

بررسی فراوانی ویروس ابشتین- بار در نمونه‌های بافتی زنان مبتلا

به سرطان پستان در شهر مشهد

دکتر احمد تفقد^۱، دکتر سمانه سجادی^۲، دکتر محمد حسین طاهری نژاد^۳، دکتر حسن مهرداد مجد^۴،
دکتر سحر روانشاد^{۵*}

۱. رزیدنت بیماری‌های داخلی، دپارتمان بیماری‌های داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. استادیار خون و سرطان بالغین، دپارتمان بیماری‌های داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۳. دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۴. استادیار پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات پاتولوژی مولکولی سرطان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۵. استادیار بیماری‌های داخلی، دپارتمان بیماری‌های داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۶

خلاصه

مقدمه: سرطان پستان، یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در جهان است که در دهه اخیر افزایش چشم‌گیری در میزان بروز آن رخ داده است. اگرچه عوامل خطر و علل سرطان پستان به‌طور کامل شناخته نشده است، اما مطالعاتی در مورد ارتباط بین سرطان پستان و عوامل ویروسی از جمله ویروس ابشتین- بار (EBV) گزارش شده است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط بین EBV و سرطان پستان انجام شد.

روش کار: در این مطالعه مقطعی که بر روی نمونه‌های پاتولوژی بافت پستان بین سال‌های ۱۳۹۶-۱۴۰۱ در بیمارستان‌های مشهد صورت گرفت، ۳۰ نمونه پارافینه از بیماران مبتلا به سرطان پستان و ۳۳ نمونه پارافینه به‌عنوان گروه کنترل از بیماری‌های خوش‌خیم پستان جمع‌آوری شد. بعد از فرآیندهای استخراج DNA، بررسی از نظر ویروس EBV با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۰) و آزمون‌های کای دو، دقیق فیشر و تی تست انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج به‌دست آمده، از ۶۳ PCR نمونه بیوپسی بافتی انجام شده، هیچ‌یک از نمونه‌های گروه بدخیم و کنترل از نظر EBV مثبت نبودند.

نتیجه‌گیری: حضور ژن ویروس EBV در یک گروه قابل توجه از زنان مبتلا به سرطان پستان در شهر مشهد تأیید نشد. با این حال مطالعات بیشتر با حجم نمونه بزرگ‌تر برای اعتبارسنجی نتایج ضرورت دارد.

کلمات کلیدی: سرطان پستان، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، ویروس ابشتین بار

* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر سحر روانشاد؛ دپارتمان بیماری‌های داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. تلفن: ۰۵۱-۳۸۰۰۲۷۴۲؛ پست الکترونیک: ravanshads@mums.ac.ir

مقدمه

سرطان پستان، یکی از شایع ترین سرطان ها در زنان و یکی از مهم ترین علل مرگ و میر مربوط به سرطان در جهان می باشد؛ به طوری که سالانه ۱/۷ میلیون مورد جدید مبتلا به سرطان پستان تشخیص داده می شود (۱، ۲). برخلاف مردان که سرطان پستان ناشایع و کمتر از ۰/۵٪ از سرطان های مردان را شامل می شود، در زنان ۲۵/۱٪ از کل سرطان ها را در بر می گیرد (۳)، سرطان پستان، زنان ایرانی را یک دهه زودتر نسبت به کشورهای توسعه یافته درگیر می کند (۵). بروز سرطان پستان یک فرآیند پیچیده است که انواع مختلفی از سلول ها و ژن ها را می تواند درگیر کند و تاکنون پیشگیری و شناخت عوامل خطر آن، یک موضوع چالش برانگیز بوده است (۶). اگرچه تاکنون ریسک فاکتورهای فراوانی برای سرطان پستان شناخته شده اند، اما عوامل خطر مختلفی پنهان مانده است که این موضوع باعث انجام مطالعات مختلف و نوین با همکاری پاراکلینیک و آزمایشگاه شده است. امروزه ارتباط بین ویروس ها و سرطان پستان، یک حوزه پژوهشی است که در سال های اخیر به دلیل پیچیدگی و چالش های فراوانی که ایجاد می کند، برای محققان و پزشکان جذابیت یافته است. درحالی که عواملی همچون افزایش سن، جنس مؤنث، نژاد سفید، چاقی (شاخص توده بدنی بیشتر یا مساوی ۳۰ کیلوگرم بر متر مربع)، قد بلند، سابقه بیماری های خوش خیم پستان، وجود پستان های دنس، هورمون ها از جمله استروژن و اندروژن و حتی درمان های هورمونی جایگزین و OCP ها، فاکتورهای تولیدمثلی مانند منارک زودرس یا نولی پاریتی، سابقه خانوادگی یا شخصی سرطان پستان و جهش در ژن های BRCA1/2 و مصرف الکل و سیگار را می توان از عوامل خطر شناخته شده برای سرطان پستان برشمرد، اخیراً مطالعات جدید نشان می دهند که ویروس های مختلف همچون ^۱HPV، ^۲EBV، ^۳HSV و ^۴CMV

نیز ممکن است در بروز و تشدید سرطان پستان نقش داشته باشند (۲۱-۷). اگرچه در طی سال های گذشته اطلاعات فراوانی راجع به ارتباط بین ویروس ها و برخی سرطان های دیگر مانند سرطان سرویکس و همچنین سرطان معده و کبد به دست آمده است، اما تاکنون در مورد ارتباط مستقیم و یا غیرمستقیم ویروس ها با سرطان پستان، تحقیقات کافی انجام نشده است. این حوزه از تحقیقات همچنان با چالش ها و پرسش های فراوانی روبرو است که مطالعات جدید و فعالیت های پژوهشی بیشتر در این زمینه می تواند روشنایی بیشتری به ما ارائه دهد. بر همین اساس، مطالعه حاضر با هدف بررسی فراوانی ابتلاء و ارتباط بین حضور عامل ویروسی EBV در بیماران مبتلا به سرطان پستان در شهر مشهد انجام شد.

روش کار

در این مطالعه مقطعی، اطلاعات بالینی ۳۰ بیمار که تشخیص سرطان پستان آن ها بر اساس اطلاعات هیستوپاتولوژی تأیید شده بود، از مراکز بیمارستانی امید، قائم، رضوی و پاسطور شهر مشهد در بازه زمانی سال های ۱۴۰۱-۱۳۹۶ جمع آوری شد. همچنین جهت انتخاب گروه کنترل، ۳۳ بیمار با پاتولوژی خوش خیم پستان در همین بازه استفاده شد. این حجم نمونه با احتساب آلفا ۰/۵ و بتا ۰/۱ (قدرت ۰/۹۰٪) با در نظر گرفتن میزان موارد مثبت ابتلاء به ویروس EBV در نمونه های بافتی پستان در مطالعه سلحشور و همکاران (۲۰۱۸) محاسبه گردیده است (۲۲). داده های دموگرافیک شامل: سن، جنسیت، بیماری های زمینه ای، زمان تشخیص بیماری، سابقه خانوادگی سرطان پستان، اطلاعات مربوط به تومور شامل اندازه و نوع تومور، وجود یا عدم وجود متاستاز ثبت شد. کرایتریای ورود به مطالعه شامل: زنان با تشخیص بافت شناسی به نفع سرطان پستان، عدم وجود سابقه ابتلاء به سرطان های دیگر و عدم وجود هرگونه درمان مداخله ای بود. همچنین از میان داده ها، پرونده های ناقص از مطالعه و تحلیل آماری خارج شدند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد تأیید و با کد اخلاق

¹ Human Papillomavirus

² Epstein-Barr Virus

³ Herpes Simplex Virus

⁴ Cytomegalovirus

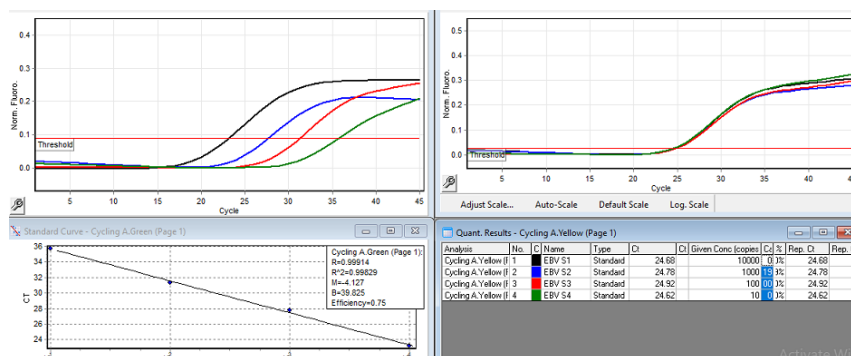
IR.MUMS.MEDICAL.REC.1400.577 تصویب شده است. تمامی اصول اخلاق هلسینکی در آخرین ویرایش آن در این مطالعه رعایت شده است.

در این مطالعه ۶۳ نمونه بلاک پارافینه افراد مبتلا به سرطان پستان و افراد گروه شاهد تهیه شد. سپس با مطالعه مقالات معتبر، ابتدا مناطق حفاظت شده ژنوم ویروس‌های مورد مطالعه انتخاب و با استفاده از نرم‌افزارهای مربوطه، پرایمرهای مورد نیاز برای تکثیر نواحی حفاظت شده مورد نظر طراحی گردید. ضمناً به منظور بررسی چگونگی اتصال پرایمرهای طراحی شده به قطعه مورد نظر، ژنوم ویروس‌های مورد مطالعه از بانک ژنی تهیه شده و با استفاده از برنامه BLAST، اتصال اختصاصی پرایمرها بررسی شد.

استخراج DNA ویروس‌ها از بافت با استفاده از کیت DNJia FFPE tissue kit انجام شد. به منظور استخراج DNA، ابتدا با استفاده از دستگاه میکروتوم، برش‌های نازک به ضخامت ۱۰-۵ میکرونی به تعداد ۵ عدد از بلوک‌های پارافینی تهیه و در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری فاقد DNase/RNase ریخته شد. بعد از پارافین زدایی نمونه‌ها با گزایلین و اتانول مطلق (۱۰۰-۹۶٪)، DNA ژنومیک با استفاده از روش نمکی^۱ استخراج گردید. استخراج از نمونه‌ها با استفاده از TLB، GLB، RJ-protease، اتانول ۱۰۰٪ و بافر BWB1

BWB2 با کمک چند مرحله سانتریفیوژ در ۱۴۰۰۰ rpm و استفاده از حمام آب گرم صورت گرفت. در ادامه با کمک دستگاه نانودراپ، غلظت و خلوص DNA استخراج شده، تعیین و تأیید شد. نسبت جذب نوری (OD) طول موج‌های ۲۸۰-۲۶۰ نانومتر سنجیده شد و نمونه‌هایی که این نسبت را از ۲-۱/۸ نشان دادند، برای انجام PCR با آغازگرهای اختصاصی ژن بتااکتین انتخاب شدند.

سپس از کیت EBV RQ با استفاده از دستگاه ROTOR GENE به منظور تشخیص و کمی‌سنجی DNA ویروس در نمونه به روش Real Time PCR استفاده شد. برای ارزیابی استخراج نامناسب یا مهار واکنش و جلوگیری از نتایج منفی کاذب از کنترل داخلی کیت استفاده شد که در شکل ۱ نشان داده شده است. شرایط thermal cycling جهت انجام PCR نیز بدین صورت بود که در مرحله فعال‌سازی ابتدایی یک سیکل در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، سپس ۴۵ سیکل در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه انجام شد. سپس آزمایش PCR با استفاده از Master Mix مربوطه بر روی نمونه‌های مناسب انجام و وجود DNA ویروس EBV در نمونه مورد بررسی قرار گرفت.



شکل ۱- کنترل داخلی کیت جهت ارزیابی صحیح بودن روش انجام پروسه

آزمون فیشر) و جهت مقایسه متغیرهای کیفی و کمی به ترتیب از آزمون کای دو و تی تست استفاده شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

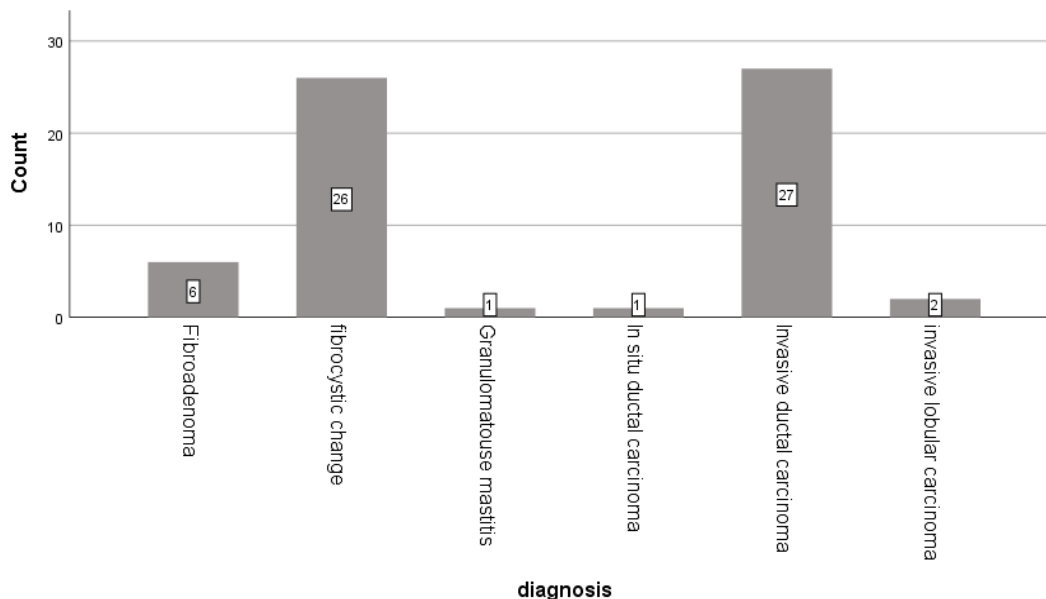
داده‌ها پس از گردآوری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۰) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت مقایسه فراوانی عفونت ویروس‌ها در دو گروه سرطانی و کنترل از آزمون کای دو (یا در صورت نیاز

¹ Salting out

یافته‌ها

از ۶۳ نمونه پاتولوژی بررسی شده در این مطالعه، ۳۰ نمونه از گروه سرطان پستان و ۳۳ نمونه از گروه کنترل و همگی از نظر جنسیت زن بودند. میانگین سنی افراد گروه بدخیم $49/83 \pm 12/71$ و گروه کنترل $41/51 \pm 13/42$ سال بود.

در گروه سرطان پستان پاتولوژی ۲۷ نفر (۹۰٪) کارسینوم مجرای مهاجم^۱ و در گروه کنترل اغلب (۷۹٪) آن‌ها با تشخیص تغییرات فیبروکیستیک پستان^۲ وارد مطالعه شدند. در مقابل کمترین پاتولوژی در گروه سرطان و کنترل به ترتیب کارسینوم مجاری شیری درجا^۳ و ماستیت گرانولوماتوز^۴ را شامل می‌شدند (شکل ۲).



شکل ۲- اطلاعات پاتولوژی گروه بدخیم و کنترل

سنی اختلاف معناداری داشتند ($p=0/001$)، اما سایر متغیرها بین دو گروه آماری اختلاف معناداری نداشت.

جدول توزیع فراوانی متغیرها را به تفکیک گروه مورد و شاهد نشان می‌دهد. در این بررسی دو گروه فقط از نظر

جدول ۱- توزیع فراوانی متغیرهای مورد بررسی در زنان مورد مطالعه به تفکیک دو گروه شاهد و مورد

سطح معنی داری	شاهد		مورد		رده بندی	متغیر
	تعداد	درصد	تعداد	درصد		
0/001	۹	۳	۰	۰	کمتر از ۲۵	سن
	۲۱	۷	۰	۰	۲۵-۳۵	
	۳۰	۱۰	۴۳	۱۳	۳۵-۴۵	
	۴۰	۱۳	۵۷	۱۷	بیشتر از ۴۵	
0/558	۸۵	۲۸	۷۳	۲۲	شهری	محل سکونت
	۱۵	۵	۲۷	۸	روستایی	
-	-	-	۱۳	۴	۱	گرید تومور
	-	-	۴۳	۱۳	۲	
	-	-	۴۳	۱۳	۳	
-	-	-	۱۰	۳	بله	متاستاز دوردست
-	-	-	۹۰	۲۷	خیر	

¹ invasive ductal carcinoma

² fibrocystic change

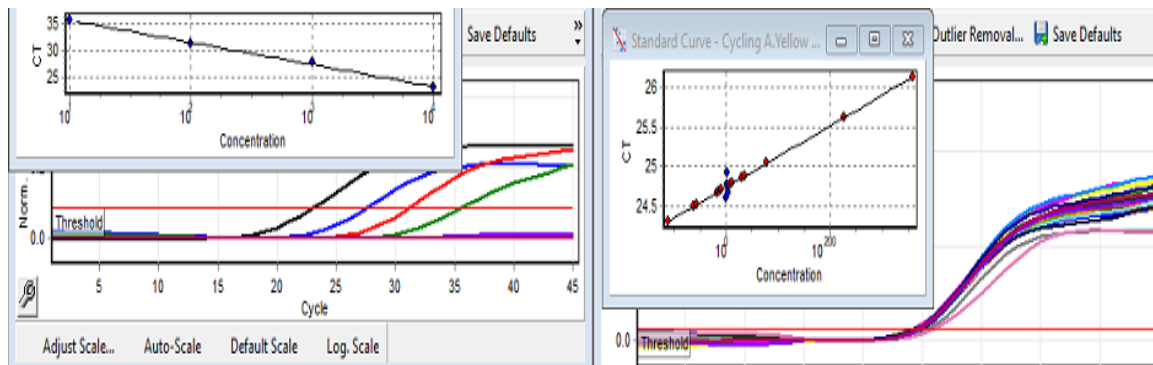
³ in situ ductal carcinoma

⁴ Granulomatous mastitis

			۳۳	۱۰	بله	متاستاز لنفاوی
			۶۷	۲۰	خیر	
۰/۱۴۶	۴۲	۱۴	۷۳	۲۲	بله	سابقه شیردهی
	۵۸	۱۹	۲۷	۸	خیر	
۰/۴۴۶	۳۰	۱۰	۴۰	۱۲	بله	منوبوز
	۷۰	۲۳	۶۰	۱۸	خیر	
۰/۱۹۰	۶۱	۲۰	۷۷	۲۳	بله	سابقه زایمان
	۳۹	۱۳	۲۳	۷	خیر	
۰/۱۲۳	۶	۲	۸۷	۲۶	بله	سابقه خانوادگی سرطان پستان
	۹۴	۳۱	۱۳	۴	خیر	

گروه شاهد منفی گزارش شده است. برخی نتایج استخراج شده در شکل ۲ نمایش داده شده است.

بر اساس نتایج این مطالعه، از ۳۰ نمونه تومور بدخیم مورد بررسی، هیچ موردی برای EBV مثبت نبودند، همچنین در گروه کنترل نیز EBV در تمام ۳۳ نمونه



شکل ۲- بررسی نمونه‌ها از نظر وجود DNA ویروس EBV

سرطان‌ها در انسان دارند (۲۵-۲۷).
 ویروس اپشتین بار (EBV) یک ویروس DNA دو رشته‌ای است که برای اولین بار در سال ۱۹۶۴ کشف شد. این ویروس از خانواده هرپس ویروس‌ها می‌باشد که اغلب سلول‌های لنفوسیت B را آلوده می‌کند. تقریباً ۹۵٪ افراد جهان به این ویروس آلوده شده‌اند (۲۸). با وجود اینکه ارتباط بین ویروس HPV و برخی سرطان‌ها به اثبات رسیده است، اما همچنان ارتباط بین EBV و سرطان پستان نامعلوم است.
 اولین بار لابرک و همکاران (۱۹۹۵) ارتباط بین عفونت EBV و سرطان پستان را گزارش دادند؛ به این صورت که ۲۱٪ از PCRها آلوده به EBV بوده‌اند. از آن زمان مطالعات مختلفی جهت بررسی ارتباط بین EBV و

بحث

سرطان پستان، یک بیماری مولتی فاکتوریال با اتیولوژی ناشناخته است که تاکنون مقالات مختلف، ریسک فاکتورهایی از جمله علل ژنتیکی، محیطی و سبک زندگی را در ارتباط با سرطان پستان مورد بحث قرار داده‌اند (۲۳)؛ هرچند، تعدادی از ریسک فاکتورهای کمتر شناخته شده، از جمله ویروس‌ها نیز ممکن است در ایجاد این نوع سرطان نقش مؤثری ایفا کنند (۲۴). طبق گفته آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان، در ۲۰-۱۸٪ از سرطان‌ها، سرطان‌زاهای بیولوژیک همچون ویروس‌ها دخیل می‌باشند. در این مطالعات به وضوح نشان داده شده است که ویروس‌هایی همچون EBV،

حاضر، در هر دو مطالعه حجم نمونه‌ها بیشتر از نمونه‌های حاضر بود؛ با وجود اینکه روش کار و ابزارهای استفاده شده در هر سه مطالعه یکسان بود، اما هر سه مطالعه در سه منطقه جغرافیایی متفاوت با شیوع مختلف EBV در ایران انجام شده بود. نتایج یکسان در این سه مطالعه با وجود اختلاف در مناطق جغرافیایی می‌تواند تا حدی به دلیل استفاده از روش، وسایل و ابزارهای مشابه استفاده شده در پژوهش مرتبط باشد. در نهایت در دو مطالعه متاآنالیز هو و همکاران (۲۰۱۲) و آمارانته و همکاران (۲۰۰۹)، بین EBV و سرطان پستان ارتباط معناداری وجود داشت (۳۴، ۳۵). این تفاوت واضح بین مطالعات می‌تواند نشأت گرفته از تفاوت در حجم نمونه‌ها، جمعیت مورد مطالعه، منطقه جغرافیایی و همچنین تفاوت در روش‌های تشخیصی ویروس EBV باشد.

نتیجه‌گیری

ارتباطی بین ویروس EBV و سرطان پستان وجود ندارد، اما لازم است برای تأیید نقش EBV، مطالعات بیشتر با جامعه آماری بزرگ‌تر و تست‌های تشخیصی حساس‌تر و مختلف انجام شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و همکاری بخش پاتولوژی بیمارستان قائم در انجام این طرح تحقیقاتی با کد مصوب ۴۰۰۰۳۵۵ (پایان‌نامه دستیاری آقای دکتر تفقد) و همچنین از خدمات مشاوره علمی و آماری واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان قائم مشهد، تشکر و قدردانی می‌شود.

سرطان پستان انجام گرفت و نتایج مختلفی به دست آمد. در مطالعه‌های و همکاران (۲۰۱۶) گزارش شد که عفونت EBV می‌تواند سلول‌های اپی‌تلیال پستان را از طریق فعال کردن مسیر سیگنالینگ HER2/HER3 مستعد بدخیمی کند (۲۹). در مطالعه فینا و همکاران (۲۰۰۱) که بر روی ۵۰۹ نمونه سرطان پستان در مناطق مختلف جغرافیایی اروپا و آفریقا انجام شد، ۳۲٪ از نمونه‌ها برای EBV مثبت گزارش شدند، ولی ارتباط معناداری بین مناطق مختلف جغرافیایی وجود نداشت؛ همچنین حضور ژنوم EBV با سن، وضعیت یائسگی، اندازه تومور و گرید ارتباط معناداری نداشت (۳۰). در مقایسه با این مطالعه می‌توان اشاره کرد که مطالعه حاضر مختص به یک منطقه جغرافیایی همراه با گروه شاهد بود، با این وجود PCR هیچ‌کدام از نمونه‌ها از نظر EBV مثبت نبودند. در مطالعه کالکان و همکاران (۲۰۰۵) در ترکیه، ۲۳٪ از ۵۷ نمونه پاتولوژی‌های سرطان پستان و همچنین ۳۵٪ از ۵۵ نمونه‌های شاهد، آلوده به ویروس EBV بودند که ارتباط مؤثری بین حضور EBV در نمونه‌های بدخیم و گروه شاهد یافت نشد (۳۱). مطالعه حاضر نیز مانند مطالعه کالکان و همکاران (۲۰۰۵)، دارای نمونه مورد و شاهد بود، با این تفاوت که حجم نمونه مطالعه حاضر کمتر و در هیچ‌کدام از نمونه‌های مورد و شاهد EBV یافت نشد؛ که این مورد می‌تواند به دلیل تفاوت در منطقه جغرافیایی، نمونه‌ها و همچنین تفاوت در حساسیت تست PCR صورت گرفته باشد. در مطالعه دوران و همکاران (۲۰۱۹) در شیراز و مطالعه کدیور و همکاران (۲۰۱۱) در تهران، هیچ‌کدام از نمونه‌های سرطان پستان مبتلا به EBV نبودند و ارتباطی بین EBV و سرطان پستان وجود نداشت (۳۲، ۳۳). در مقایسه با مطالعه

1. Harbeck N, Gnant M. Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy. *Lancet* 2017; 389(10074):1134-50.
2. da Costa Vieira RA, Biller G, Uemura G, Ruiz CA, Curado MP. Breast cancer screening in developing countries. *Clinics* 2017; 72:244-53.
3. Scagliotti MF, Boiotti BR, Knoblovits P. Prevalence of men's health history in male breast cancer patients. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición (English ed.)* 2023; 70(6):415-20.
4. Ghoncheh M, Pournamdar Z, Salehiniya H. Incidence and mortality and epidemiology of breast cancer in the world. *Asian Pacific journal of cancer prevention* 2016; 17(S3):43-6.
5. Harirchi I, Karbakhsh M, Kashefi A, Momtahan AJ. Breast cancer in Iran: results of a multi-center study. *Asian pacific journal of cancer prevention* 2004; 5(1):24-7.
6. Sun YS, Zhao Z, Yang ZN, Xu F, Lu HJ, Zhu ZY, et al. Risk factors and preventions of breast cancer. *International journal of biological sciences* 2017; 13(11):1387-97.
7. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA: a cancer journal for clinicians* 2022; 72(1):7-33.
8. Apovian CM. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. *Am J Manag Care* 2016; 22(7 Suppl):s176-85.
9. Ahlgren M, Melbye M, Wohlfahrt J, Sørensen TI. Growth patterns and the risk of breast cancer in women. *International Journal of Gynecological Cancer* 2006; 16:569-75.
10. McCormack VA, dos Santos Silva I. Breast density and parenchymal patterns as markers of breast cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 2006; 15(6):1159-69.
11. Zhang Y, Kiel DP, Kregar BE, Cupples LA, Ellison RC, Dorgan JF, et al. Bone mass and the risk of breast cancer among postmenopausal women. *New England Journal of Medicine* 1997; 336(9):611-7.
12. Hormones E, Breast Cancer Collaborative Group. Steroid hormone measurements from different types of assays in relation to body mass index and breast cancer risk in postmenopausal women: reanalysis of eighteen prospective studies. *Steroids* 2015; 99:49-55.
13. Brettes JP, Mathelin C. Dual effects of androgens on mammary gland. *Bulletin du cancer* 2008; 95(5):495-502.
14. Colditz GA, Rosner B. Cumulative risk of breast cancer to age 70 years according to risk factor status: data from the Nurses' Health Study. *American journal of epidemiology* 2000; 152(10):950-64.
15. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58 209 women with breast cancer and 101 986 women without the disease. *The Lancet* 2001; 358(9291):1389-99.
16. Alsop K, Fereday S, Meldrum C, DeFazio A, Emmanuel C, George J, et al. BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. *Journal of Clinical Oncology* 2012; 30(21):2654-63.
17. Gram IT, Park SY, Kolonel LN, Maskarinec G, Wilkens LR, Henderson BE, et al. Smoking and risk of breast cancer in a racially/ethnically diverse population of mainly women who do not drink alcohol: the MEC study. *American journal of epidemiology* 2015; 182(11):917-25.
18. Jin QE, Su J, Yan D, Wu S. Epstein-Barr virus infection and increased sporadic breast carcinoma risk: a meta-analysis. *Medical Principles and Practice* 2020; 29(2):195-200.
19. De Villiers EM, Sandstrom RE, Zur Hausen H, Buck CE. Presence of papillomavirus sequences in condyломatous lesions of the mamillae and in invasive carcinoma of the breast. *Breast cancer research* 2004; 7:1-11.
20. Kaveh F, Amini K, Sadeh M. Prevalence of Herpes Simplex Virus type 1 and 2 (HSV-1 and HSV-2) in the women with breast cancer by Multiplex-PCR method. *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility* 2018; 21(3):39-44.
21. Hosseinpouri P, Hejazi SH, Hadi F. Relationship between human papillomavirus and breast cancer in women with this cancer in Khuzestan province. *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility* 2020; 23(8):66-74.
22. Salahshor Z, Hejazi H, Hadi F, Saeedi Z. the study of relationship between epstein-barr virus and breast cancer in isfahan province. *Iranian Journal of Breast Diseases*. 2018 Sep 10;11(2):16-24.
23. Kamińska M, Ciszewski T, Łopacka-Szatan K, Miotła P, Starosławska E. Breast cancer risk factors. *Menopause Review/Przegląd Menopauzalny* 2015; 14(3):196-202.
24. Delgado-García S, Martínez-Escoriza JC, Alba A, Martín-Bayón TA, Ballester-Galiana H, Peiró G, et al. Presence of human papillomavirus DNA in breast cancer: a Spanish case-control study. *BMC cancer* 2017; 17:1-11.
25. Keyvani H, Fazlalipour M, Monavari SH, Mollaie HR. Hepatitis C virus-proteins, diagnosis, treatment and new approaches for vaccine development. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2012; 13(12):5917-35.
26. Salehi-Vaziri M, Sadeghi F, Alamsi-Hashiani A, Haeri H, Monavari SH, Keyvani H. Merkel cell polyomavirus and human papillomavirus infections in cervical disease in Iranian women. *Archives of virology* 2015; 160:1181-7.
27. Farrell PJ. Epstein-Barr virus and cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 2019; 14:29-53.

28. Hoover K, Higginbotham K. Epstein-Barr Virus. [Updated 2023 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559285/>
29. Hu H, Luo ML, Desmedt C, Nabavi S, Yadegarynia S, Hong A, et al. Epstein-Barr virus infection of mammary epithelial cells promotes malignant transformation. *EBioMedicine* 2016; 9:148-60.
30. Fina F, Romain S, Ouafik LH, Palmari J, Ayed FB, Benharkat S, et al. Frequency and genome load of Epstein-Barr virus in 509 breast cancers from different geographical areas. *British journal of cancer* 2001; 84(6):783-90.
31. Kalkan A, Ozdarendeli A, Bulut Y, Yekeler H, Cobanoglu B, Doymaz MZ. Investigation of Epstein-Barr virus DNA in formalin-fixed and paraffin-embedded breast cancer tissues. *Medical Principles and Practice* 2005; 14(4):268-71.
32. Dowran R, Joharinia N, Safaei A, Bakhtiyarizadeh S, Alidadi Soleimani A, Alizadeh R, et al. No detection of EBV, BKV and JCV in breast cancer tissue samples in Iran. *BMC research notes*. 2019 Dec; 12(1):1-5.
33. Kadivar M, Monabati A, Joulaei A, Hosseini N. Epstein-Barr virus and breast cancer: lack of evidence for an association in Iranian women. *Pathology & Oncology Research* 2011; 17:489-92.
34. Huo Q, Zhang N, Yang Q. Epstein-Barr virus infection and sporadic breast cancer risk: a meta-analysis. *PloS one* 2012; 7(2):e31656.
35. Amarante MK, Watanabe MA. The possible involvement of virus in breast cancer. *Journal of cancer research and clinical oncology* 2009; 135:329-37.



Epstein-Barr virus (EBV) frequency in tissue samples of women with breast cancer in Mashhad, Iran

Ahmad Tafaghod¹, Samaneh Sajjadi², Mohammadhossein Taherynejad³, Hassan Mehrad- Majd⁴, Sahar Ravanshad^{5*}

1. Resident, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
2. Assistant professor of Blood and Cancer of Adult, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
3. Medical Student, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
4. Assistant Professor of Molecular Medicine, Cancer Molecular Pathology Research Center, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
5. Assistant professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Received: Nov 27, 2023 Accepted: Feb 24, 2024

Abstract

Introduction: Breast cancer is one of the most common cancers in the world that its incidence rate has increased over the last decade. Although the causes and risk factors of breast cancer are not fully known, studies have been reported on the relationship between breast cancer and viral agents, including the Epstein-Barr virus (EBV). Therefore, the present study was performed with aim to explore the correlation between EBV and breast cancer.

Methods: In this cross-sectional study which was conducted using breast tissue pathology samples collected from Mashhad hospitals between 2017 and 2022, 30 paraffin tissue samples from breast cancer patients and 33 paraffin tissue samples as a control group from benign breast diseases were collected. After the DNA extraction processes, the EBV virus was tested by polymerase chain reaction (PCR). Data analysis was done using SPSS software (version 20) and Chi-square, Fisher's exact and t-test. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: According to the PCR results of 63 tissue biopsy samples, none of the malignant and control group samples were EBV-positive.

Conclusion: The presence of the EBV virus gene was not confirmed in a group of women with breast cancer in Mashhad. However, further studies with a larger sample size are needed to validate the results.

Keywords: Breast Cancer, Epstein-Barr Virus, Polymerase Chain Reaction

► Please cite this article as:

Tafaghod A, Sajjadi S, Taherynejad M, Mehrad- Majd H, Ravanshad S. Epstein-Barr virus (EBV) frequency in tissue samples of women with breast cancer in Mashhad, Iran. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2024; 26(12):30-38. DOI: 10.22038/IJOGI.2024.77354.5965

