به جا مانده و همچنین عودهای مکرر از عوارض جراحی این ضایعات است که به خصوص در مورد ضایعات مهاجم تر مثل آملوبلاستوما مطرح می‌باشد.[۲۰] بنابراین در صورت تائید نقش ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) در این دسته از ضایعات، می‌توان درمان‌های ضد ویروسی را به عنوان یکی از گزینه‌های درمانی جدید جهت کنترل این ضایعات مطرح کرد.[۲۱] ولی مطالعات بیشتری با حجم نمونه ی بالاتر و بررسی دقیق تر ژنوتیپ‌های ویروس و اندازه گیری کمیت DNA ویروسی (بار ویروس) برای روشن شدن نقش HPV در ایجاد کیست‌ها و تومورهای ادونتوژنیک لازم می‌باشد که امید است در آینده مورد توجه پژوهشگران قرار بگیرد.

فراوانی HPV در آملوبلاستوما می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که حضور این ویروس می‌تواند باعث ایجاد کیست‌های ادونتوژنیک یا تغییرات تومورال در آن‌ها شود ولی به هر حال با توجه به محدودیت‌های مطالعه ی ما از جمله حجم پایین نمونه نمی‌توان با اطمینان در رابطه با چنین نتیجه‌ای اظهار نظر کرد. هم چنین برای بررسی‌های دقیق تر بهتر است که سروتایپ‌های اختصاصی ویروس نیز در مطالعات بعدی بررسی شوند. ایمونوهیستوشیمی نیز یکی دیگر از روش‌های تشخیص وجود HPV در نمونه‌های بافتی می‌باشد که علی رغم حساسیت پایین تر آن نسبت به PCR در تشخیص ویروس، به دلیل مشخص کردن جایگاه‌های وجود ویروس در نمونه بافتی می‌تواند اطلاعات دقیق تری را فراهم نماید. لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده علاوه بر روش PCR از روش‌های تکمیلی برای تعیین زیرگروه‌های HPV، بار ویروس و تشخیص ویروس در این ضایعات از ایمونوهیستوشیمی نیز استفاده گردد.

همچنین تحقیقات بیشتری بر روی درمان‌های ضدویروسی و اقدامات پیشگیرانه (واکسن HPV) به عنوان یکی از گزینه‌های جدید روش‌های غیرجراحی در پیشگیری و درمان این ضایعات صورت گیرد.

نتیجه گیری

یافته‌های مطالعه ی ما نشان داد فراوانی HPV در آملوبلاستومای نوع یونی سیستیک و پلکسی فرم شایع تر بود. با توجه به فراوانی ویروس پاپیلومای انسانی در ضایعات مورد بررسی می‌توان این گونه نتیجه گرفت که این ویروس‌ها می‌توانند در اتیولوژی و پاتوژنز این دسته از ضایعات نقش داشته باشند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه به شماره ۲۸۶۶ از دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد می‌باشد. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی آن دانشگاه جهت تصویب و پرداخت هزینه‌های این مطالعه تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

1. Seifi S, Shafaie S, Ghadiri S. Evaluation of Microvessel Density in Follicular Cyst, Keratocystic Odontogenic Tumor, and Ameloblastoma. Journal of Mashhad Dental School 2011; 35(1): 33-42
2. Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan RC. Oral pathology: Clinical pathologic correlations: Elsevier Health Sciences; 2016.
3. Alam J, Siddiqui AA, Mian RI, Mirza AJ, Khan S, Alam MK. Histopathological Evaluation of Oral and Maxillofacial Lesions Managed at a Tertiary Care Teaching Hospital in Karachi, Pakistan. International Medical Journal 2018; 25(1): 42-4.
4. Bernard H-U, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, Zur Hausen H, de Villiers E-M. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. Virology 2010; 401(1): 70-9.
5. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology: Elsevier Health Sciences; 2015.
6. Al-Kobaisi MF. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology 24th Ed. Sultan Qaboos University Medical Journal [SQUMJ] 2007; 7(3): 273-5.
7. Zheng Z-M, Baker CC. Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. Frontiers in bioscience: A Journal Virtual Library 2006; 11: 2286.
8. Prevost A, Wilkinson M. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting ofpotato cultivars. Theoretical Applied Genetics 1999; 98(1): 107-12.
9. Hormia M, Willberg J, Ruokonen H, Syrjänen S. Marginal periodontium as a potential reservoir of human papillomavirus in oral mucosa. Journal of Periodontology 2005; 76(3): 358-63.
10. Cox M, Eveson J, Scully C. Human papillomavirus type 16 DMA in an odontogenic keratocyst. Journal Oral Pathology Medicine 1991; 20(3): 143-5.

11. Rider CA, Rupkalvis R, Miller AS, Chen S-Y. Search for evidence of three viral agents in radicular (periapical) cysts with immunohistochemistry. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology Endodontics 1995; 80(1): 87-91.

12. Tezal M, Scannapieco FA, Wactawski-Wende J, Hyland A, Marshall JR, Rigual NR, et al. Local inflammation and humanpapillomavirus status of head and neck cancers. Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery. 2012; 138(7): 669-75.

13. Xuan Y, Li G, Jiang H, Lin Z. Relationship between hedgehog signaling pathway molecules and HPV16 infection in uterine cervical cancers. Zhonghua bing li xue za zhi= Chinese Journal Pathology 2009; 38(3): 178-82.

14. Kumamoto H, Ohki K, Ooya K. Expression of Sonic hedgehog (SHH) signaling molecules in ameloblastomas. Journal Oral Pathology Medicine 2004; 33(3): 185-90.

15. Zhang L, Sun Z, Chen X, Chen Z. Immunohistochemical expression of SHH, PTC, SMO and GLI1 in glandular odontogenic cysts and dentigerous cysts. Oral Diseases 2010; 16(8): 818-22.

16. Alsaegh MA, Zhu SR. Presence of Human papilloma virus in dentigerous cyst and Ameloblastoma. International Journal of enhanced Research in Science Technology& Engineering 2014; 3(2): 88-94.

17. de Roda Husman A-M, Walboomers JM, van den Brule AJ, Meijer CJ, Snijders PJ. The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3′ endswith adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. Journal General Virology 1995; 76(4): 1057-62.

18. Kahn MA. Demonstration of human papillomavirus DNA in a peripheral ameloblastoma by in situ hybridization. Humanpathology 1992; 23(2): 188-91.

19. Sand L, Jalouli J, Larsson P-A, Magnusson B, Hirsch J-M. Presence of human papilloma viruses in intraosseous ameloblastoma. Journal Oral Maxillofacial Surgery 2000; 58(10): 1129-34.

20. Small IA, Waldron CA. Ameloblastomas of the jaws. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology 1955; 8(3): 281-97.

21. Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. American Journal Pathology 1998; 153(6): 1741-8.