دراسة فايروسيه و نسجيه للدمامل الجلدية wart المعزولة من مستشفى مرجان التعليمي /بابل

نسرين كاظم راضي

كليه العلوم للبنات- جامعه بابل

NesreenBio@gmail.com

الخلاصة

تم فحص ٤٠ مقطع نسيجي لعينات مصابه بالثاليل جمعت من مستشفى مرجان التعليمي /بابل. تم تشخيص الثاليل من قبل الطبيب المختص وبالاعتماد على الخصائص المرضيه في النسيج وتم فحص الفيروس الحليمي البشري Human papilloma virus(HPV 6 &11) باستخدام تقنيه التهجين الموضعي ذات الحساسيه العاليه لدنا الفيروسي in situ hybridization(ISH) حيث كانت نسبه الاصابه بالفيروس الحليمي البشري نمط ٦ و ١١ ٦٠% للاشخاص المصابين بالثاليل الجلديه وبعمر اقل من ٢١ سنه وبنسبه (40 %)من المصابين بالثاليل كانت للنوع التناسلي Genital wart, نسبه (٣٠ %) يسببها النوع الشائع common wart .

الكلمات المفتاحية: الفيروسا الحليمي البشري، الثاليل الشائعة، التهجين الموضعي ذات الحساسية العالية (ISH)

Abstract

forty sample was collected from marjan hospital ,The examination was done by using light microscope according to dermatologist manifestation depending on the histological and pathological features, The Human papilloma viruses type 6,11 were diagnosed by using in situ hybridization(ISH) technology. the results show that:. Heights percent 60% of patients with HPV type 6,11 were occur at age group less than 21 years, (30%) of patient who had common wart, meanwhile, (40%) of patient had genital wart on their genital area .

Keywords:HPV, commen wart, insituhybridization (ISH), Genital wart.

المقدمة

الثاليل Warts:-زوائد او تراكيب تنشا من البشره و الغشاء المخاطي نتيجه لاصابتها بفيروس الورم الحليمي البشري(HPV)Human papillomavirusوهي مجموعة متنوعة من الفيروسات التي تمتلك الحامض النووي منقوص الاوكسجين ثنائي الشريط (dsDNA)،والتي تصيب الجلد والأغشية المخاطية للإنسان ومجموعة من الحيوانات. (Winer *etal*,2005)

وهناك أكثرمن ٢٠٠ نوع من فيروس الورم الحليمي ا لبشري. يمتلك الفيروس الحليمي البشري نمطين الاول عالي الخطورة مثل (HPV 16,18,33,35) حيث غالبا ماتسبب هذه الانواع أورام سرطانية خطيرة و النوع الثاني واطئ فهو الخطورة مثل (HPV type 6,11) وتسبب دمامل جلدية حميدة. وفيروسات الورم الحليمي المقترنة بظهور الدمامل الشائعة تنتقل عن طريق التلامس الجلدي بين شخص المصاب وغيره و قد ينقل المصاب العدوى الى اماكن اخرى في جسده.(Winer *etal*,2005)

وهناك ٣٠ نوع من هذه الفيروسات يتم انتقالها تناسلياً.ان فيروس الورم الحليمي البشري التناسلي شائع الانتشار، نحو ٧٥% من النساء (بالغرب) يتعرضن للعدوى من واحد أواكثرمن أنواع فيروس الورم الحليمي البشري التناسلي خلال حياتهن (Baseman and Koutsky, 2000)

توجد انواع مختلفه من الثاليل مثل ثؤلول شائعCommon Warts يتصف بانتفاخ خشن وقاس يظهر غالبا على اليد والارجل, ثؤلول إخمصي، باطن القدم planter wart،وهوشبيه بالثؤلول الشائع, ثؤلول تحت الظفر وثؤلول حول الظفر., ثؤلول مسطح plane wartوغالباًمايوجدعلى الذراع والوجه والجبهة.

الثآليل الشائعة تكثرلدى الأطفال والشباب. اما في حالة الاشخاص ذوي أجهزة مناعةسليمة فإن الثآليل المسطحة لا تتطورإلى الامراض السرطانيه., الثاليل الخيطيه filiform.زوائد طويله ورفيعه تظهر غالبا على الوجه, الثاليل اللحميه cauliflower وتظهر في اليد, الثآليل التناسلية أوالشرجية condylomata acuminata or (venereal warts)هي أبسط دليل على حدوث عدوى HPVالفيروس الحليمي البشري.بين الازواج وبالرغم من أنعدد كبيرمن أنواع الفيروس قد تسبب الثآليل التناسلية،إلاأن النوعين ٦، ١١ يسببان نحو ٩٠% من الحالات السابقه(Gearheart *etal*, 2004; Leung ,2011)

in situ hybirdisation (ISH)هو تقنيه تتيح نوع من التفاعل عند استخدام شريط دنا اورنا مكمل معلم بمجس لتحديد موقع تسلسل حامض نووي معين في مقطع نسيجي مصاب او في بروتين صغير جدا كبذور النباتات وللكشف عن المسببات المرضية في اجنه الحشرات حيث يستخدم هذا الفحص لدراسه الامراضيه لكثير من الأحياء ألمجهريه .(Jin and Lloyd,1997)

اهداف البحث

١-دراسه التاثيرات المرضيه التي يسببها الفيروس الحليمي البشري HPV في النسيج .

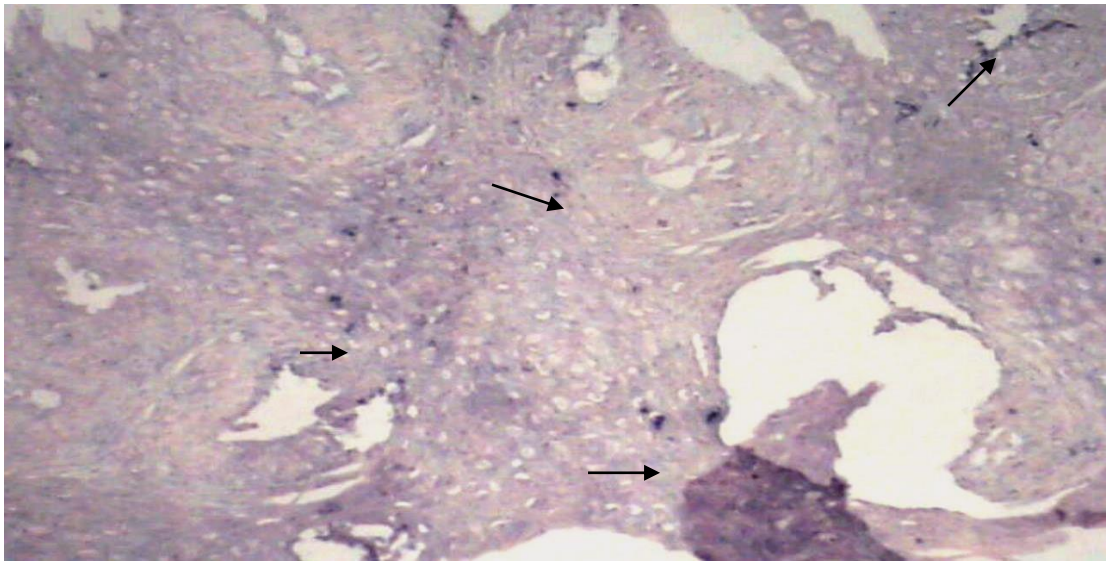
٢-الكشف عن انواع الثاليل التي يسببها النوعين ٦و ١١ للفيروس الحليمي البشري HPV (low rick- cancer)

المواد وطرائق العمل

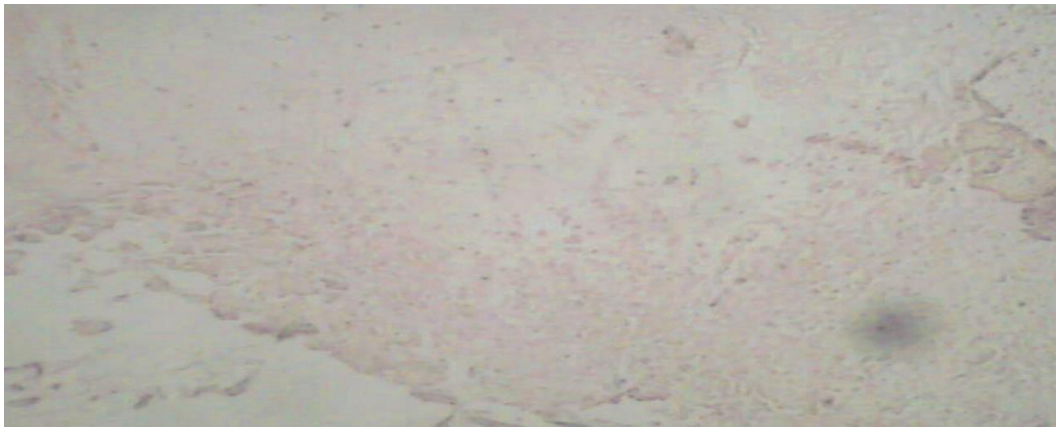
تم جمع ٤٠ عينه من المرضى المصابين بالثاليل الجلديه Viral wart من العيادات الاستشارية الجلدية من مستشفى الحله الجراحي ومستشفى مرجان بواسطة اخذ الخزع ألنسيجيه وتم التشخيص الفيروس بالنسيج بالاعتماد على الخصائص المظهرية وتم تشخيص الفيروس الحليمي البشري HPV نمط6,11 بالفحص المجهري باستخدام تقنيه التهجين الموضعي (in situ hybridization ISH in situ) حيث حضرت المقاطع النسيجيه واضيف لها التسلسل الحامض النووي الفيروسي المرتبط بالمجس لتشخيص11& 6 HPV يشير اللون البنفسجي الغامق لوجود الدنا الفيروسي في النسيج المصاب . طريقه العمل تمت وفقا لتعليمات ألشركه ألمنتجه .(Maxim Biotech Inc. USA)

النتائج والمناقشة

التشخيص لفيروس(11& 6 HPV) 6,11 Human papilloma virus Types باستخدام تقنيه التهجين الموضعي (ISH) in situ hybridization



صوره ١:- نتيجه موجبه لفحص in situ hybridization (ISH) حيث تشيرالصبغه الزرقاء(الأسهم)لوجود الدنا لفيروس HPV 6,11



صورة ٢:-نتيجه سالبه لفحص in situ hybridization (ISH) عدم وجود الدنا للفيروس HPV.

بينت النتائج وجود النوعين ١١ و٦ لفيروس الHPV في المقاطع النسجيه التي فحصت باستخدام تقنيه in situ hybridization حيث كان الفحص موجب للنوعين ٦ و١١ في 60% العينات وهذا يتفق مع ماجاء به (Fierlbeck *etal*,. ١٩٩٢)

كما بين هذا الفحص وجود الخلايا الموجبه positive cell للفحص تتواجد بشكل رئيسي بالطبقات العليا من نسيج ألطلائي البشري squamous epithelium وهذا يتفق مع ما جاء به(siti *etal*,.2000)

وضحت نتائج هذا البحث ان احد ى النقاط التشخيصيه الاساسيه لفحص in situ hybridization ان الدنا لفيروس HPV موجود في الكثير من الخلايا وليس فقط في خلايا الkoilocytes وكنيجه لذلك فعند غياب ال koilocytes في النسيج لايعني بالضروره عدم وجود اصابه للفيروس الحليمي البشري HPV.,وقد يعود السبب في ذلك ازاله المجس بسبب الغسل الشديد اثناء خطوات الفحص وبالاخص عند استخدام اكثر من مجس واحد

يفحص انواع معينه لعائله HPV يعطي اكثرمن اشاره لونيه في النسيج Nuovo and Friedman 1990 (and Guo *etal*,.2008)

علاقه نسبه الاصابه بالمرض مع نوع الثاليل و نوع الفيروس الحليمي البشري HPV type 6&11

جمعت ٤٠عينه من المقاطع النسجيه لبشره المرضى بالثاليل الجلديه من مستشفى مرجان التعليمي وحيث سجل النوع التناسلي اعلى نسبه بلغت% 40 (١٦ حاله) للاصابه بالفيروس الحليمي البشري HPV 6 &11 حسب ماورد في جدول رقم(١)

جدول(١):-علاقه نوع الثاليل مع نوع الفيروس الحليمي البشري ٦ و ١١

نوع المرض	العدد والنسبة المؤيه %	HPV type 6	HPV type 11
Common wart Verruca vulgaris	(30%)12	-	-
Filiform wart Verruca vulgaris	(5%)2	-	-
Flat wart Verruca plana	(5%)2	-	-
Oral wart	(20%)8	+	+
Genital wart Condyluma acuminata	**(40%)16**	+	+

من جدول(١) لوحظ ان نسبه ٤٠% للاصابه بالفيروس الحليمي البشري نوع ٦ و ١١ كان للنوع التناسلي Genital wart والاسم الاتيني له condylumata acuminata حيث ذكرت الكثير من الدراسات ان الفيروس HPV 6 ,11 يسبب الثاليل التناسليه لدى الذكور والاناث وقد تتطور الى اوراما خطيره ويحدث انتقال الفيروس عند الاطفال في حاله وجود اصابه فى احد افراد العائله حيث سجلت الدراسه وجود اربع حالات لامهات مصابه بالثاليل وهذا ما اتفق عليه (Kellokoski *etal*,.١٩٩٢)

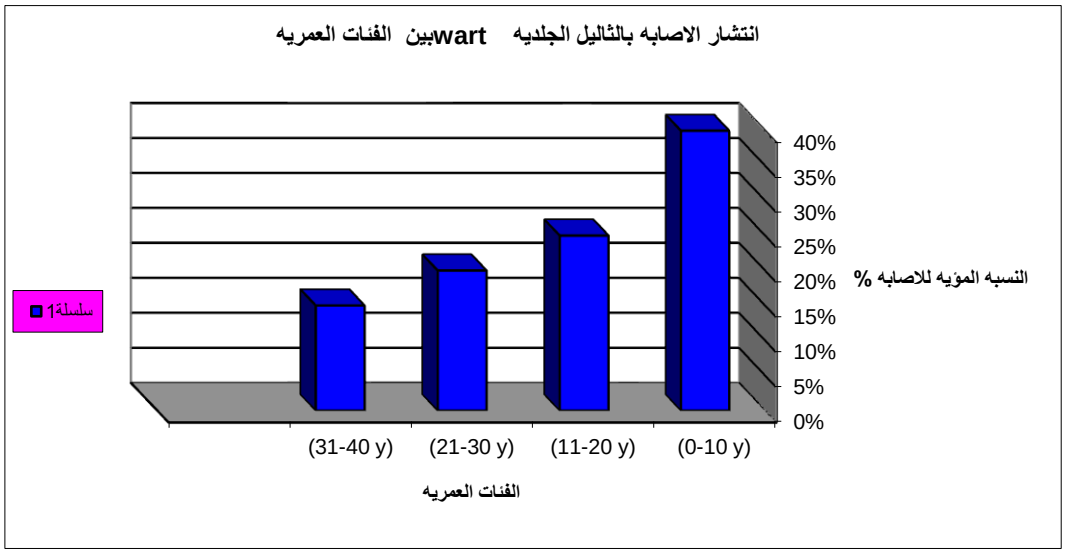
سجل النوع الشائع نسبه اصابه ٣٠% وهي نسبه عاليه بالمقارنه مع الانواع الاخرى السالبه لفحص الISH الخاص للكشف عن وجود النوعين ٦ و ١١ للفيروس الحليمي البشري HPV حيث غالبا مايصيب اليد والساق ويسببه في الغالب النوع HPV 2,١ وهذا يتفق مع (Kilkenny and Marks ,.1996)

من جدول رقم ١ لوحظ ان نسبه ٥% للاصابه بالثاليل كانت للنوع المسطحplane wart الذي يعتبر من اكثر الانواع خطوره وغالبا مايظهر في مناطق حساسه كالوجه والرقبه اوالصدر مما يزيد في صعوبه العلاج حيث اظهر نتيجه سالبه لفحص ISH الخاص بفيروس HPV 6 ,11 اذ غالبا ما يسببه النوع ١٠و ٣ HPV واحيانا٢ HPV هذا يتفق مع (de Villiers ,٢٠٠٩)

وقد يشترك وجود نوعين اواكثر من الثاليل في الظهور على جسد المريض كما في حاله ثاليل الفم والوجه والنوع المسطح مع وجود النوع التناسلي condylumata acuminate ويمكن تفسير ذلك باحتمال حدوث التلقيح الذاتي للمريض حيث بينت العديد من الدراسات وجود علاقه بين الاصابه بالثاليل الفمويه والاصابه بالثاليل التناسليه في نفس المريض و التي يسببها النوع ٦و١١ لعائله الفيروس الحليمي البشري HPV وهذا يتفق مع ما جاء به (Anic and Giuliano,2011 ;Kellokoski *et al*,.;١٩٩٣, Rintalla *et al*,.2006)

توزيع الاصابه بالثاليل الفيروسيه حسب الفئات العمريه

تم جمع ٤٠ عينه من المرضى المصابين بالثاليل(viral wart) من العيادات الجلديه الاستشاريه في مستشفى مرجان حيث كانت نسبه الاصابه ٦٠% للمرضى دون عمر ٢١ سنه كما في(شكل ١)



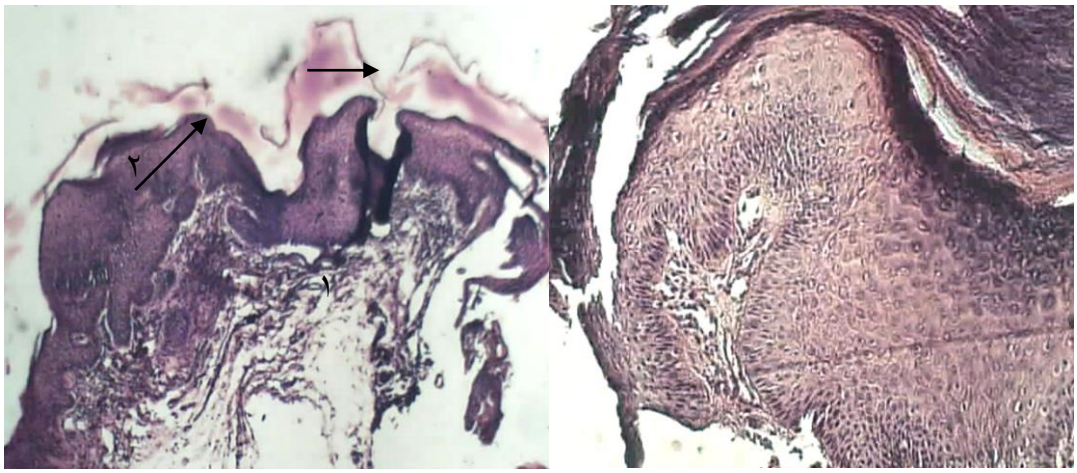
.شكل(١) : توزيع الاصابه بالثاليل الجلدية حسب الفئات ألعمريه

بينت الدراسه ان اعلى نسبه للاصابه كانت للاطفال والمراهقين وهذا يتوافق مع ماجاءت به دراسه (Leiding and Holland,2012 ; Williams *etal*,.1993)

ويصاب الأطفال بالثآليل الجلدية أكثر من البالغين، ويعتقد أن أحد أسباب الإصابة الرئيسية يعود لنقص في المناعة النسيجية للجسم، أو لتعرض الجسم لأشعة الشمس الشديدة واشعه(UV light). وتشير الدراسات إلى أن نسبة الإصابة بالثآليل الجلدية تتراوح ما بين ٢٠-٣٠% بين طلاب المدارس في مختلف بلدان العالم. (Haalen,*etal*,2009)

التغيرات النسيجيه التي تحدث في الجلد نتيجه الاصابه بHuman papilloma virus المسبب للثاليل الجلديه(Viral wart)

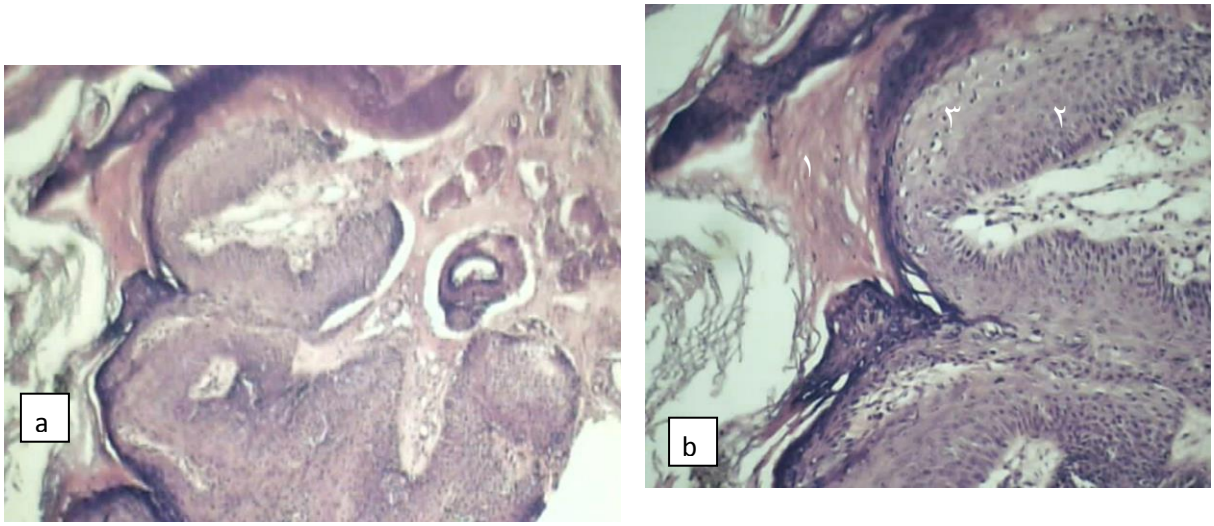
تظهر المقاطع النسيجيه في حاله الثاليل نوع الشائع common wart,f والخيطي filiform wartوالتناسلي Genital wart الطبقه المتقرنه من الادمه وتحتها مع وجود hornفي قمه الثاليل وتعدد طبقات الادمه المتقرنهacanthosishyperkeratosis, وتوسع الطبقه الغديه hypergranulosis والاورده الدمويه مع استطاله النسيج وتشابك الادمه مع البشره elongation rete ridge.وهذا يتفق مع ماجاء به كل من ; (Nuovo and Ishag,2000 Liu *etal* ,2010 ; Ray *etal,*2015)



a

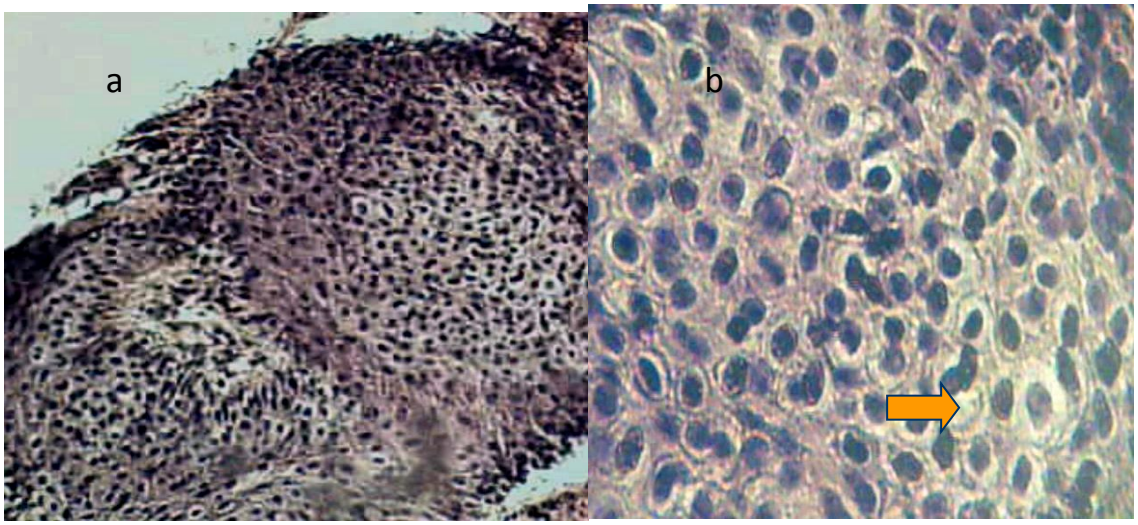
صوره ٣ :- مقطع لبشره شخص مصاب بالثاليل النوع الشائع common wart حيث نلاحظ سمك طبقه الكيراتين الاسهم ووجود الحليمات papillomatous رقم ١ مع وجود الخلايا المسماه ب Koliocyte الاسهم ذات نواه صغيره محاطه بتجويف طرفي رقم ٢ .(صبغه هيماتوتوكسيلين –ايوسين a4x,b10x)

من صوره ٣ يمكن ملاحظه النوع الشائع verruca vulgaris حيث يمتاز بخصائص نسجيه مرضيه تختلف عن الانواع الاخرى كظهور بشره متضاعفه مع نشوء الحليمات المتطاوله papillomatous مع حدوث ازدياد في الطبقه الغديه وتقرن الطبقات الخارجيه من البشره parakeratosis وان وجود خلايا الفجويه vaculated keratinocyte s وتسمى ايضا بkoilocytes يمثل صفه مميزه للنسيج حيث تكون نواة الخليه طرفيه الموقع وصغيره محاطه بتجويف طرفي وهذا يوافق مع ما جاء به (Mckee *etal*,.2012)



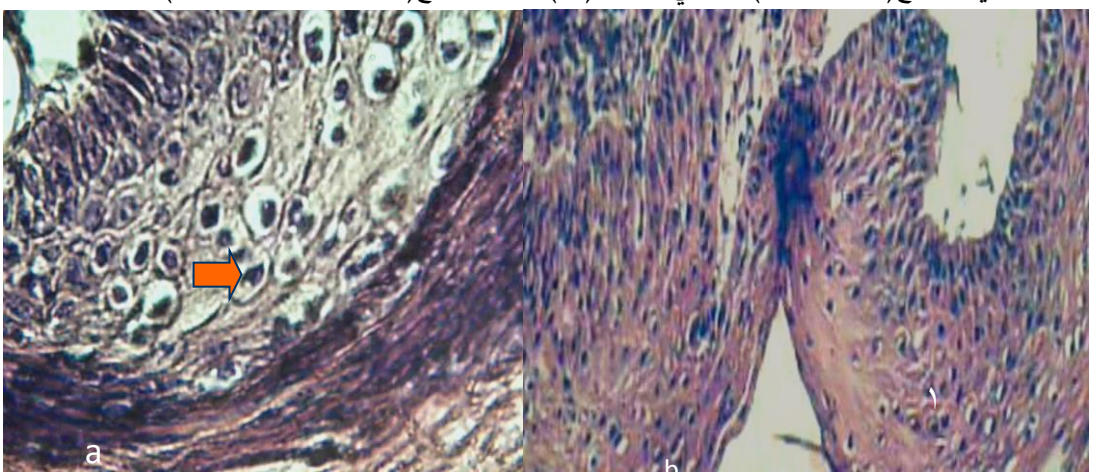
صوره ٤ :مقطع مستعرض لبشره شخص مصاب بالثاليل الخيطيه filiform يمكن ملاحظه طبقه الكيراتين رقم١والحليمات papillomatus رقم ٢ ووجود خلايا الKoliocytes رقم ٣(صبغه هيماتوتوكسيلين-ايوسين a4x,b10x)

من صوره ٤ b و a لوحظت الخصائص المرضيه النسجيه للنوع الخيطي Filiformوالاسم الاتيني له verruca vulgaris وهي شبيهه للخصائص النسجيه للنوع الشائع باستثاء ظهورفي بعض الاحيان نزف دموي في الطبقات العليا في البشره وهذا يتفق مع ما جاءبه (Mckee *etal*,.2012)



صوره ٥ :- مقطع مستعرض لبشره شخص مصاب بالثاليل المسطحه plane wart يمكن ملاحظه ووجود خلايا الKoliocytes السهم b ذات انويه مركزيه الموقع (صبغه هيماتوتوكسيلين-ايوسي a10 x, 40b x)

يمتاز النوع المسطح (verruca plana) Flat wart بانه يكون اقل ارتفاعا عن سطح الجلد من النوع الشائع ويظهر بشكل مجاميع او مفرد زاحف على الوجه غالبا او على الذراع حيث يمتاز بخصائص نسيجيه شبيه باللانواع الأخرى باستثناء عدم وجود الحليمات المتقرنه papillomatous وتكون الخلايا المسماه ال Koliocytes ذات انويه مركزيه الموقع(eye bird) كما في صوره (٥)وهذا يتفق مع(de Villiers ,٢٠٠٩)



صوره ٦ :- مقطع مستعرض للثاليل اتناسليه Genital wart يمكن ملاحظه ووجود خلايا الKoliocytes سهم a ذات انويه قرصيه الشكل sickle shaped nuclei (صبغه هيماتوتوكسيلين-ايوسي ن a 40 x , b 10 x)

من صوره ٦ a,b لوحظت الخصائص النسجيه المرضيه للنوع التناسلي Genial wart condylumata acuminate ووجود الحليمات papillomatous مع وجود ازدياد في الطبقه الغديه ووجود الخلايا الحرشفيه و التي تسمى koilocytes ذات تجاويف تمتلك انويه طرفيه قرصيه حيث تصبح شبيه بالجمجمه sickle shaped nuclei.وهذا يتفق مع ما جاء به (Veasey *etal*,. 2014)

نستنتج من الدراسه الحاليه:-

ان الصفه التشخيصيه الاساسيه للفيروس الحليمي البشري HPV في الدراسه النسيجيه هي وجود الخلايا (koilocytesخلايا ذات انويه طرفيه محاطه بتجويف خالي من السايتوبلازم)في النسيج ,تصاب النساء والاطفال بالفيروس الحليمي البشري نمط 6,11 HPV type واطى الخطوره(low rick cancer بنسب كبيره مسببا انواع من الثاليل التناسليه والفمويه الحميده واحيان قد تتطور الى اوراما سرطانيه خطيره.قله عدد المرضى الاصغر من عمر ١سنه بسبب طول فتره الحضانه للفيروس والتي تبلغ من اسبوعين الى ٦-٨ اشهر ,استخدام تقنيه ال ISH كفحص تعزيزي للتحري عن الفيروس الحليمي البشري HPV نمط ٦ و ١١ في حاله الاصابه بالثاليل التناسلية ,ضرورة ايجاد دراسات على المستوى الجزيئي للكشف عن وجود مثل هذه الأنواع الفيروسية في المجتمعات السكانيه لمحافظات اخرى من البلد .

References

Anic GM, Giuliano AR. Genital HPV infection and related lesions in men. Prev Med. 2011;53:S36-41.

Baseman J.G. and Koutsky L.A. 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. Journal of Clinical Virology, 32(1): S16-24.

de Villiers EM, Gunst K. Characterization of seven novel human papilloma virus types isolated from cutaneous tissue, but also present in mucosal lesions. J Gen Virol. 2009;90:1999-2004.

Detecting Human Papillomavirus DNA in Tissue Specimensfrom Patients with Cervical Intraepithelial Neoplasia and Cervical Carcinoma J. CLIN. MICROBIOLE Vol. 46, No. 1 ,p: 274–280

Fierlbeck G ,Rassner G ,P fister H:(Condylomata acuminate in children of HPV6l11 and 2.local therapy with interferon-beta hydrogen). Hautarzt 43:148-151

Gearheart P.A., Randall T.C., Buckley R.M.Jr. 2004. Human Papillomavirus. Medicine, December 2004.

Jennifer W. Leiding, MD and Steven M. Holland, Warts and All: HPV in Primary Immunodeficiencies: MD J Allergy Clin Immunol. 2012 Nov; 130(5): 1030–1048.

Jin ,L and Lloyd ,RV(1997).(In situ hybridization :method and applications).j of Clinical laboratory Analysis 11 (1):2-9.

Kellokoski JK,SyrjanenSM,ChangF,etal.1992.Southren blot hybirdisation and PCR in detection of oral human papilloma virus(HPV)infection in women with genital HPV infections .j oral pathol Med 21(10):459-464.

Kilkenny M, Marks R, The descriptive epidemiology of warts in the community. Australas J Dermatol.1996, 37(2):80-86

Leung L. Recalcitrant nongenital warts. Aust Fam Physician. 2011;40:40–2.

Liu B, Lu Z, Wang P, Basang Z and Rao X: Prevalence of high-risk human apillomavirus types (HPV-16, HPV-18) and their physical status in primary laryngeal squamous cell carcinoma. Neoplasma. 57:594–600. 2010.

Mckee PH, J .Calonje JE, Granter SR .2012 (Pathology of skin) fourth edition.

Ming Guo, Yun Gong, Michael Deavers, Elvio G. Silva, Yee Jee Jan, David. Cogdell, Rajyalashmi Luthra, E. Lin, Hung Cheng Lai, Wei Zhang, and Nour Sneig 2008 Evaluation of a Commercialized In Situ Hybridization Assay for Nuovo G, Ishag M. The Histologic Spectrum of Epidermodysplasia Verruciformis. The American Journal of Surgical Pathology 2000; 24(10): 1400-1406.

Nuovo GJ, Friedman D: In situ hybridization analysis of HPV DNA segregation patterns in lesions of the female genitaltract. Gynecol Oncol 1990, 36:256-262

Ray R[1], Bhagat A[1], Vasudevan B[1], Sridhar J[1], Madan R[2], Ray MA Rare Caseof Plantar Epithelioma Cuniculatum Arising from a Wart Indian J Dermatol.2015Sep-Oct;60(5):485-7.

Rintala M, Grénman S, Puranen M and Syrjänen S: Natural history of ora papillomavirus infections in spouses: a prospective Finnish HPV family study. J Clin Virol. 35:89–94. 2006.

Rogers HD, Macgregor JL, Nord KM, et al. Acquired epidermodysplasia verruciformis. *J Am Acad Dermatol* 2009; 60(2): 315-320.

Siti- Aishah M.A. , Isahak I. , Sabil D. , Sahlan F. , Tahir H. Md. , Yahya AA. .2000 Detection of human papilloma virus by using in situ hybridization technique in vulvo-vaginal warts .Malaysian Journal of Medical Sciences, Vol. 7, No. 2, (27-31*)*

Van Haalen FM, Bruggink SC, Gussekloo J, Assendelft WJ, Eekhof JA. Warts in primary schoolchildren: prevalence and relation with environmental factors. Br J Dermatol. 2009;161:148–52.

VeaseyJV, Framil VM Nadal SR..٢٠١٤ (Genital warts: comparing clinical findings to dermato scopic aspects, in vivo reflectance confocal features and histopathologic exam) An Bras Dermatol.;89(1):137-40.

Williams HC, Pottier A, Strachan D. The descriptive epidemiology of warts in British schoolchildren. Br J Dermatol. 1993;128:504–11

WinerRL, Kiviat NB, Hughes JP, Adam DE, Lee SK, Kuypers JM, etal. Development and duration of human papillomavirus lesions, afterinitial infection. J Infect Dis. 2005;191:731–8.