

Relative Frequency of *Human papillomavirus* Genotypes and its Related Characteristics in Women Referred to Alzahra Hospital in Tabriz

Behzad Jamali¹, Sajjad Jamali²

1. Young Researchers and Elite Club, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Department of Laboratory Sciences, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

Article Information

Article history:

Received: 2017/10/28
Accepted: 2018/02/13
Available online: 2018/05/14

Article Subject:

Medical Virology

IJMM 2018; 12(1): 51-60

Corresponding author:

Behzad Jamali
Young Researchers and Elite
Club, Tabriz Branch, Islamic
Azad University, Tabriz, Iran

Tel: 09145179328

Email:

behzad.jamali@ yahoo.com

Use your device to scan
and read the article online



Abstract

Background and Aims: Human papillomavirus (HPV) is one of the major public health problems and the main causes of cervical cancer. The prevalence HPV infection in developing countries with low financial resources is high. This study aimed to determine the relative frequency of HPV genotypes and its sociodemographic characteristics in women referred to a general hospital in Tabriz, Iran from 2015-2016.

Materials and Methods: This cross-sectional study was performed in 400 women with Pap smear samples, referring to a general hospital in Tabriz, Iran from 2015- 2016. The detection of 28 HPV genotypes was performed by using the PCR technique. The sociodemographic survey was conducted for each HPV positive woman.

Results: HPV-positive infection was detected in 155 (38.75%) women aged 17-85 years. HPV 16 (19.1%) was the most prevalent type, followed by HPV 39 (12.5%) and HPV 18 (8.9%). The highest rate of HPV infection was observed at the age of 36 years (7.7%). The level of education and economic situation of each woman were showed most of HPV-positive women had a high school diploma (34.6%) and average economic situation (67.9%). 60.9% of these women were a housewife, and 67.3% lived in the capital .

Conclusions: Determination of HPV genotype and risk factor related to HPV infection in each geographical region can lead to the production of effective vaccines against the HPV virus. It can also be useful for disease management and high sensitivity diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia.

Keywords: *Epidemiology , genotypes , papillomaviridae, Cervical Cancer*

Copyright © 2018 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Jamali B, Jamali S. Relative Frequency of *Human-papillomavirus* Genotypes and its Related Characteristics in Women Referred to Alzahra Hospital in Tabriz. Iran J Med Microbiol. 2018; 12 (1): 51-60



فراوانی نسبی ژنوتیپ‌های ویروس پاپیلوما‌ی انسانی و خصوصیات مرتبط با آن در زنان مراجعه کننده به بیمارستان الزهراء تبریز

بهزاد جمالی^۱، سجاد جمالی^۲

۱. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۲. گروه علوم آزمایشگاهی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و هدف: ویروس پاپیلوما انسانی (HPV) یکی از مهمترین مشکلات بهداشت عمومی و عامل اصلی سرطان دهانه رحم است. عفونت HPV در کشورهای در حال توسعه با منابع مالی کم، شیوع زیادی دارد. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی نسبی ژنوتیپ‌های HPV و خصوصیات مرتبط با آن در زنان مراجعه کننده به یکی از بیمارستان‌های عمومی شهر تبریز انجام شده است.

مواد و روش کار: این مطالعه مقطعی روی ۴۰۰ زن با نمونه پاپ اسمیر، مراجعه کننده به یک بیمارستان عمومی در تبریز از شهریور ۱۳۹۴ تا شهریور ۱۳۹۵ انجام شد. شناسایی ژنوتیپ ۲۸ ویروس پاپیلوما انسانی (HPV) با استفاده از روش PCR انجام شد.

یافته‌ها: عفونت HPV مثبت در ۱۵۵ زن (۳۸/۷۵٪) در محدوده سنی ۱۷ تا ۸۵ سالگی تشخیص داده شد. شایع ترین نوع، HPV-۱۶ (۱۹/۱٪) بود که به دنبال آن HPV-۳۹ (۱۲/۵٪) و HPV-۱۸ (۸/۹٪) بود. بالاترین میزان عفونت HPV در سن ۳۶ سالگی (۷/۷٪) مشاهده شد. سطح تحصیلات و وضعیت اقتصادی هر زن نشان داد که بیشتر زنان مبتلا به HPV دیپلم (۳۴/۶٪) داشته و وضعیت اقتصادی متوسطی (۶۷/۹٪) دارند. ۶۰/۹٪ از این زنان خانه دار بودند.

نتیجه گیری: تعیین ژنوتیپ HPV و عوامل خطر مرتبط با عفونت HPV در هر منطقه جغرافیایی می تواند منجر به تولید واکسن‌های موثر بر ویروس HPV شود. همچنین می تواند برای مدیریت بیماری و تشخیص حساسیت بالای نوپلازی داخل اپیتلیال سرویکس مفید باشد.

کلمات کلیدی: اپیدمیولوژی، ژنوتیپ، پاپیلوما ویریده، سرطان دهانه رحم

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۰۶
پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۴
انتشار آنلاین: ۱۳۹۷/۰۲/۲۴
موضوع:
ویروس شناسی پزشکی
IJMM1397;12(1): 51-60
نویسنده مسئول:

بهزاد جمالی
باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان،
واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز،
ایران
تلفن: ۰۹۱۴۵۱۷۹۳۲۲۸

پست الکترونیک:
behzad.jamali@yahoo.com

مقدمه

افزایش دهنده یا مستعدکننده خطر بروز سرطان دهانه رحم معرفی شده‌اند. عفونت با ویروس پاپیلوما انسانی (HPV) با ریسک بالا مهم ترین فاکتور ایجادکننده سرطان سرویکس است (۱). این امر در کشورهای در حال توسعه با منابع مالی کم، چالش توجه برانگیزی است (۲). HPV یکی از اعضای خانواده پاپیلوما ویریده است که به گروه‌های HPV خطرناک، احتمالاً خطرناک و کم خطر تقسیم می‌شود. تاکنون، توالی ۱۵۰ نوع HPV مشخص شده است. با توجه به مطالعات انجام شده، عفونت‌های مداوم HPV می‌تواند به سرطان دهانه رحم منجر شود. مشخص شده است که برخی از

سرطان دهانه رحم شیوع جهانی دارد و شایع ترین نوع سرطان در کشورهای در حال توسعه به‌شمار می‌رود. از نظر فراوانی دومین سرطان شایع بین زنان است و سالانه بیش از ۴۰۰ هزار مورد از این بدخیمی در جهان گزارش می‌شود که ۱۲٪ سرطان‌های شایع بین زنان است. تاکنون عوامل متعددی به منظور تعیین میزان تاثیر یا دخالت آنها در پیدایش سرطان دهانه رحم بررسی شده‌اند که مواردی مثل استعمال دخانیات، مصرف داروهای ضدبارداری، حاملگی، نوع تغذیه، بی بندوباری جنسی و بیماری‌های منتقل شده از طریق تماس جنسی به‌عنوان عوامل

کرده بودند. زنانی که در دوره قاعدگی یا بارداری بودند یا سابقه واکسیناسیون HPV داشتند، از مطالعه حذف شدند.

با تمام شرکت کنندگان از لحاظ سطح تحصیلات، ویژگی‌های جامعه‌شناختی، سن، ازدواج یا یائسگی، روش‌های پیشگیری از بارداری، بیماری‌های زمینه‌ای، سابقه بیماری‌های منتقل شده از راه جنسی، سابقه سیگار کشیدن و سابقه جنسی یا تولید مثلی خود مصاحبه شد سپس روی آنها معاینات ژنیکولوژیک و آزمون پاپ اسمیر انجام شد.

ابتدا نمونه‌ها برای آنالیزهای مولکولی به منظور استخراج DNA، با استفاده از تیغ‌های یک بار مصرف از هر بلوک پارافینی به صورت برش‌های نازک بافت از افراد منتخب تهیه و در لوله‌های اپندورف ۲ میلی‌لیتری جمع‌آوری شد. برای پیشگیری از هر گونه آلودگی برای هر نمونه از وسایل یک بار مصرف استفاده شد. این فرآیند زیر هود بیولوژیک Biosafety class II انجام شد. برای حذف پارافین، نمونه‌ها در مجاورت xylene به مدت یک شب در انکوباتور شیکردار و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس یک بار دیگر نیز xylene تازه به آنها اضافه شد تا در نمونه‌ها اثری از پارافین باقی نماند و طی سه مرحله شست‌وشو با اتانول مطلق ۹۰٪ و ۷۰٪ xylene از نمونه‌ها حذف شد.

نمونه‌ها به مدت چند ساعت در گرم‌خانه ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند تا کاملاً خشک شوند. سپس عمل هضم بافت با استفاده از بافر هضم [50 mM Tris (pH 8.5), 1mM EDTA, 0.5% Tween 20 دارای آنزیم proteinase K با غلظت 200 µg/ml و بعد از آن با استفاده از روش استخراج فنل - کلروفرم جداسازی DNA انجام شد. برای رسوب DNA از اتانول مطلق سرد استفاده و DNA استخراج شده تا انجام PCR در فریزر -۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شد. برای کنترل کیفی استخراج DNA و بررسی کیفیت قطعات DNA جدا شده از بافت‌های آزمایش از روش PCR، با استفاده از جفت پرایمرهای (PCO3: 5'-ACACAACTGTGTTCACTAGC-3' و PCO4: 5'-CAACTTCATCCACGTTCCACC-3') بهره گرفته شد که قطعه‌ای به طول 110 bp را از ژن β-globin انسانی تکثیر می‌کنند. نمونه‌هایی که از نظر وجود ژن β-globin مثبت بودند، برای انجام HPV-PCR انتخاب شدند. برای انجام PCR برای تشخیص HPV-DNA از جفت پرایمرهای زیر:

GP5⁺ (5' TTTGTTACTGTGGTAGATACTAC3') و GP6⁺ (5' GAAAAATAAA CTGTAAATCATATT3') استفاده شد که قطعه‌ای به طول 150 bp را از ناحیه LI-ORF

انواع پرخطر HPV مثل HPV ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳، ۳۵، ۳۹، ۴۵، ۵۱، ۵۲، ۵۶، ۵۸، ۵۹، ۶۶، ۶۸ و ۷۰ نقش موثری در بروز سرطان دهانه رحم می‌توانند داشته باشند (۳). در کشورهای مختلف مطالعات به نسبت زیادی از لحاظ فراوانی و ژنوتیپ‌های ویروس پاپیلوما انسانی انجام شده است که این مطالعات نشان می‌دهند شیوع ژنوتیپ‌ها در کشورهای مختلف، اکثراً متفاوت است. در متاآنالیزی که Bruni و همکاران انجام دادند، شیوع جهانی HPV ۱۱/۷٪ بود. براساس این مطالعه شیوع HPV در جنوب صحرای آفریقا ۲۴ درصد، اروپای شرقی ۲۱/۴٪ و آمریکای لاتین ۱۶/۱٪ بود (۴). براساس تحقیقات انجام شده در سال ۲۰۱۲ در ایران؛ شیوع عفونت HPV در زنان ۷٪ بود (۵). در میان انواع مختلف HPV که در ایران دیده می‌شود، شیوع HPV-۱۶ و HPV-۱۸ به ترتیب ۷/۳٪ و ۲/۸٪ است (۶). وضعیت اجتماعی - اقتصادی، سطح تحصیلات، زندگی در مناطق محروم و آداب و رسوم منطقه ای تاثیر بسیاری بر میزان آلودگی به HPV دارند (۷). سیگار کشیدن، مصرف الکل و سابقه جنسی زنان، بعضی از عوامل خطر مهم برای کسب عفونت HPV هستند. تشخیص HPV و برنامه غربالگری سازمان می‌تواند استراتژی ضروری برای درمان سرطان دهانه رحم باشد. بنابراین ارائه روش‌های دقیق و سریع برای تشخیص و شناسایی HPV بسیار مفید و کمک‌کننده خواهد بود. با شناسایی عوامل خطر درگیر در عفونت HPV و با توجه به آداب و رسوم و عادت‌های هر منطقه خاص، روش‌های پیشگیری موثر و تشخیص سریع عفونت HPV می‌تواند به دست آید. این می‌تواند به ما کمک کند تا از میزان شیوع HPV در جامعه بکاهیم. بیشتر مطالعات انجام شده در زمینه شیوع HPV در ایران فقط بر تعیین انواع HPV متمرکز شده‌اند. با این وجود، در این مطالعه، اطلاعاتی راجع به مشخصات اجتماعی و اقتصادی جمعیتی علاوه بر فراوانی نسبی HPV بررسی شد. هدف اصلی این مقاله، شناسایی فراوانی ژنوتیپ‌های HPV و بررسی عوامل خطر مرتبط با عفونت HPV در شهر تبریز است.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری مطالعه

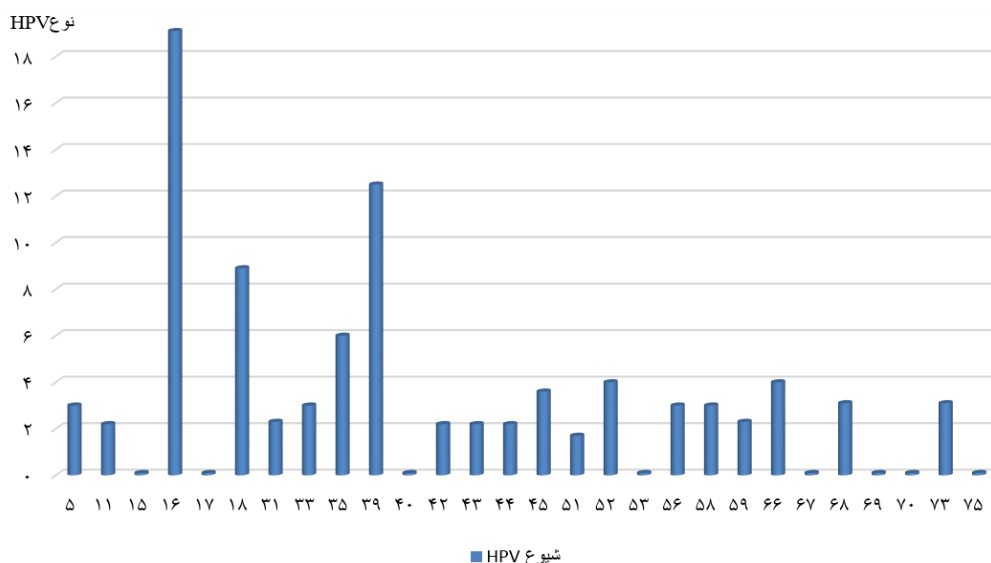
مطالعه حاضر مطالعه‌ای مقطعی بود که برای شناسایی فراوانی ژنوتیپ‌های HPV و بررسی عوامل خطر مرتبط با عفونت HPV در زنان مراجعه‌کننده به مرکز آموزشی و درمانی الزهرای تبریز انجام شد. جامعه هدف، زنان مراجعه‌کننده به مرکز آموزشی و درمانی الزهرای تبریز بودند که از شهریور ۱۳۹۴ تا شهریور ۱۳۹۵ برای مراقبت‌های بهداشتی و درمانی به این مرکز مراجعه

متغیرهای کمی با میانگین \pm SEM بررسی شدند و شیوع ویروس نوع HPV با استفاده از توزیع فراوانی خلاصه شد.

یافته‌ها

اجرای فرآیند PCR درباره ژن β -globin نشان داد که تمامی نمونه‌ها از نظر کیفیت DNA جدا شده در وضعیت مطلوب بوده و برای اجرای HPV PCR مناسب هستند. از ۴۰۰ نمونه بافت سرطانی جدا شده از بیماران، ۱۵۵ نمونه (۳۸/۷۵٪) مثبت بودند و ۲۴۵ مورد (۶۱/۲۵٪) از نمونه‌ها در آزمایش HPV PCR نتیجه منفی نشان دادند.

میانگین سنی بیماران ۴۰/۴۷ سال و همگی در محدوده سنی ۲۰ تا ۸۰ سال قرار داشتند. همچنین میانگین سن منارک و ازدواج در زنان مبتلا به HPV به ترتیب $1/57 \pm 13/28$ و $4/96 \pm 19/38$ سال بود و ۷۰/۴٪ از آنها، تا زمانی که این مطالعه در حال انجام بود، یائسگی را تجربه نکرده بودند. میانگین سن یائسگی در زنان HPV مثبت، $6/93 \pm 47/29$ سال بود. بیست و هشت نوع مختلف HPV تشخیص داده شد. یافته‌ها حاکی از حضور ژنوتیپ‌های ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۳۹، ۴۰، ۴۳، ۴۶، ۴۹، ۵۳، ۵۶، ۵۹، ۶۸، ۷۰، ۷۳ و ۷۵ در نمونه‌های بررسی بود که همگی متعلق به پاپیلوما ویروس بوده و معمولاً با سرطان‌های ناحیه تناسلی در ارتباط هستند. تیپ ۱۶ با فراوانی ۱۹/۱٪ شایع‌ترین ژنوتیپ جداسازی شده تشخیص داده شد و به دنبال آن تیپ‌های ۳۹ با فراوانی ۱۲/۵٪ و تیپ ۱۸ با فراوانی ۸/۹٪ قرار داشتند و تیپ‌های ۴۰، ۴۳، ۴۶، ۴۹، ۵۳، ۵۶، ۵۹، ۶۸، ۷۰ و ۷۵ کمترین شیوع را داشتند (نمودار ۱).

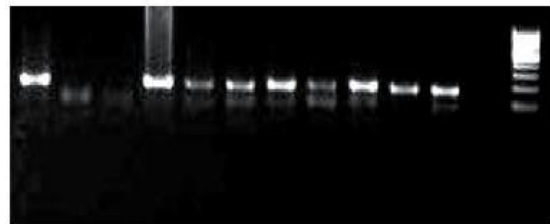


نمودار ۱. شیوع ژنوتیپی ویروس HPV بین نمونه‌های HPV مثبت

ژنوم HPV تکثیر می‌کنند. این ناحیه به صورت حفاظت شده در ژنوم ویروس‌های HPV است و می‌تواند برای جداسازی اکثر تیپ‌های این ویروس به روش PCR به خوبی استفاده شود.

برای تعیین ژنوتیپ پاپیلوما ویروس، ابتدا محصول PCR نمونه‌های HPV مثبت با استفاده از کیت‌های PCR product purification (QIAGEN Germany) تخلیص شدند. سپس در آزمایشگاه Viral-STD از مجموعه آزمایشگاه‌های ملی میکروبیولوژی کانادا با روش Automated Sequencing Microcapillary توالی ژنتیکی آنها مشخص شد.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 L



تصویر ۱. الکتروفورز محصولات HPV-PCR (ستون‌های ۱، ۱۰-۴ = نمونه‌های مثبت، ستون‌های ۳-۲ = نمونه‌های منفی، ستون ۱۱ = کنترل مثبت، ستون ۱۲ = کنترل منفی) L = DNA molecular weight marker (DNA ladder) پایین‌ترین باند ۱۰۰bp و بالاتر از آن ۲۰۰bp است.

Statistical analysis

داده‌های حاصل از آزمون PCR و پرسش‌نامه‌ها به یک صفحه گسترده اکسل وارد شد. سپس تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۸) انجام شد. تمام

شده ازدواج نکرده و باکره نیستند، ۸۷/۲٪ ازدواج کرده‌اند، ۷/۱٪ ازدواج دوم داشته‌اند و ۵/۸٪ به این سوال پاسخ نداده‌اند. در میان آنها ۸۰/۸٪ مادر بودند و میانگین سن اولین بارداری شان ۴/۸۰۱ ± ۲۰/۹۴ بود.

۲۲/۴٪ زنان HPV مثبت هرگز از روش پیشگیری از بارداری استفاده نکردند (جدول ۱). ۸۷/۲٪ از آنها سابقه ابتلا به بیماری‌های منتقل شده از راه جنسی (STDs) نداشتند، ۹۳/۶٪ سال هیچ سابقه بدخیمی نداشتند و فقط ۳۱/۴٪ از آنها بیماری زمینه‌ای داشتند. بررسی پرسش‌نامه‌ها نشان داد که ۰/۶٪ از زنان مطالعه

جدول ۱. فراوانی روش‌های استفاده شده برای پیشگیری از بارداری در زنان مبتلا به HPV

روش‌های پیشگیری از بارداری	فراوانی n(%)
Oral contraceptive	۱۰ (۶/۴۱)
Tubal ligation	۱۵ (۹/۶)
Vasectomy	۶ (۳/۸)
Condoms	۲۶ (۱۶/۶۶)
Oral contraceptives and natural family planning	۱ (۰/۶)
Oral contraceptives and vasectomy	۱ (۰/۶)
Condom and natural family planning	۳ (۱/۹)
No method	۳۵ (۲۲/۴۳)
withdrawal method during intercourse	۵۹ (۳۷/۸۲)
Total	۱۵۶ (۱۰۰)

سرطان پیش‌رونده رحم تلقی می‌شود (۱). عفونت ویروس‌های پاپیلومای انسانی، یکی از رایج‌ترین عفونت‌های منتقل شده از طریق تماس جنسی در جهان محسوب می‌شود. بالغ بر ۱۰۰ ژنوتایپ از این ویروس‌ها شناخته شده است که دست کم ۱۳ ژنوتایپ آن به عنوان تایپ‌های انکوژنیک یا پرخطر طبقه‌بندی شده‌اند. در این میان، ۱۶-HPV در ایجاد سرطان دهانه رحم در جایگاه اول قرار دارد. همچنین اهمیت ۱۶-HPV در سرطان‌های دیگر مثل سینه، ریه و پروستات بررسی شده است.

در مطالعه Sigaroodi و همکاران که به منظور بررسی ارتباط احتمالی بین عفونت ویروس پاپیلومای انسانی و خطر سرطان سینه در زنان شمال ایران روی ۷۹ نمونه بیمار و ۵۱ نمونه شاهد انجام شد، ۱۵ نمونه (۲۵/۹٪) از گروه بیماران و ۱ نمونه (۲/۴٪) از گروه شاهد از نظر ژنوم ویروس پاپیلومای انسانی، مثبت بودند. ژنوتایپ‌های پرخطر ۱۶، ۱۸-HPV به عنوان ژنوتایپ‌های غالب معرفی شدند (۱۶-HPV با ۴ مورد (۲۵٪) و ۱۸-HPV با ۴ مورد (۲۵٪). در این مطالعه عفونت با ویروس پاپیلومای انسانی به عنوان یک عامل خطر برای ابتلا به سرطان سینه ذکر شد (۱۰).

در مطالعه Nadji و همکاران که روی ۱۴۱ بیمار دارای سرطان ریه و ۹۲ بیمار شاهد (فاقد سرطان ریه) در مازندران انجام

سطح اجتماعی و اقتصادی زنان مبتلا به HPV بررسی و ارزیابی شد. اکثر زنان مبتلا به HPV مدرک تحصیلی دیپلم (۳۴/۶٪) داشتند. وضعیت اقتصادی‌شان متوسط (۶۹/۹٪) و ۶۰/۹٪ خانه‌دار بودند. مطالعه نشان داد که ۹۶/۸٪ از زنان HPV مثبت، سیگاری نبودند (جدول ۲).

جدول ۲. فراوانی HPV در زنان مثبت Hookah smoke

فراوانی (%)	Smoking
۲/۲	Smoking
۶/۴	Hookah smoker

بحث

بروز موارد سالیانه سرطان دهانه رحم در سراسر دنیا بیش از ۴۵۰ هزار مورد است. اگرچه میزان مرگ و میر طی ۳۰ سال گذشته رو به کاهش بوده است ولی تقریباً ۲۰۰ هزار مرگ ناشی از سرطان دهانه رحم در هر سال اتفاق می‌افتد. سالانه در آمریکا بیش از ۱۲ هزار مورد جدید سرطان دهانه رحم تشخیص داده می‌شود و ۴۰۰۰ مرگ ناشی از این بیماری است. پاپیلوما ویروس انسانی قطعاً به عنوان عامل اصلی ایجادکننده بدخیمی‌های رحم و

HPV بعد از HPV-۱۶ بودند (۱۴). در آسیا، HPV-۵۲ و HPV-۵۸ - HPV به ترتیب بعد از HPV-۱۶ و HPV-۱۸ شایع‌ترین انواع بودند (۱۵). بررسی ما نشان داد که پس از HPV-۱۶، HPV-۳۹ HPV (۱۶/۲٪) و HPV-۱۸ (۱۲/۶٪) به ترتیب شایع‌ترین انواع HPV هستند. با این حال Salehi-Vaziri و همکارانش گزارش کردند که در ایران HPV-۳۹ (۹/۱٪) شایع‌ترین نوع HPV بعد از HPV-۱۶ (۳۲/۸٪) است (۱۶). همان طور که قبلاً ذکر شد تفاوت در انواع HPV می‌تواند به علت توزیع جغرافیایی مختلف این ویروس باشد.

در مطالعه ما بیشترین میزان شیوع HPV در سن ۳۶ سالگی (۷/۷٪) و در سن ۴۶ سالگی (۵/۸٪) مشاهده شد. در مطالعه Dunne و همکاران، شیوع عفونت HPV در سنین ۱۴ تا ۲۴ سالگی افزایش یافته و در سنین بالاتر، میزان عفونت HPV به تدریج کاهش یافت. بیشترین میزان شیوع عفونت HPV در سنین زیر ۲۰ سال مشاهده شد. شیوع HPV در خانم‌های ۵۰ ساله ۱۹/۶٪، شصت ساله ۲۵/۲٪ و در سنین ۳۰ سالگی ۲۷/۵٪ بود. این امر می‌تواند به دلیل تفاوت در تعداد و نوع جمعیت مطالعه شده باشد. مطالعات در کشورهای مختلف نشان داده است که میزان عفونت HPV در زنان جوان بالا است که ممکن است به دلیل فعالیت جنسی بالای آنها در طول این دوره زندگی باشد اما میزان عفونت HPV در دهه‌های چهارم و پنجم زندگی، به تدریج کاهش می‌یابد (۱۸، ۱۷، ۳). با این حال، خطر ابتلا به عفونت HPV در زنان فعال شده از نظر جنسی در تمام سنین وجود دارد (۱۹). Rossi و همکاران گزارش کرده‌اند که سن، یکی از عوامل خطر مهم برای ابتلا به عفونت HPV با خطر بالا است و عفونت HPV با افزایش سن زنان کاهش می‌یابد (۲۰). نتایج این تحقیق نشان داد که در همه رده‌های سنی، بیشترین نوع ابتلا به ویروس، HPV-۱۶ (۱۹/۱٪) است و بیشترین میزان عفونت در ۳۸ سالگی مشاهده شد. در کل، در ایران متوسط سن منارک ۱۲/۸۱ سال گزارش شده است (۲۱). در تحقیق ما، سن منارک بیشتر زنان مبتلا به HPV ۱۳ سال و شایع‌ترین نوع آن HPV-۱۶ بود. بالاترین فراوانی سن در زنان یائسه و در ۵۰ سالگی مشاهده شد که اکثر آنها مبتلا به HPV-۱۶ بودند. یافته‌های این مطالعه با مطالعه Smith و همکاران مطابقت داشت که HPV-۱۶ شایع‌ترین نوع در میان زنان یائسه بود (۲۲). در مطالعه حاضر، HPV-۱۶ شایع‌ترین نوع در زنانی بود که در طول مقاربت، استفاده از IUD و روش ترک طبیعی را انجام داده‌اند. در زنانی که سابقه بیماری انتقال

شد، ۳۳ نمونه (۲۵/۶٪) از بین ۱۴۱ نمونه بیماران و ۸ نمونه (۹٪) از بین گروه شاهد از نظر ژنوم ویروس پاپیلومای انسانی، مثبت اعلام شدند و آلودگی با ژنوتیپ‌های پرخطر ۱۶ و ۱۸ به میزان چشمگیری مشاهده شد (۷۲/۷٪). در این مطالعه با مقایسه دو گروه بیمار و شاهد، بین عفونت پاپیلومای ویروس های انسانی و ایجاد سرطان ریه ارتباط وجود داشت (۱۱).

در مطالعه Aghakhani و همکاران که به منظور بررسی ارتباط آلودگی با ویروس پاپیلومای انسانی و سرطان پروستات روی ۱۰۴ نمونه بیمار با سرطان پروستات و ۱۰۴ نمونه شاهد (با هایپرپلازی خوش‌خیم) انجام شد، ۱۳ نمونه از ۱۰۴ نمونه بیماران (۱۲/۵٪) و ۸ نمونه (۷/۷٪) از ۱۰۴ نمونه گروه شاهد از نظر ویروس پاپیلومای انسانی، مثبت بودند. آلودگی با انواع پرخطر ویروس پاپیلومای انسانی (ژنوتیپ‌های ۱۶ و ۱۸) در ۷۶/۹٪ از بیماران و ۶۲/۵٪ از گروه شاهد مشاهده شد. در این مطالعه اگرچه ارتباطی بین عفونت با ویروس‌های پاپیلومای انسانی و سرطان پروستات مشاهده نشد اما شیوع بالای ژنوتیپ‌های ۱۶ و ۱۸ در نمونه‌های مثبت از لحاظ ویروس پاپیلومای انسانی، مشاهده شد (۱۲).

در مطالعه Hosseini و همکاران در سال ۲۰۱۰، شیوع عفونت ویروس پاپیلومای انسانی در ۸۲۵ نمونه دهانه رحم حاصل شده از زنان مراجعه کننده به درمانگاه سلامت دانشگاه شهید بهشتی تهران، ۷/۱٪ گزارش شد که ۵/۱٪ از این مقدار را ژنوتیپ های پرخطر به خود اختصاص داده بود. در این مطالعه، HPV-۱۶ به عنوان رایج‌ترین ژنوتیپ بین نمونه‌های با سلول‌شناسی طبیعی (۱/۱٪) و غیرطبیعی (۸/۸٪) گزارش شد.

155

در مطالعه حاضر، (400) ۳۸/۷۵٪ از زنان مطالعه، HPV مثبت بوده و با یک یا چند نوع HPV آلوده شده بودند. ۲۲ نوع HPV از جمله HPV ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۳۱، ۳۳، ۳۵، ۳۹، ۴۰، ۴۵، ۵۱، ۵۲، ۵۳، ۵۶، ۵۸، ۵۹، ۶۶، ۶۷، ۶۸، ۷۰، ۷۳ و ۷۵ مشاهده شد. شیوع انواع HPV در مناطق مختلف جغرافیایی متغیر است. براساس مطالعات انجام شده در ایران، شیوع HPV-۱۶ بیشتر از سایر انواع آن است. در مطالعه‌ای که در ایران انجام شد، شیوع توتال HPV در ایران از بین ۷۶۵۵ زن ۹/۴٪ و شیوع HPV ۱۶ و ۱۸ به ترتیب ۲/۰۳٪ و ۱/۷٪ بود. شیوع HPV-۱۶ در ۲ بیمارستان در تهران ۷۶٪، در بیمارستان دیگری در تهران ۷/۳٪ و در اصفهان ۱۵/۲۱٪ بود (۱۳). در مطالعه Clifford و همکارانش HPV ۱۸، ۴۵، ۳۱ و ۳۳ به ترتیب شایع‌ترین انواع

برای تشخیص آنها به روش‌هایی برای بهبود روند غربالگری نیاز است (۲۹). مطالعات اپیدمیولوژیک و کوشش‌هایی که برای تولید واکسن صورت می‌گیرد نیاز به روش‌های اعتمادبرانگیزی برای تشخیص عفونت‌های تناسلی HPV و تعیین ژنوتیپ‌های رایج در عفونت دارد. روش‌هایی همچون PCR که DNA ویروس را ردیابی می‌کند، در واقع عامل عفونت را شناسایی می‌کند در حالی که تست‌های سیتولوژی همچون Pap smear ضایعات و عوارض حاصل از عفونت را مشخص می‌کنند (۲۸). تکنیک PCR به دلیل توانایی در تکثیر DNA ویروس، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به عنوان یکی از حساس‌ترین روش‌ها برای شناسایی HPV در بافت‌های تناسلی محسوب می‌شود و توام شدن آن با روش sequencing به عنوان تستی تاییدی دقت آن را تا ۱۰۰٪ هم افزایش می‌دهد. لذا به‌کارگیری آن در کنار روش‌های سیتولوژیک می‌تواند در افزایش قدرت تفکیک و دقت بررسی‌های کلینیکی بیماران به‌نحو چشمگیری موثر باشد. همچنین تعیین ژنوتیپ‌های شایع در یک منطقه جغرافیایی می‌تواند در بررسی‌های اپیدمیولوژیک و برنامه‌های توسعه واکسیناسیون برعلیه HPV بسیار حائز اهمیت باشد (۳۰).

در این بررسی ۲۴۵ نفر از ۴۰۰ زن مطالعه شده که از نظر پاتولوژی بیمار تشخیص داده شده بودند، در آزمایش HPV PCR نتایج منفی نشان دادند. چند احتمال درباره توجیه این مطلب وجود دارد: یکی اینکه تشخیص ضایعات بدخیم و سرطانی در این افراد به‌واسطه عامل سرطان‌زای دیگری غیر از ویروس HPV بوده است. دلیل دیگر اینکه براساس مجموعه‌ای از مطالعات، علت وقوع نتایج منفی کاذب در آزمایش‌های PCR به‌ویژه در مواردی که تست‌های پاتولوژیک حکایت از وجود سرطان‌های بدخیم و مهاجم دارند، می‌تواند به نحوه جایگزین شدن ژنوم ویروس در کروموزوم سلول میزبان مربوط باشد. بر طبق یکی از فرضیات ژنوم حلقوی ویروس به گونه‌ای در کروموزوم سلول میزبان جایگزین می‌شود که ناحیه ژنی را که هدف فرآیند PCR بوده است دستخوش دگرگونی کرده و موجب تغییر در نتایج PCR شود. اگرچه معمولاً ناحیه ژن E2 از ژنوم ویروس طی روند جایگزینی تخریب می‌شود اما در بعضی موارد ممکن است توالی‌های اتصال پرایمر PCR در ناحیه ژنی L1 با نواحی تخریب شده ژنوم ویروس مقارن بوده، در نتیجه در ردیابی HPV DNA با روش PCR خلی ایجاد شود (۳۱-۳۳). عامل دیگری که می‌تواند در منفی کاذب شدن نتایج PCR موثر باشد. اشکالاتی است که در فرآیند آماده‌سازی و استخراج DNA از نمونه‌های تثبیت شده با فرمالین و پارافینه شده به وجود می‌آید.

جنسی و سابقه بدخیمی داشتند، ۱۶-HPV شایع‌ترین نوع بود. ۳۵-HPV و ۳۸-HPV به عنوان انواع غالب در زنان مبتلا به بیماری زمینه‌ای شناسایی شده‌اند اما ۱۶-HPV بیشتر در کسانی مشاهده شد که بیماری زمینه‌ای نداشتند.

در ایران، میزان زنان سیگاری از ۱۰/۵ تا ۰/۰۴ درصد متغیر است و در مقایسه با میزان‌های گزارش شده سازمان جهانی بهداشت، کمترین میزان است (۲۳). نتایج این مطالعه نشان داد که در میان زنانی که مصرف سیگار و قلیان داشتند، ۱۶-HPV ژنوتیپ غالب HPV است. مشابه با این نتیجه، براساس مطالعه انجام شده در منطقه شمال شرقی هند، ۱۶-HPV شایع‌ترین نوع در میان بیماران سرطان سر و گردن بود که عادت مصرف دخانیات داشتند (۲۴). مطالعات نشان داده‌اند که عفونت ۱۶-HPV و استفاده از سیگار دو عامل مهمی هستند که می‌توانند به گسترش سرطان دهانه رحم کمک کنند (۲۵). لازم به ذکر است که در ایران سیگار کشیدن میان زنان رایج نیست. با توجه به یافته‌های Giorgi Rossi و همکارانش، زنان کم درآمد اجتماعی اطلاعات کمی درباره عفونت HPV و سرطان دهانه رحم داشتند (۳۵). در مطالعه دیگری هم اشاره شده است که سطوح پایین‌تر تحصیلات و وضعیت اقتصادی به طور معکوس با بروز سرطان‌های ناشی از عفونت HPV همراه است (۲۶). در مطالعه حاضر زنان با وضعیت متوسط اجتماعی و اقتصادی بیشترین میزان ابتلا به HPV را داشتند و در این گروه بیشتر، ۱۶-HPV مشاهده شد. بر اساس این شواهد همچنین با سطح سواد پایین‌تر از زنان، HPV مثبت دیده شود. تحقیقات Catarino و همکارانش نشان داد که یک زن خانه‌دار می‌تواند عامل خطری برای ابتلا به عفونت HPV باشد (۲۷). همچنین، دریافتیم که ۶۰/۹٪ زنان مبتلا به HPV، خانم‌های خانه‌دار با شیوع زیاد ۱۶-HPV هستند. پس از آن، ۳۹-HPV و ۱۸-HPV بالاترین شیوع عفونت HPV را در میان دیگر انواع HPV نشان دادند.

لازم به توضیح است روش‌های سرولوژیک و کشت روش‌های حساس و اعتمادبرانگیزی برای تشخیص HPV نیستند، از این رو از تست‌های دقیق و سریع برای تشخیص استفاده می‌شود (۸، ۹).

آزمایش Pap smear به دلیل سهولت و ارزانی نسبی به‌عنوان تست رایجی برای غربالگری بیماران در سراسر جهان استفاده می‌شود ولی متأسفانه در این تست، موارد منفی کاذب بسیار زیاد است (۲۸). عفونت‌های HPV معمولاً بدون علامت هستند، لذا

در پایان باید عنوان کرد شناسایی ژنوتیپ HPV و عوامل خطر مرتبط با ابتلا به HPV در هر منطقه می‌تواند منجر به ایجاد یک برنامه غربالگری موثر و افزایش سطح آگاهی اعضای جامعه شود. همچنین می‌تواند برای مدیریت بیماری و تشخیص حساسیت بالای نئوپلازی داخل اپیتلیال سرویکس مفید باشد. باید تحقیقات بیشتری برای بررسی ژنوتیپ HPV در منطقه دیگری از ایران یا بخش دیگری از جهان انجام شود.

سیاسگذاری

نویسندگان، مراتب سپاس خود را از باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز ابراز می‌دارند که پشتیبانی مالی این پروژه را بر عهده داشتند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

بنابراین به منظور جبران ناکارآمدی روش پاپ اسمیر در پیشگویی بدخیمی، روش‌های مولکولی را می‌توان جایگزینی قوی در نظر گرفت. به گونه‌ای که حتی قادر به شناسایی تیپ ویروس نیز هستند. با توجه به این واقعیت که تیپ‌های ۱۶ و ۱۸ این ویروس عامل ۷۰٪ از بدخیمی‌ها و تهاجمی‌تر از بقیه تیپ‌های ویروسی هستند، روش مولکولی می‌تواند پیشگویی دقیق‌تر، حساس‌تر و سریع‌تری داشته باشد. حتی می‌تواند در تصمیم‌گیری روش درمان با توجه به تیپ گزارش شده نیز مداخله کند. یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر، تعداد کم افراد شرکت‌کننده بود که لازم است مطالعات دیگری با تعداد افراد بیشتری انجام شود. از دیگر محدودیت‌های این مطالعه، دسترسی نداشتن به پرونده بهداشتی افراد و اعتماد به گفته‌های آنها درباره داشتن شریک جنسی غیر از همسر خود یا زن دوم داشتن همسرشان بود.

References

- Jamali S , Jamali B. Investigation of the genetic diversity of HPV in cervical cancer. 7th Iranian congress of virology. (10-11may 2017).
- Parkin DM, Bray F. The burden of HPV-related cancers. *Vaccine*. 2006;24:S11-S25. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.05.111> PMID:16949997
- Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16(1):1-17. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.1.1-17.2003> PMID:12525422 PMID:PMC145302
- Bruni L, Diaz M, Castellsagué M, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis*. 2010;202(12):1789-99. <https://doi.org/10.1086/657321> PMID:21067372
- Khorasanizadeh F, Hassanloo J, Khaksar N, Taheri SM, Marzaban M, Rashidi BH, et al. Epidemiology of cervical cancer and human papilloma virus infection among Iranian women—Analyses of national data and systematic review of the literature. *Gynecol Oncol*. 2013;128(2):277-81. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2012.11.032> PMID:23200918
- Yousefzadeh A, Mostafavizadeh SM, Jarollahi A, Raeisi M, Garshasbi M, Siavashvahi Z, et al. Human papillomavirus (HPV) prevalence and types among women attending regular gynecological visit in Tehran, Iran. *Clin Lab*. 2014;60(2):267-73. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2013.130221>
- Giorgi Rossi P, Baldacchini F, Ronco G. The possible effects on socio-economic inequalities of introducing HPV testing as primary test in cervical cancer screening programs. *Front Oncol*. 2014;4:20. <https://doi.org/10.3389/fonc.2014.00020> PMID:24575388 PMID:PMC3919018
- Möbius G. Cytological early detection of cervical carcinoma: possibilities and limitations. Analysis of failures. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1993;119(9):513-21. <https://doi.org/10.1007/BF01686460> PMID:8325903
- Bashizadeh-Fakhar H, Ghane M, Faraji R, Ashoorizadeh B. Identifying Human Papilloma Virus (HPV) in Women with Genital Warts by Multiplex- PCR Method. *ZJRMS*. 2013;15(10):45-8.
- Sigaroodi A, Nadji SA, Naghshvar F, Nategh R, Emami H, Velayati AA. Human papillomavirus is associated with breast cancer in the north part of Iran. *Sci World J*. 2012;2012.
- Mokhtari-Azad T, Mahmoodi M, Yahyapour Y, Naghshvar F, Torabizadeh J, et al. Relationship between lung cancer and human papillomavirus in north of Iran, Mazandaran province. *Cancer lett*. 2007;248(1):41-6. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2006.05.016> PMID:16814459
- Aghakhani A, Hamkar R, Parvin M, Ghavami N, Nadri M, Pakfetrat A, et al. The role of human papillomavirus infection in prostate carcinoma. *Scand J Infect Dis*. 2010;43(1):64-9.

- <https://doi.org/10.3109/00365548.2010.502904>
PMid:20662618
13. Allameh T, Moghim S, Farahbod F. Reviewing the Prevalence of Human Papillomavirus (HPV) in Married Women Aged 18-60 Years with Normal Pap Smear Referring to Gynecology Clinics in Hospitals Affiliated to Isfahan University of Medical Sciences, Iran. *J Isfahan Medl School*. 2012;29(163):1-8.
14. Clifford G, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003;88(1):63-73.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600688>
PMid:12556961 PMCID:PMC2376782
15. Meijer CJ, Snijders PJ, Castle PE. Clinical utility of HPV genotyping. *Gynecol Oncol* 2006;103(1):12-7.
<https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2006.07.031>
PMid:16934860
16. Salehi-Vaziri M, Sadeghi F, Hashemi FS, Haeri H, Bokharaei-Salim F, Monavari SH, et al. Distribution of Human Papillomavirus genotypes in Iranian women according to the severity of the cervical lesion. *Iran Red Crescent Med J*. 2016;18(4):e24458.
<https://doi.org/10.5812/ircmj.24458>
PMid:27257511 PMCID:PMC4888845
17. Trottier H, Franco EL. Human papillomavirus and cervical cancer: burden of illness and basis for prevention. *Am J Manag Care*. 2006;12(17 Suppl):S462-72. PMid:17203990
18. Castle PE, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, et al. A prospective study of age trends in cervical human papillomavirus acquisition and persistence in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis*. 2005;191(11):1808-16.
<https://doi.org/10.1086/428779>
PMid:15871112
19. Castellsagué X, Schneider A, Kaufmann AM, Bosch FX. HPV vaccination against cervical cancer in women above 25 years of age: key considerations and current perspectives. *Gynecol Oncol*. 2009;(3 Suppl):S15-23.
<https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2009.09.021>
PMid:19819540
20. Rossi PG, Baldacchini F, Ronco G. The possible effects on socio-economic inequalities of introducing HPV testing as primary test in cervical cancer screening programs. *Frontiers Oncol*. 2014;4:20.
21. Benard VB, Johnson CJ, Thompson TD, Roland KB, Lai SM, Cokkinides V, et al. Examining the association between socioeconomic status and potential human papillomavirus- associated cancers. *Cancer*. 2008;113(10 Suppl):2910-8.
- <https://doi.org/10.1002/cncr.23742>
PMid:18980274
22. Smith E, Johnson S, Ritchie J, Feddersen D, Wang D, Turek L, et al. Persistent HPV infection in postmenopausal age women. *Int J Gynecol Obstet*. 2004;87(2):131-7.
<https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2004.07.013>
PMid:15491557
23. Halimi L, Haghdoost AA, Alizadeh SM. Prevalence of cigarette smoking among Iranian women: a systematic review and meta-analysis. *Med J Islam Repub Iran*. 2013;27(3):132-40. PMid:24791123 PMCID:PMC3917490
24. Kumar R, Rai AK, Das D, Das R, Kumar RS, Sarma A, et al. Alcohol and tobacco increases risk of high risk HPV infection in head and neck cancer patients: Study from North-East Region of India. *PloS One*. 2015;10(10):e0140700.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140700>
PMid:26473489 PMCID:PMC4608822
25. Dimitrov G, Džikova E, Dimitrov G, Babushku G, Antovska V. The influence of HPV16, smoking and coitarche in the development of cervical dysplasia in the stage where conization is the treatment of choice. *Acta Facult Med Naissens*. 2012;29(4):181-6.
26. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, et al. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine*. 2012;30:F12-F23.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.07.055>
PMid:23199955
27. Catarino R, Vassilakos P, Tebeu P-M, Schäfer S, Bongoe A, Petignat P. Risk factors associated with human papillomavirus prevalence and cervical neoplasia among Cameroonian women. *Cancer Epidemiol*. 2016;40:60-6.
<https://doi.org/10.1016/j.canep.2015.11.008>
PMid:26625088
28. Allan BR, Marais DJ, Denny L, Hoffman M, Shapiro S, Anna-Lise W. The agreement between cervical abnormalities identified by cytology and detection of high-risk types of human papillomavirus. *S Afr Med J*. 2006;96(11):1186-90. PMid:17167705
29. Kornegay JR, Roger M, Davies PO, Shepard AP, Guerrero NA, Lloveras B, et al. International proficiency study of a consensus L1 PCR assay for the detection and typing of human papillomavirus DNA: evaluation of accuracy and intralaboratory and interlaboratory agreement. *J Clin Microbiol*. 2003;41(3):1080-6.
<https://doi.org/10.1128/JCM.41.3.1080-1086.2003>
PMid:12624033 PMCID:PMC150263
30. Soper D. Reducing the health burden of HPV infection through vaccination. *Infect Dis Obstet*

Gynecol. 2006;2006: 83084.
<https://doi.org/10.1155/IDOG/2006/83084>
PMid:16967913 PMCID:PMC1522061

31. Santos, S.R., L.Zeferino, L.Villa.2003.Human papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiania, Brazil.mem inst Oswaldo cruz,98:181-184
<http://dx.doi.org/10.1155/2017/1645074>
32. Gallo, G., m.Bibbo, L.Bagella.2003.Study of viral integration of HPV-16 in young patients with LSIL.j.clin.pathol, 56:532-536.
<http://dx.doi.org/10.1136/jcp.56.7.532>
33. Carbone, M., G.Klein, J.Gruber.2004.Modern criteria to establish human cancer etiology. Cancer research journal, 64:5518-5524.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0034674>