مروری بر توسعه روش‌های تشخیص سریع سرطان دهانه رحم (داخل اپی‌تلیوم) مبتنی بر اندازه‌گیری لود ویروس پاپیلومای انسانی نوع ۱۶ و ۱۸ با استفاده از زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی

دکتر پگاه محمودی[۱]، دکتر احسان کریمی[۱*]، دکتر مجید رضایی[۲]

۱. استادیار گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.
۲. استادیار گروه زیست فناوری و نانوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۱۸ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۸/۰۴/۰۵

خلاصه

مقدمه: ویروس پاپیلومای انسانی (HPV)، یکی از شایع‌ترین ویروس‌های منتقله از طریق تماس جنسی است. HPV نوع ۱۶ و ۱۸، به عنوان شایع‌ترین HPVهای پرخطر، باعث بروز تغییرات بدخیم و سرطان دهانه رحم می‌شوند. از آنجا که روش‌های تشخیصی رایج معایب زیادی دارند، توسعه روش‌های تشخیصی نوین می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مفید با سرعت و کارایی بالا و همچنین ارزان، بسیار نویدبخش باشد. زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی به‌عنوان ابزاری جدید مزایایی از جمله طیف تشخیصی وسیع، ارزان بودن و ساده‌تر بودن تجهیزات آزمایشگاهی را دارند. مطالعه مروری حاضر با هدف ارائه یک خلاصه دقیق از پیشرفت‌های زیست حسگرهای الکتروشیمیایی جهت تشخیص HPV ۱۶و ۱۸ انجام شد.

روش‌کار: در این پژوهش، به‌طور سیستماتیک مقالات اصلی زبان انگلیسی و فارسی در پایگاه‌های PubMed، Cochrane Library، Scopus، Science Direct، Google Scholar و دو پایگاه اطلاعاتی ایران شامل SID و IranMedex از سال ۲۰۰۸-۲۰۰۳ با استفاده از کلید واژه‌های Mesh جستجو شدند. در این مطالعه، با استفاده از مقالات منتشر شده در پایگاه‌های علمی، به بررسی نقش زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی در تشخیص زودهنگام HPV نوع ۱۶ و ۱۸ پرداخته شد.

یافته‌ها: در مجموع ۱۱ مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. با تجزیه و تحلیل جدیدترین زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی برای شناسایی HPV، مشاهده گردید پلت فرم حسگر ساخته شده توسط وانگ و همکاران با پایین‌ترین حد تشخیص (Atto molar) ۱ بود.

نتیجه‌گیری: استفاده از روش‌های مبنی بر زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی با توجه به دارا بودن حساسیت بالا، می‌توانند به‌عنوان یک روش مناسب مورد استفاده قرار گیرند.

کلمات کلیدی: انتراپی‌تلیال، پاپیلوما ویروس انسانی نوع ۱۶ و ۱۸، زیست‌حسگر الکتروشیمیایی

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر احسان کریمی؛ واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران. **تلفن:** ۰۵۱-۳۸۴۳۵۰۰۰؛ **پست الکترونیک:** ehsan_b_karimi@yahoo.com*

مقدمه

سرطان دهانه رحم ناشی از ویروس پاپیلوم انسانی (HPV[1])، سومین سرطان شایع در بین زنان است. HPV یکی از مهم‌ترین ویروس‌های منتقله از طریق تماس جنسی در جهان است. چندین مطالعه اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که ارتباط قوی بین ویروس HPV و سرطان دهانه رحم وجود دارد (۱). مطالعات نشان می‌دهد که سرطان دهانه رحم، یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ‌ومیر در بین زنان جهان است (۲). این سرطان در ایران نیز بسیار حائز اهمیت است؛ به‌طوری‌که در ایران از بین ۳۰/۱۳ میلیون زن ۱۵ سال به بالا که در معرض عفونت با HPV هستند، سالانه ۹۴۰ نفر مثبت تشخیص داده می‌شوند که ۳۷۰ نفر از آنها بر اثر این بیماری می‌میرند (۳، ۴).

HPV به دو گروه پرخطر و کم‌خطر تقسیم می‌شود. تاکنون بیش از ۱۰۰ نوع HPV شناخته شده است که حدود ۱۲ نوع از آنها از عوامل سرطان دهانه رحم نیز می‌باشند، از جمله تایپ‌های ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳، ۳۵، ۴۵، ۵۲ و ۵۸ که از شایع‌ترین موارد گزارش شده و انواع ۳۹، ۵۱، ۵۶ و ۵۹ که به میزان کمتری در نمونه‌ها یافت شده‌اند (۵، ۶).

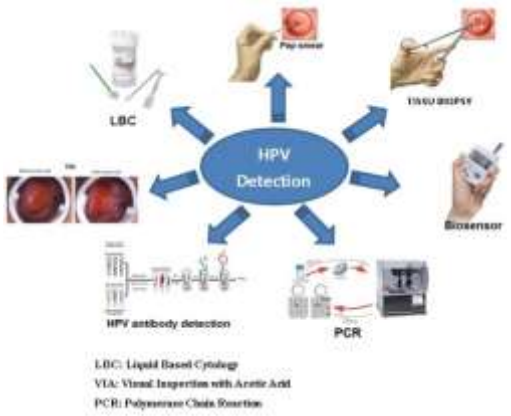
از میان HPVهای پرخطر، نوع ۱۶ و ۱۸ به‌عنوان شایع‌ترین انواع شناخته می‌شوند و به‌تنهایی مسئول ۷۰٪ از سرطان‌های دهانه رحم هستند (۷). همچنین انواع ۱۶ و ۱۸ در ۹۵٪ از سرطان‌های مقعد، ۷۰٪ از سرطان‌های دهان، ۶۰٪ از سرطان‌های واژن و ۳۵٪ از سرطان‌های آلت تناسلی مشاهده شده‌اند (۵، ۸). با توجه به اهمیت ویروس HPV و نقش مهمی که در ایجاد انواع بیماری‌ها دارد، انتخاب یک روش تشخیصی زودهنگام و مناسب امری کاملاً ضروری است.

از میان روش‌های متنوع ارائه شده در شکل ۱ جهت تشخیص ویروس HPV، در حال حاضر روش رایج تشخیصی PCR[2] است. این روش اگرچه به‌عنوان یک ابزار مؤثر برای تشخیص و تعیین تایپ ویروس شناخته شده است، اما با برخی از معایب مانند هزینه نسبتاً زیاد و پیچیدگی روش انجام مواجه است. بنابراین، توسعه تکنیک‌های تشخیص سریع، آسان، دقیق و حساس بسیار ضروری است.

حسگر زیستی، نام گروهی از حسگرها است که به گونه‌ای طراحی می‌شوند تا تنها با یک ماده خاص واکنش نشان دهند. نتیجه این واکنش به‌صورت پیام‌هایی در می‌آید که یک ریزپردازنده، می‌تواند آنها را تحلیل کند. از میان انواع مختلف زیست حسگرها، نوع الکتروشیمیایی با توجه به ارزان بودن تجهیزات مورد نیاز، ساده بودن مراحل انجام آزمایش و واکنش سریع با آنالیت بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (۹). در این حسگرهای زیستی از الکترودهایی از جنس پلاتین، طلا، کربن شیشه‌ای، گرافیت یا خمیر کربن استفاده می‌شود. ماده مورد سنجش در اثر واکنش اختصاصی با بخش زیستی حسگر، مواد فعال الکتریکی تولید می‌کند که قابلیت تبادل الکترون با سطح الکترود را دارند و الکترود به‌عنوان مبدل، الکترون‌های مبادله شده را به جریان الکتریکی متناسب با غلظت ماده فعال الکتریکی تبدیل می‌کند (۱۶-۱۰).

تاکنون هیچ بررسی در مورد زیست حسگرهای الکتروشیمیایی به‌منظور تشخیص HPV نوع ۱۶ و ۱۸ در ایران انجام نشده است، لذا مطالعه مروری حاضر با هدف ارائه یک خلاصه دقیق از پیشرفت‌های زیست حسگرهای الکتروشیمیایی جهت تشخیص HPV ۱۶و ۱۸ انجام شد.

[1] Human Papillomavirus
[2] Polymerase Chain Reaction



شکل ۱- روش‌های تشخیص ویروس پاپیلوم انسانی

روش‌کار

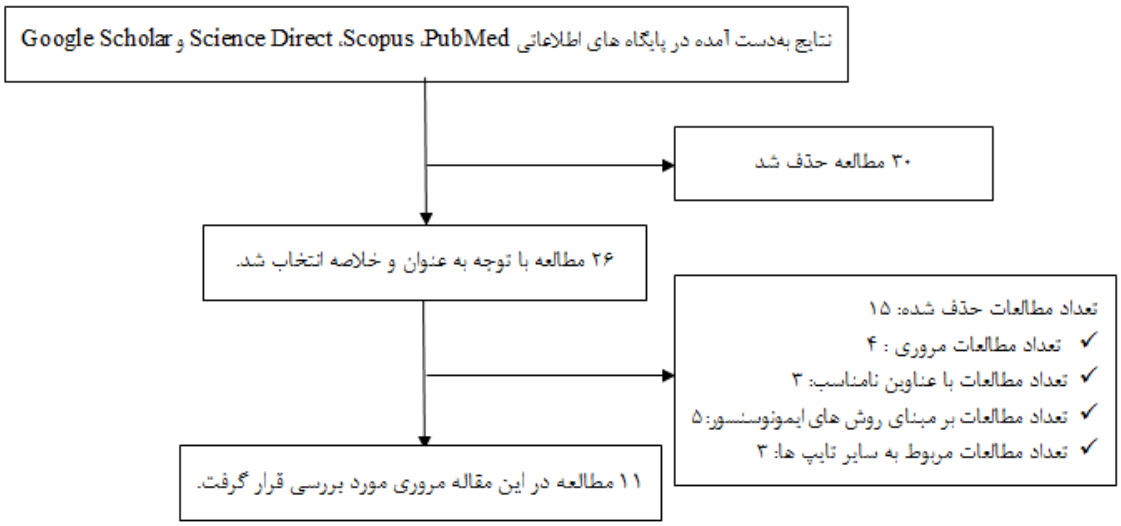
در این پژوهش، به‌طور سیستماتیک مقالات اصلی زبان انگلیسی و فارسی در پایگاه‌های PubMed، Cochrane Library، Scopus، Science Direct، Google Scholar و دو پایگاه اطلاعاتی ایران شامل SID و IranMedex از سال ۲۰۰۳-۲۰۸ جستجو شدند. برای یافتن مقالات تشخیص HPV، در پایگاه جستجو عناوین پزشکی (MeSH)، از کلمات: "high risk human papilloma virus" یا "HPV16" یا "HPV18" و "biosensor" یا "electrochemical method" یا "optical method" یا "piezoelectric method" یا " fluorescent method" یا "colorimetric method" و "detection" یا "diagnosis" به همراه حروف اضافه AND و OR استفاده شد (شکل ۲).

استخراج داده‌ها:

داده‌ها از ۱۱ مقاله انتخاب شده استخراج شدند. داده‌ها شامل روش‌ها، سرطان دهانه رحم، نوع HPVs، جنس و نوع الکترود کار استفاده شده در حسگر، برچسب، محدودیت تشخیص، محدوده تشخیص، زمان پاسخ، قابلیت استفاده مجدد و ملاحظات بود.

ارزیابی کیفی:

به‌منظور ارزیابی کیفیت مطالعات، جستجو توسط دو محقق مستقل و بر اساس استفاده از فرم راهنمای PRISMA انجام شد و نتایج توسط یک پژوهشگر سوم بررسی شد.



شکل ۲- فلوچارت انتخاب مقالات

یافته‌ها

روش‌های سنتی جهت تشخیص ویروس HPV و سرطان دهانه رحم:

تست پاپانیکولا یا پاپ‌اسمیر[1]: پاپ‌اسمیر قدیمی‌ترین روش غربالگری جهت تشخیص سرطان دهانه رحم و ضایعات پیش سرطانی است. در این تست ساده، سلول‌های سطحی دهانه رحم برداشته می‌شوند و زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار می‌گیرند تا چنانچه هرگونه تغییری از تغییرات التهابی گرفته تا تغییرات خوش‌خیم و بدخیم سرطانی، مشخص شود، تدابیر درمانی متناسب با جواب آزمایش اتخاذ گردد. پاسخ منفی کاذب برای این روش بین ۷۰-۱۳٪ و پاسخ مثبت کاذب بین ۱۴-۰٪ گزارش شده است (۱۷، ۱۸).

روش مبتنی بر محلول (تست سیتولوژی در محیط مایع) (LBC)[2]:

دومین روش تشخیصی، تست LBC است که با استفاده از یک وسیله برس‌مانند، سلول‌های گردن رحم را جمع‌آوری کرده و اسلایدها را مانند روش پاپ‌اسمیر زیر میکروسکوپ مشاهده می‌کنند. مزایای استفاده از روش LBC در مقایسه با روش پاپ‌اسمیر شامل: بهبود روش‌های آماده‌سازی اسلایدها، تولید نمونه‌های همگن و افزایش حساسیت در تشخیص است، اما از سوی دیگر روش LBC معایبی نظیر گران‌تر بودن آن نسبت به تست پاپ‌اسمیر، عدم توانایی استفاده در منابع محدود و همچنین نیاز به پرسنل آموزش دیده جهت انجام آزمایش دارد (۱۹).

استفاده از استیک اسید[3]: سومین روش غربالگری، بررسی بصری با استفاده از استیک اسید برای مشخص کردن نواحی ملتهب است که در تست‌هایی با منبع محدود به‌کار گرفته می‌شود. مزیت استفاده از این روش، مقرون به‌صرفه بودن آن است، اما مشکل عمده این روش، عدم اطمینان برای پاسخ صحیح در زنان یائسه به‌علت تغییرات در محل اتصال اندوسرویکس است (۲۰).

لازم به ذکر است که روش کشت سلولی برای تشخیص این ویروس فاقد کاربرد است (۱۸). همچنین روش‌های سرولوژیک مانند ساترن بلات و دات بلات علی‌رغم کیفیت بالایی که دارند، از حساسیت کمی برخوردار هستند و از مهم‌ترین معایب این روش‌ها می‌توان به زمان‌بر بودن مراحل انجام آزمایش و احتیاج به مقادیر نسبتاً زیادی از DNA خالص اشاره نمود (۲۱).

روش‌های روتین جهت تشخیص ویروس HPV و سرطان دهانه رحم:

طبق مطالعات انجام شده برای سایر ویروس‌ها، روش real time از حساسیت بالایی برخوردار است، زیرا برای تشخیص از دو پرایمر و یک پروب استفاده می‌شود، بنابراین به‌نظر می‌رسد که روش Real Time PCR، مناسب‌ترین روش جهت تشخیص ویروس HPV است، اما این روش علی‌رغم حساسیت بالا به دلیل تکرارپذیری پایین، روش تشخیصی مناسبی برای این ویروس نمی‌باشد. با توجه به این موضوع، در حال حاضر روش PCR با وجود محدودیت‌هایی که دارد، به‌عنوان رایج‌ترین روش در حال استفاده در مراکز تشخیصی است.

با توجه به این‌که استفاده از روش PCR به‌عنوان روش تشخیصی مناسب نسبت به روش‌های سنتی مزایای بیشتری دارد، اما خود این روش نیز دارای محدودیت‌های زیادی از جمله وقت‌گیر بودن، پیچیده بودن مراحل آزمایش، گران بودن و احتیاج به افراد متخصص است. همچنین مهم‌ترین عیب این روش، امکان آلودگی در هر مرحله از آزمایش و ایجاد پاسخ اشتباه است (۲۲، ۲۳). بنابراین با در نظر گرفتن نقش مهمی که ویروس HPV در ایجاد انواع سرطان‌ها دارد، تقاضای عمومی برای یک روش تشخیصی زودهنگام و مناسب بسیار بالا است.

روش نوین جهت تشخیص ویروس HPV و سرطان دهانه رحم:

زیست حسگرها به‌عنوان یک ابزار جایگزین برای تشخیص زودهنگام HPV:

زیست‌حسگر، یک دستگاه مناسب و قابل حمل جهت تشخیص سریع، آسان، اقتصادی و حساس است که در

[1] Pap smear
[2] Liquid based cytology
[3] Visual Inspection with Acetic Acid

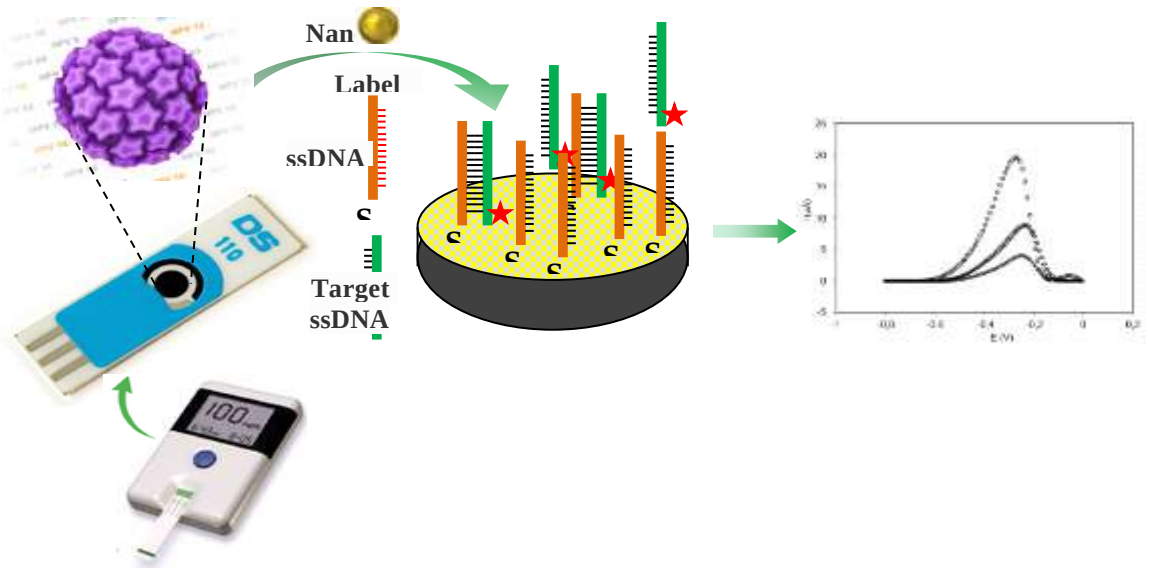
تشخیص زودهنگام بیماری‌های عفونی کاربرد دارد (۲۴، ۲۵).

به‌منظور شناسایی آنالیت، ابتدا لازم است نوکلئیک اسید بر روی سطح الکترود تثبیت شود تا یک سیگنال قابل اندازه‌گیری با توجه به غلظت آنالیت به‌دست آید.

زیست‌حسگرها با توجه به نوع مبدل، انواع مختلفی از جمله الکتروشیمیایی (پتانسیومتریک، آمپرومتریک، هدایت‌سنجی)، نوری (جذبی، فلوئورسانس، لومینسانس)، پیزوالکتریک (کوارتز کریستال میکروبالانس، میکروسکوپ نیروی اتمی) و مغناطیسی دارند (۲۶، ۲۷).

زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی جهت تشخیص ویروس HPV:

زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی به‌علت مزایایی که نسبت به سایر زیست‌حسگرها دارند، بیشتر مورد توجه محققان قرار گرفته‌اند. از جمله مزایای این نوع از زیست‌حسگرها می‌توان به توانایی عملکرد در محیط‌های کدر، توانایی عملکرد با مقدار بسیار اندکی از نمونه، سرعت و حساسیت بالا اشاره کرد. همچنین علاوه بر مزایای ذکر شده، تجهیزات مورد نیاز برای سنجش‌های الکتروشیمیایی در مقایسه با سایر تکنیک‌های آنالیزی بسیار ساده‌تر و ارزان‌تر هستند (۲۸، ۲۹). حسگرهای الکتروشیمیایی به دو دسته دارای برچسب و فاقد برچسب طبقه‌بندی می‌شوند. اساس سنجش در دسته اول، اکسیداسیون و احیای برچسب است، اما در مقابل اساس سنجش در دسته دوم، اکسیداسیون و احیای آنالیت است (۳۰، ۳۱). در این سیستم‌ها سیگنال‌های خروجی با تکنیک ولتامتری چرخه‌ای[1]، ولتامتری موج مربعی[2]، ولتامتری پالس تفاضلی[3] و طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی[4] اندازه‌گیری می‌شود (۳۲). زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی به‌علت پاسخ‌دهی سریع، امکان استفاده آسان توسط خود شخص، هزینه پایین، حساسیت و دقت بالا و قابل حمل بودن، به عنوان یک ابزار تشخیصی مناسب در نظر گرفته می‌شوند (شکل ۳) (۳۳، ۳۴).



شکل ۳-DNA- حسگر زیستی الکتروشیمیایی جهت اندازه‌گیری HPV

[1] cyclic voltammetry
[2] square wave voltammetry
[3] differential pulse voltammetry
[4] electrochemical impedance spectroscopy

بحث

ورنون و همکاران (۲۰۰۳) یک زیست‌حسگر الکتروشیمیایی به‌منظور تشخیص ۲۱ نوع HPV ارائه کردند. در این سیستم، نوکلئیک اسیدهای اختصاصی برای هر یک از انواع HPV بر روی الکترود طلا تثبیت شدند. در این روش دو مرحله هیبریداسون برای شناسایی DNA هدف انجام شد. اولین مرحله هیبریداسون بین DNA پروب و هدف است و به‌دنبال آن دومین مرحله هیبریداسون بین منطقه مجاور DNA هدف و DNA پروب نشان‌دار شده با فروسن است. سیگنال‌های خروجی با روش ولتامتری چرخه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. این زیست‌حسگر برای نمونه‌های واقعی نیز به‌کار برده شد و ضریب تغییر آن ۸۶٪ گزارش شد (۳۵).

سیویت و همکاران (۲۰۱۲)، برای تشخیص ۳ نوع پرخطر ویروس HPV (نوع ۱۶، ۱۸، ۴۵)، یک زیست‌حسگر الکتروشیمیایی ارائه دادند. در این مطالعه، هیبریداسیون بین DNA هدف و DNA پروب تیول‌دار و نشان‌دار شده با هورس رادیش پراکسید[1] بر روی الکترود طلا که به‌منظور افزایش حساسیت توسط آلکان تیول ها دوطرفه[2]، انجام گرفت. از ولتامتری چرخه‌ای جهت بررسی سیگنال‌ها استفاده شد. محدوده تشخیصی این حسگر زیستی بین ۵۰-۰/۱ نانومولار با کمترین حد تشخیص ۲۲۰، ۱۷۰ و ۱۱۰ پیکومولار، به‌ترتیب برای HPV نوع ۱۶، ۱۸ و ۴۵ گزارش شد. از این حسگر برای تشخیص کمی DNA در نمونه‌های بالینی سرویکال مثبت برای سه نوع HPV استفاده شد و میزان همبستگی مناسبی به‌دست آمد (۳۶).

وانگ و همکاران (۲۰۱۳) یک حسگر الکتروشیمیایی با به‌کار بردن نانوذرات طلا و تثبیت DNA پروب تک‌رشته بر روی پلت فرم اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی تک دیواره جهت تشخیص HPV نوع ۱۶ طراحی کردند. سیگنال‌های خروجی با روش طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی مورد مطالعه قرار گرفت و محدوده تشخیص این سیستم بین ۱ آتومولار تا ۱ میکرومولار و کمترین حد تشخیص آن ۱ آتومولار به‌دست آمد (۳۷).

رایج‌ترین پلت فرم تشخیصی یک الکترود طلا است که با DNA پروب از طریق گروه تیول پیوند کوالانسی برقرار می‌کند. این فرآیند را می‌توان در حضور چندین نوع برچسب مانند تترا متیل بنزیدین، هورس رادیش پراکساید، متیلن بلو و هماتوکسیلین که می‌توانند پاسخ واضح‌تر و اختصاصی‌تری ایجاد کنند، انجام داد. برای مثال کامپوس و همکاران (۲۰۱۳) از یک پلت فرم طلا که با سیستئین فیلم اصلاح شده بود، به‌منظور تشخیص HPV نوع ۱۶ استفاده کردند. این مطالعه بر اساس کاهیده شدن برچسب متیلن بلو که با روش ولتامتری پالس تفاضلی مورد بررسی قرار گرفت، انجام شد. محدوده تشخیصی این سیستم بین ۱۰۰۰-۱۸/۷۵ نانومولار و کم‌ترین حد تشخیص آن ۱۸/۱۳ نانومولار گزارش شد (۳۸).

در مطالعه سوزا و همکاران (۲۰۱۴) جهت تشخیص ویروس HPV نوع ۱۶، از یک پلت فرم از جنس گرافیت استفاده شد. در این مطالعه مانند مطالعه قبلی، از متیلن بلو استفاده شد و سیگنال‌های خروجی توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی بررسی شدند. محدوده تشخیصی این سیستم بین ۸-۲ نانومولار و کم‌ترین حد تشخیص آن ۱/۴۹ نانومولار گزارش شد (۳۹). در همان زمان کورر و همکاران (۲۰۱۴)، به‌منظور تشخیص سریع، آسان و کم‌هزینه ویروس HPV نوع ۱۸، DNA زیست‌حسگر ایمپدیمتریک بر پایه تثبیت DNA آمین‌دار بر روی سطح الکترود اکسید ایندیوم[3] و قلع را طراحی کردند. به‌منظور افزایش حساسیت زیست‌حسگر، الکترود ITO توسط ۳- آمینو پروپیل تری اتوکسی سیلان[4] اصلاح شد. هیبریداسیون پروب DNA و DNA هدف با تغییر در خواص سطحی الکترود ITO، توسط ولتامتری چرخه‌ای و طیف‌سنج امپدانس الکتروشیمیایی به‌ترتیب در محلول استون و کلروفرم-اتانول و تولوئن مورد مطالعه قرار گرفت. محدوده تشخیص این سیستم برای

[1] horseradish peroxidase
[2] bipodal alkanethiol
[3] Indium tin oxide
[4] Aminopropyltryethoxsilane

DNAهای خریداری شده بین ۱۰۰-۱۲/۵ نانومولار و برای DNAهای استخراج شده از نمونه‌های واقعی ۳۰۰ نانومولار گزارش شد (۴۰).

جامپسا و همکاران (۲۰۱۴) از یک الکترود چاپگر صفحه‌ای که نوکلئیک اسید پیرولیدین نشان‌دار شده با آنتراکوئینون روی آن تثبیت شده بود، جهت تشخیص HPV نوع ۱۶ استفاده کردند. سیگنال‌های به‌دست آمده با روش ولتامتری موج مربعی مورد مطالعه قرار گرفتند. محدوده تشخیصی این حسگر بین ۰/۲ میلی‌مولار تا ۱۲ نانومولار و کم‌ترین حد تشخیص آن ۴ نانومولار بود (۴۱). در یک پروژه مشابه تینگام و همکاران (۲۰۱۷) جهت شناسایی HPV نوع ۱۶ از روش طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی جهت تثبیت نوکلئیک اسید پیرولیدین نشان‌دار شده با آنتراکوئینون بر روی سطح الکترود اصلاح شده با گرافن پلی آنیلین استفاده کردند. بررسی سیگنال‌های خروجی با روش ولتامتری موج مربعی انجام شد و محدوده تشخیص ۲۰۰-۱۰ نانومولار و کم‌ترین حد تشخیص ۲/۳ نانومولار تعیین شد (۹). بارتولوم و همکاران (۲۰۱۵) ساخت یک زیست‌حسگر اصلاح شده با ذرات کوچک کربن پیازی را برای تشخیص HPV نوع ۱۶ انجام دادند. در این مطالعه از هورس رادیش پراکساید به‌عنوان برچسب استفاده شد. سیگنال‌ها با متود ولتامتری چرخه‌ای مطالعه شدند و ۵۰ نانومولار به‌عنوان کم‌ترین حد تشخیص این دستگاه تعیین شد (۴۲).

کریمی و همکاران (۲۰۱۷) با بکارگیری روش ایمپدیمتریک جهت شناسایی HPV نوع ۱۶، از الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانوورقه‌های طلا استفاده کردند. در این مطالعه از هگزاسیانوفریک به‌عنوان برچسب استفاده شد. محدوده تشخیصی این حسگر بین ۱ میکرومولار تا ۱ پیکومولار و کم‌ترین حد تشخیص آن ۰/۱۵ پیکومولار گزارش شد (۴۳).

کوالچکیاز و همکاران (۲۰۱۶) به‌منظور تشخیص HPV نوع ۱۸، یک پلت فرم بسیار حساس از جنس الکترود کربن شیشه‌ای و اصلاح شده توسط یک لایه کربوکسی فنیل طراحی کردند. برچسب به‌کار رفته در این مطالعه جیوه (II) بود و سیگنال‌های خروجی توسط ولتامتری موج مربعی مطالعه شد و کم‌ترین حد تشخیص $1/2\times10^{-5}$ نانو مولار گزارش شد (۴۴). خلاصه‌ای از مطالعات انجام گرفته مربوط به زیست حسگرهای الکتروشیمیایی HPV در جدول ۱ مقایسه شده‌اند.

جدول ۱- مقایسه انواع زیست حسگرهای الکتروشیمیایی

منابع	روش	نوع HPV	پلت فرم حسگر	برچسب	کم‌ترین حد تشخیص	محدوده تشخیص	زمان پاسخ دهی	قابلیت استفاده مجدد	ملاحظات
(۳۵)	ولتامتری چرخه‌ای	۲۱ نوع مختلف از HPV	سطح طلا/کپچر الیگونوکلئوتید	فروسن	-	-	۲-۸ ساعت	-	تشخیص ۸۶٪ انواعHPV در یک نمونه بالینی، تشخیص سریع و همزمان انواع پاتوژن‌ها
(۳۶)	ولتامتری چرخه‌ای	HPV نوع ۱۶، ۱۸، ۴۵	سطح طلا/ الیگو اتیلن گلایکول/ تیول دوطرفه انتهایی	هورسرادیش پراکساید	۲۲۰ پیکومولار برای نوع ۱۶، ۱۷۰ پیکومولار برای نوع ۱۸ و ۱۱۰ پیکومولار برای نوع ۴۵	۵۰-۰/۱ نانومولار	۲۰ دقیقه	۵ مرتبه	تشخیص کمی DNA در نمونه‌های بالینی، اختصاصیت کافی برای تشخیص هم‌زمان انواع HPV
(۳۷)	طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی	HPV نوع ۱۶	نانولوله کربنی تک‌دیواره/ نانوذرات طلا	-	۱ آتومولار	۱ آتومولار تا ۱ میکرومولار	۲ ساعت	۶ مرتبه	زیست‌حسگر فوق‌العاده حساس، کاندید مناسب جهت تشخیص زودهنگام
(۳۸)	ولتامتری پالس تفاضلی	HPV نوع ۱۶	سطح طلا/ ال-سیستئین/	متیلن بلو	۱۸/۱۳ نانومولار	۱۸/۷۵ تا ۱۰۰۰ نانومولار	۱۰ دقیقه	-	یک ابزار تشخیصی قابل حمل، یک وسیله تشخیصی مؤثر در مراحل ابتدایی عفونت
(۳۹)	ولتامتری پالس تفاضلی	HPV نوع ۱۶	الکترود گرافیتی	متیلن بلو	۱/۴۹ نانومولار	۸-۲ نانومولار	۱۵ دقیقه	-	پاسخ‌دهی دقیق، اختصاصی و سریع، دستگاه کوچک و کم‌هزینه
(۴۰)	ولتامتری چرخه‌ای و	HPV نوع ۱۸	الکترود اکسید ایندیوم و قلع	-	-	۱۲/۵ تا ۱۰۰ نانومولار برای	-	-	قدرت تشخیص نمونه‌های واقعی با حساسیت و دقت بالا، قیمت

	طیف‌سنجی آمپدانس الکتروشیمیایی							ارزان پاسخ‌دهی سریع
(۴۱)	ولتامتری موج مربعی	HPV نوع ۱۶	سطح کربن/کیتوسان	آنتراکوئینون	۴ نانومولار	۰/۲ میلی‌مولار تا ۱۲ نانومولار	۱۵ دقیقه	-	انتخاب‌پذیری بالا، یک ابزار تشخیصی ارزان در مراحل اولیه عفونت
(۹)	ولتامتری موج مربعی و طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی	HPV نوع ۱۶	گرافن- پلی آنیلین	فاقد برچسب	۲/۳ نانومولار	۱۰-۲۰۰ نانومولار	۱۵ دقیقه	-	یک وسیله تشخیصی ارزان، سرطان دهانه رحم را در مراحل ابتدایی شناسایی می‌کند.
(۴۲)	ولتامتری چرخه‌ای	HPV نوع ۱۶	الکترود کربن شیشه‌ای/ نانوکربن پیازی	هورسرادیش پراکساید	۳/۹ نانومولار	-	۳۰ دقیقه	۴ مرتبه	حساسیت بالا، افزایش حساسیت در مقایسه با الکترود کربن شیشه‌ای بدون کربن
(۴۳)	ایمپدیمتریک	HPV نوع ۱۶	الکترود کربن شیشه‌ای/نانوورقه طلا	هگزاسیانوفریت	۱۵ پیکومولار	۱میکرو مولار تا ۱ پیکومولار	۲ ساعت	-	انتخاب‌پذیری بالا توانایی تشخیص نمونه‌های بالینی با حساسیت مناسب
(۴۴)	ولتامتری موج مربعی	HPV نوع ۱۸	الکترود کربن شیشه‌ای/ کربوکسی فنیل	جیوه (II)	$۱/۲\times۱۰^{-۵}$ نانومولار	-	۱ ساعت	-	قیمت ارزان، حساسیت بالا

نتیجه‌گیری

با توجه به شیوع بالا و خطرات ابتلاء به ویروس HPV، تشخیص آن امری ضروری است. همان‌طور که ذکر شد، روش‌های معمول تشخیصی این ویروس، روش‌های پرزحمت و هزینه‌بر هستند، لذا گسترش و استفاده از روش‌های مبنی بر زیست‌حسگرها برای شناسایی سریع ژنوم این ویروس پیشنهاد می‌شود، زیرا استفاده از زیست‌حسگرهای DNA، در آزمایشگاه‌های بالینی علاوه بر حساسیت و اختصاصیت بالا، نیاز به استفاده از روش‌های مبنی بر تکثیر ژنوم PCR, Real Time PCR را مرتفع می‌سازند.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد و دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. بدین‌وسیله از تمام افرادی که ما را در انجام این مطالعه یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Vinodhini K, Shanmughapriya S, Das BC, Natarajaseenivasan K. Prevalence and risk factors of HPV infection among women from various provinces of the world. Arch Gynecol Obstet 2012; 285(3):771-7.
2. Goodman A. HPV testing as a screen for cervical cancer. BMJ 2015; 350:h2372.
3. Asgarlou Z, Tehrani S, Asghari E, Arzanlou M, Naghavi-Behzad M, Piri R, et al. Cervical cancer prevention knowledge and attitudes among female university students and hospital staff in Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2016; 17(11):4921-7.
4. Shahramian I, Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb H, Moradi A, Forghani F. Prevalence of HPV Infection and high risk HPV genotypes (16, 18), among monogamous and polygamous women, in Zabol, Iran. Iran J Public Health 2011; 40(3):113-21.
5. Bulk S, Berkhof J, Bulkmans NW, Zielinski GD, Rozendaal L, Van Kemenade FJ, et al. Preferential risk of HPV16 for squamous cell carcinoma and of HPV18 for adenocarcinoma of the cervix compared to women with normal cytology in the Netherlands. Br J Cancer 2006; 94(1):171-5.
6. Chen AA, Gheit T, Franceschi S, Tommasino M, Clifford GM; IARC HPV Variant Study Group. Human *Papillomavirus* type 18 genetic variation and cervical cancer risk worldwide. J Virol 2015; 89(20):10680-7.

7. Castellsagué X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. Gynecol Oncol 2008; 110(3 Suppl 2):S4-7.
8. Harden ME, Munger K. Human papillomavirus molecular biology. Mutat Res Rev Mutat Res 2017; 772:3-12.
9. Teengam P, Siangproh W, Tuantranont A, Henry CS, Vilaivan T, Chailapakul O. Electrochemical paper-based peptide nucleic acid biosensor for detecting human papillomavirus. Anal Chim Acta 2017; 952:32-40.
10. Hernandez-Vargas G, Sosa-Hernández JE, Saldarriaga-Hernandez S, Villalba-Rodríguez AM, Parra-Saldivar R, Iqbal H. Electrochemical biosensors: a solution to pollution detection with reference to environmental contaminants. Biosensors (Basel) 2018; 8(2):E29.
11. Rasouli E, Shahnavaz Z, Basirun WJ, Rezayi M, Avan A, Ghayour-Mobarhan M, et al. Advancements in electrochemical DNA sensor for detection of human papilloma virus-A review. Anal Biochem 2018; 556:136-44.
12. Saeedfar K, Heng LY, Rezayi M. Fabricating long shelf life potentiometric urea biosensors using modified MWCNTs on screen printed electrodes. Sensor Lett 2017; 15(2):97-103.
13. Rezayi M, Gholami M, Said NR, Alias Y. A novel polymeric membrane sensor for determining titanium (III) in real samples: Experimental, molecular and regression modeling. Sensors Actuat B Chem 2016; 224:805-13.
14. Tavakoly Sany SB, Hashim R, Salleh A, Rezayi M, Karlen DJ, Razavizadeh BB, et al. Dioxin risk assessment: mechanisms of action and possible toxicity in human health. Environ Sci Pollut Res Int 2015; 22(24):19434-50.
15. Abraham AA, Rezayi M, Manan NS, Narimani L, Rosli AN, Alias Y. A novel potentiometric sensor based on 1, 2-Bis (N'-benzoylthioureido) benzene and reduced graphene oxide for determination of lead (II) cation in raw milk. Electrochim Acta 2015; 165:221-31.
16. Rahman MA, Reichman SM, De Filippis L, Sany SB, Hasegawa H. Phytoremediation of toxic metals in soils and wetlands: concepts and applications. Environ Remediat Technol Metal Contamin Soils 2016; 8:161-95.
17. Vassilakos P, Saurel J, Rondez R. Direct-to-vial use of the AutoCyte PREP liquid-based preparation for cervical-vaginal specimens in three European laboratories. Acta Cytol 1999; 43(1):65-8.
18. Sohrabi A, Rahnamaye Farzami M, Mirab Samiee S, Hossein Modarresi MH. An overview on papillomaviruses as the main cause of cervical cancer. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2015; 18(145):14-25. (Persian).
19. Karnon J, Peters J, Platt J, Chilcott J, McGoogan E, Brewer N. Liquid-based cytology in cervical screening: an updated rapid and systematic review and economic analysis. Health Technol Assess 2004; 8(20):1-78.
20. Git A, Dvinge H, Salmon-Divon M, Osborne M, Kutter C, Hadfield J, et al. Systematic comparison of microarray profiling, real-time PCR, and next-generation sequencing technologies for measuring differential microRNA expression. RNA 2010; 16(5):991-1006 .
21. Bolhassani A, Zahedifard F, Taslimi Y, Taghikhani M, Nahavandian B, Rafati S. Antibody detection against HPV16 E7 & GP96 fragments as biomarkers in cervical cancer patients. Indian J Med Res 2009; 130(5):533-41.
22. Abreu AL, Souza RP, Gimenes F, Consolaro ME. A review of methods for detect human *Papillomavirus* infection. Virol J 2012; 9:262.
23. Ndiaye C, Mena M, Alemany L, Arbyn M, Castellsagué X, Laporte L, et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. Lancet Oncol 2014; 15(12):1319-31.
24. Yeom SH, Kang BH, Kim KJ, Kang SW. Nanostructures in biosensor--a review. Frontiers Biosci 2011; 16:997-1023.
25. Caygill RL, Blair GE, Millner PA. A review on viral biosensors to detect human pathogens. Anal Chim Acta 2010; 681(1-2):8-15.
26. Higgins IJ, Lowe CR. Introduction to the principles and applications of biosensors. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 1987; 316(1176):3-11.
27. Hulanicki A, Glab S, Ingman F. Chemical sensors: definitions and classification. Pure Appl Chem 1991; 63(9):1247-50.
28. Zhu C, Yang G, Li H, Du D, Lin Y. Electrochemical sensors and biosensors based on nanomaterials and nanostructures. Anal Chem 2015; 87(1):230-49.
29. Bandodkar AJ, Wang J. Non-invasive wearable electrochemical sensors: a review. Trends Biotechnol 2014; 32(7):363-71.
30. Guilbault GG, Pravda M, Kreuzer M, O'Sullivan C. Biosensors-42 years and counting. Anal Lett 2004; 37(8):1481-96.
31. Verma N, Bhardwaj A. Biosensor technology for pesticides--a review. Appl Biochem Biotechnol 2015; 175(6):3093-119.
32. Huang H, Bai W, Dong C, Guo R, Liu Z. An ultrasensitive electrochemical DNA biosensor based on graphene/Au nanorod/polythionine for human papillomavirus DNA detection. Biosens Bioelectron 2015; 68:442-6.
33. Frías IA, Avelino KY, Silva RR, Andrade CA, Oliveira MD. Trends in biosensors for HPV: identification and diagnosis. J Sensors 2015; 2015:16.
34. Tasoglu S, Tekin HC, Inci F, Knowlton S, Wang S, Wang-Johanning F, et al. Advances in nanotechnology and microfluidics for human papillomavirus diagnostics. Proc IEEE 2015; 103(2):161-78.
35. Vernon SD, Farkas DH, Unger ER, Chan V, Miller DL, Chen YP, et al. Bioelectronic DNA detection of human papillomaviruses using eSensor™: a model system for detection of multiple pathogens. BMC Infect Dis 2003; 3(1):12.

36. Civit L, Fragoso A, Hölters S, Dürst M, O'Sullivan CK. Electrochemical genosensor array for the simultaneous detection of multiple high-risk human papillomavirus sequences in clinical samples. Anal Chim Acta 2012; 715:93-8.
37. Wang S, Li L, Jin H, Yang T, Bao W, Huang S, et al. Electrochemical detection of hepatitis B and papilloma virus DNAs using SWCNT array coated with gold nanoparticles. Biosens Bioelectron 2013; 41:205-10.
38. Campos-Ferreira DS, Nascimento GA, Souza EV, Souto-Maior MA, Arruda MS, Zanforlin DM, et al. Electrochemical DNA biosensor for human papillomavirus 16 detection in real samples. Anal Chim Acta 2013; 804:258-63.
39. Souza E, Nascimento G, Santana N, Campos-ferreira D, Bibiano J, Arruda M. Electrochemical DNA biosensor for sequences related to the human papillomavirus type 16 using methylene blue. Biosens J 2014; 3:3-7.
40. Correr WR. Development of impedimetric DNA sensor for diagnosis of Human *Papillomavirus* type 18 infection. São Paulo, Brazil: Universidade de São Paulo; 2014.
41. Jampasa S, Wonsawat W, Rodthongkum N, Siangproh W, Yanatatsaneejit P, Vilaivan T, et al. Electrochemical detection of human papillomavirus DNA type 16 using a pyrrolidinyl peptide nucleic acid probe immobilized on screen-printed carbon electrodes. Biosens Bioelectron 2014; 54:428-34.
42. Bartolome JP, Echegoyen L, Fragoso A. Reactive carbon nano-onion modified glassy carbon surfaces as DNA sensors for human papillomavirus oncogene detection with enhanced sensitivity. Anal Chem 2015; 87(13):6744-51.
43. Karimizefreh A, Mahyari FA, Vaez-Jalali M, Mohammadpour R, Sasanpour P. Impedimetic biosensor for the DNA of the human papilloma virus based on the use of gold nanosheets. Microchim Acta 2017; 184(6):1729-37.
44. Kowalczyk A, Nowicka AM. Application of mercury-mediated thymine-base pairs for successful voltammetric detection of HPV 18. Sensors Actuat B Chem 2016; 237:810-6.