

مطالعه ژنوتیپ‌های شایع ویروس پاپیلوما‌ی انسانی در جمعیت آذربایجان شرقی با استفاده از کیت HPV Direct Flow CHIP

دکتر سولماز منیری جوادحصاری^{۱*}، کیوان خاکپور^۲، سپهر پورسیف^۲، دکتر
هادی مظفری^۳

۱. استادیار گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.
۳. دکترای تخصصی پاتولوژی، آزمایشگاه پاتوبیولوژی دکتر مظفری، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۰۶

خلاصه

مقدمه: ویروس پاپیلوما‌ی انسانی (HPV) از شایع‌ترین آلودگی‌های منتقله از راه جنسی و عامل اصلی سرطان‌های دستگاه ادراری تناسلی می‌باشد. سرطان سرویکس، چهارمین عامل مرگ سرطانی در زنان بوده و در بیش از ۹۰٪ با آلودگی پایدار توسط یکی از تیپ‌های پرخطر ویروس همراه است. مطالعه حاضر با هدف تعیین ژنوتیپ‌های HPV در DNAهای استخراج شده از نمونه‌های افراد مشکوک به آلودگی HPV انجام شد.

روش کار: در این مطالعه اپیدمیولوژیکی مقطعی ۲۰۱ نمونه بافتی از افراد مشکوک به ابتلاء به HPV که در بازه زمانی سال‌های ۹۸-۱۳۹۵ جهت تشخیص به آزمایشگاه پاتوبیولوژی دکتر مظفری شهر تبریز مراجعه کرده بودند، به دست آمد. استخراج DNA با استفاده از کیت high pure viral nucleic acid extraction kit انجام و ژنوتیپ‌های ویروس با استفاده از کیت HPV Direct Flow CHIP تعیین شدند. آنالیز آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

یافته‌ها: تکثیر DNA ویروسی در ۴۵ نفر (۷۳٪) از نمونه‌ها مشاهده و به‌عنوان HPV مثبت در نظر گرفته شدند. در میان آنها، ۸ نفر (۶٪) آلودگی تیپ‌های پرخطر، ۳۶ نفر (۳۴٪) آلودگی هر دو تیپ کم‌خطر و پرخطر و ۵۶ نفر (۶۰٪) آلودگی تیپ کم‌خطر را نشان دادند. تیپ‌های ۶، ۱۱ و ۴۳ به ترتیب با فراوانی ۱۰۷، ۲۳ و ۱۰ از ۱۴۵ نفر به‌عنوان تیپ‌های شایع کم‌خطر و تیپ‌های ۱۸، ۳۹ و ۱۶ با تعداد ۲۳، ۱۱ و ۱۰ به‌عنوان تیپ‌های شایع پرخطر در این مطالعه شناسایی شدند. بیشترین تعداد زنان آلوده در بازه سنی ۳۵-۲۵ و مردان در بازه سنی ۴۰-۳۵ سال قرار داشتند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که تعیین ژنوتیپ‌های ویروس به‌عنوان یک قدم مهم در مدیریت افراد آلوده با ویروس، به ویژه آلودگی پایدار با یکی از تیپ‌های پرخطر HPV تلقی می‌شود.

کلمات کلیدی: ژنوتیپ، شیوع، کیت HPV Direct Flow CHIP، ویروس پاپیلوما‌ی انسانی

* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر سولماز منیری جوادحصاری؛ دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران. تلفن: ۰۴۱-۳۱۴۵۲۰۶۱؛ پست الکترونیک: solmazmoniri@gmail.com

مقدمه

ویروس پاپیلومای انسانی (HPV)^۱ یکی از معمول‌ترین عوامل بیماری‌های انتقالی مقاربتی در دنیا می‌باشد که سالیانه افراد زیادی را به خود مبتلا می‌کند و ارتباط تنگاتنگی با سرطان سرویکس دارد (۱، ۲). این ویروس عموماً بافت اپی‌تلیال ناحیه تناسلی را به‌خصوص در زنان درگیر می‌کند و ابتلاء به آن معمولاً توسط سیستم ایمنی خود فرد در طول ۲ سال برطرف می‌شود (۳، ۴). عفونت ویروسی با آسیب بافت‌های مخاطی و پوستی ناحیه هدف آغاز شده و به ایجاد زخم یا زگیل در موضع منجر می‌شود که بر توان ویروس HPV در تمایز سلولی بافت آلوده میزبان دلالت دارد (۵). اگر آلودگی HPV توسط سیستم ایمنی میزبان پاک‌سازی نشود، ابقای تیپ‌های پرخطر ویروس در بدن می‌تواند ژن‌های سرطان‌زا را فعال نموده و به سرطان‌های مختلف ناشی از آلودگی ویروسی منجر شود. مهم‌ترین سرطان‌های مرتبط با این ویروس شامل سرطان‌های ناحیه ادراری، تناسلی و مقعدی، همچنین سرطان‌های سر و گردن، حلق و دهان می‌باشد. سرطان سرویکس چهارمین عامل مرگ‌های ناشی از سرطان در زنان است که HPV در آن نقش زیادی دارد (۶، ۷).

HPV به خانواده ویروسی پاپیلوما^۲ تعلق دارد. ژنوم آن DNA دو رشته‌ای به طول ۸ کیلوباز است و دارای کپسید ۲۰ وجهی و فاقد پوشش می‌باشد (۵). ژنوم تمامی اعضای این خانواده دارای ۸ چارچوب باز خوانده شدن (ORF)^۳ است که در سه ناحیه قابل دسته‌بندی است: ناحیه اولیه^۴ پروتئین‌های E1، E2، E4، E5، E6 و E7 را بیان می‌کند که در این میان ژن E1 نقش مهمی در مهار پاسخ ایمنی ضدویروسی ایفا می‌کند و ژن‌های E5، E6، E7 بازیگران اصلی مسیر ترانسفرماسیون سلولی و سرطان‌زایی می‌باشند. ناحیه تأخیری^۵ شامل ژن‌های L1 و L2 رمزگذار پروتئین‌های ساختاری ویروس بوده و بخش سوم در برگیرنده ناحیه

کنترل جایگاهی (LCR)^۶ است که در رونویسی نقش دارد (۵، ۸، ۹).

این ویروس بیش از ۲۰۰ تیپ دارد که بر اساس سرطان‌زا بودن یا نبودنشان در دو دسته با ریسک بالا^۷ و یا با ریسک پایین^۸ طبقه‌بندی می‌شوند (۶، ۱۲-۱۰). تیپ‌های با ریسک پایین این ویروس معمولاً منجر به ضایعات خوش‌خیم نظیر زگیل‌ها در نواحی مختلف بدن به‌ویژه دستگاه ادراری-تناسلی، سر و گردن و ... می‌شوند. از تیپ‌های شایع این دسته می‌توان به تیپ‌های ۶، ۱۱، ۴۰، ۴۲، ۴۳، ۴۴، ۵۴، ۶۱ و ۷۲ اشاره کرد. تیپ‌های با ریسک بالای HPV معمولاً عامل سرطان‌های ناشی از ویروس پاپیلومای انسانی به‌شمار می‌روند که تیپ‌های ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳، ۳۵، ۳۹، ۴۵، ۵۱، ۵۲، ۵۶، ۵۸، ۵۹، ۶۶ و ۶۹ از تیپ‌های شایع این دسته به‌شمار می‌روند. در این میان، دو تیپ ۱۶ و ۱۸ ویروس مسئول ۷۰٪ موارد سرطان‌زایی می‌باشند (۱۳، ۱۴). واکسن‌هایی به‌منظور پیشگیری از ابتلاء به این ویروس وجود دارد و نتایج مطالعات اخیر حاکی از تأثیرگذاری واکسیناسیون به‌منظور پیشگیری از ابتلاء به سرطان گردنه رحم در ۵۰٪ موارد در سطح جهانی می‌باشد، اما به‌دلیل عدم واکسیناسیون سراسری در بسیاری از کشورهای با درآمد پایین و متوسط^۹، شیوع این ویروس در حال افزایش است (۱۵، ۱۶). علاوه بر مطالعاتی که به منظور بررسی تأثیرگذاری واکسیناسیون بر جلوگیری از ابتلاء به ویروس پاپیلومای انسانی و ناهنجاری‌های حاصل از ابتلاء به آن صورت می‌گیرد، مطالعات دیگری نیز به‌منظور بررسی پراکندگی تیپ‌های HPV در جمعیت‌های مختلف صورت می‌گیرد تا ژنوتیپ‌های شایع هر جمعیت تعیین شوند. این مطالعات در معرفی تیپ‌هایی که باید به‌طور معمول در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی (به‌منظور کاندیدهای واکسن یا دارو) یا تشخیصی (جهت غربالگری آلودگی ویروسی با حساسیت بالا) مورد بررسی قرار گیرند، حائز اهمیت بوده و می‌تواند پراکندگی تیپ‌های مختلف ویروس را در جمعیت‌ها و زمان‌های مختلف مورد

^۶Long Control Region

^۷High risk

^۸Low risk

^۹Low and middle income countries (LMICs)

^۱ Human Papiloma Virus

^۲Papillomaviridae

^۳Open Reading Frame

^۴Early region

^۵Late region

بررسی قرار دهد. همچنین استفاده از روش تشخیصی مناسب در ارائه نتایج قابل اعتماد و تکرارپذیر اهمیت ویژه‌ای دارد. در این راستا، مطالعه حاضر با هدف شناسایی ژنوتیپ‌های ویروس پاپیلوما‌ی انسانی در نمونه جمعیتی آذربایجان شرقی با استفاده از کیت HPV Direct Flow CHIP انجام شد.

روش کار

در این مطالعه اپیدمیولوژیکی مقطعی، نمونه‌های بافتی از افراد مشکوک به ابتلاء به HPV که در بازه زمانی سال‌های ۹۸-۱۳۹۵ جهت تشخیص به آزمایشگاه پاتوبیولوژی دکتر مظفری شهر تبریز مراجعه کرده بودند، به‌دست آمد. ۲۰۱ نمونه در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت و قبل از نمونه‌گیری رضایت‌نامه آگاهانه از مراجعه‌کنندگان دریافت شد. نمونه‌گیری در زنان به‌صورت پاپ اسمیر انجام گرفت. با توجه به اینکه هدف این مطالعه تعیین ژنوتیپ‌های HPV در افراد آلوده به ویروس بود، بنابراین نمونه‌گیری از افرادی انجام گرفت که به‌دلیل بروز ضایعه یا احتمال آلودگی جهت ژنوتایپینگ به آزمایشگاه تشخیص طبی ارجاع داده شده بودند. همچنین به‌منظور جامع نمودن مطالعه، مردان و کودکان در این مطالعه کنار گذاشته نشدند تا ژنوتیپ‌های مطرح در کل جمعیت مورد آزمایش شناسایی شوند.

استخراج DNA ویروسی با استفاده از high pure viral nucleic acid extraction kit کمپانی Roche طبق دستور شرکت سازنده انجام گرفت و به‌منظور تعیین ژنوتیپ‌های ویروسی از کیت HPV Direct Flow CHIP شرکت Master Diagnostica استفاده شد. این کیت قطعات ویروسی را با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR^۱) تکثیر نموده و جهت شناسایی تیپ‌های ویروسی موجود در نمونه‌ها از هیبریدیزاسیون معکوس لکه‌گذاری نقطه‌ای^۲ بهره می‌گیرد. این کیت قادر به شناسایی و غربالگری همزمان ۳۶ تیپ شایع ویروس (۱۸ تیپ

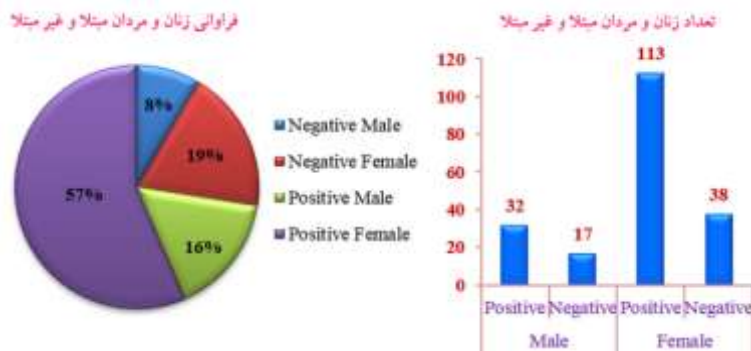
کم‌خطر و ۱۸ تیپ پرخطر) می‌باشد و از شناساگر مورد توافق ژن L1 ویروس استفاده می‌کند. این روش دارای دو نقطه لکه‌گذاری برای شناسایی هر ژنوتیپ است؛ بدین ترتیب، تمامی نمونه‌ها در تکرار دوتایی مورد مطالعه قرار گرفته و نتایج حاصل از آن قابل اعتماد و تکرارپذیر می‌باشند. بنابراین با توجه به دقت و حساسیت بالای روش تشخیصی به‌کار رفته در این مطالعه نسبت به روش‌های دارای نتایج مثبت یا منفی کاذب نظیر PCR ساده یا Real-Time PCR مورد استفاده در سایر آزمایشگاه‌های تشخیص طبی، تنها نمونه‌های افراد مراجعه‌کننده به این مرکز در طی ۳ سال در این تحقیق ارائه شده‌اند. در واقع، استفاده از کیت HPV Direct Flow CHIP در این مطالعه به‌دلیل دارا بودن دو نقطه لکه‌گذاری برای هر ژنوتیپ، نتایج قابل اعتماد و تکرارپذیری را ارائه نموده و نتایج منفی و مثبت کاذب را به حداقل می‌رساند. آنالیز آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

یافته‌ها

در این پژوهش ۲۰۱ نمونه مورد مطالعه قرار گرفت که شامل ۱۴۹ زن، ۴۹ مرد و ۳ کودک (دختر) بود. نتایج ابتلاء به HPV در ۱۱۳ نفر (۷۵٪) از زنان و ۳۲ نفر (۶۵٪) از مردان مورد مطالعه مثبت بود. بر این اساس ۱۴۵ نفر (۷۳٪) از نمونه‌ها HPV مثبت بودند (شکل ۱). ژنوتیپ‌های شناسایی شده حاکی از ابتلای ۵۶ نفر (۶۰٪) از مبتلایان به تیپ‌های کم‌خطر، ۸ نفر (۶٪) به تیپ‌های پرخطر و ۳۶ نفر (۳۴٪) ابتلای همزمان به تیپ‌های کم‌خطر و پرخطر بودند (شکل ۲).

¹ Polymerase Chain Reaction

² reverse dot blot hybridization



شکل ۱- فراوانی زنان و مردان آلوده با ویروس HPV



شکل ۲- شیوع تیپهای کم خطر و پرخطر ویروس در میان افراد مبتلا

HPV مثبت، بروز حداکثری ویروس در زنان در بازه سنی ۲۵-۴۰ سال و روند افزایشی ابتلای مردان از ۴۰-۲۵ سالگی مشاهده شد (جدول ۱).

در مطالعه حاضر ۱۵۹ نفر (۸۰٪) از مراجعان در بازه سنی ۲۵-۴۵ سال قرار داشتند که بیشترین تعداد مراجعه‌کنندگان و افراد HPV مثبت در بازه ۲۵-۳۵ سال قرار داشت. میانگین سنی در زنان $33/4 \pm 9$ و در مردان $34/6 \pm 9$ سال بود. با در نظر گرفتن جنسیت افراد



شکل ۳- فراوانی افراد مبتلا به تیپهای کم خطر و پرخطر در بازه‌های سنی مختلف

جدول ۱- فراوانی افراد مبتلا به تفکیک سن و جنسیت

بازه سنی	کمتر از ۲۵	۲۵-۳۰	۳۰-۳۵	۳۵-۴۰	۴۰-۴۵	بیشتر از ۴۵
مرد	مثبت	۱	۶	۹	۱۳	۲
	منفی	۰	۲	۸	۳	۱
زن	مثبت	۱۷	۲۹	۲۶	۱۶	۹
	منفی	۵	۸	۸	۴	۷
جمع کل	۲۳	۴۵	۵۱	۳۶	۲۷	۱۹

شدند. بررسی انتقال توأم تیپ‌های مختلف نشان داد که تیپ ۴۳ در صورت آلودگی همزمان تیپ‌های پرخطر و کم‌خطر (Low&High) تقریباً همیشه همراه با تیپ ۱۸ انتقال یافته است. همچنین، همیشه تیپ‌های ۶۲ و ۸۱ همراه با هم انتقال یافته‌اند.

در نهایت بررسی اختصاصی ژنوتیپ‌ها انجام شد که نتایج آن در شکل ۴ خلاصه شده است. شایع‌ترین ژنوتیپ‌های کم‌خطر متعلق به تیپ ۶ و ۱۱ و ۴۳ و ویروس بود، در حالی که تیپ‌های ۱۸، ۳۹ و ۱۶ به‌عنوان شایع‌ترین تیپ‌های پرخطر HPV در جمعیت مورد مطالعه برآورد



شکل ۴- تعداد افراد آلوده به هریک از ژنوتیپ‌های HPV بر اساس طبقه‌بندی تیپ‌های کم‌خطر و پرخطر ویروس

HPV در ایران در دهه اخیر آغاز شده است، اما داده‌های جامع در مورد آمار دقیق شیوع این ویروس در ایران و به‌ویژه ژنوتیپ‌های آن وجود ندارد. بنابراین تعیین ژنوتیپ‌های HPV در ایران از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است تا علاوه بر شناسایی کاندیدهای مناسب جهت طراحی واکسن بومی، ژنوتیپ‌های شایع جهت مطالعات تشخیصی، پیگیری و غربالگری این ویروس در جمعیت معرفی شوند.

در مطالعه جمالی و همکار (۲۰۱۸) بر روی ۴۰۰ نمونه پاپ اسمیر در تبریز، ۳۸/۷۵٪ از نمونه‌ها HPV مثبت بودند و تیپ‌های ۱۶، ۳۹ و ۱۸ به‌ترتیب با ۱۹٪، ۱۲٪ و ۹/۸٪ فراوانی به‌عنوان شایع‌ترین تیپ‌ها معرفی شدند (۱۹). در مطالعه سیستماتیک دیگری که بر روی نمونه‌های سرطان سرویکس در ایران انجام شد،

بحث

سالانه ۵۷۰۰۰۰ زن و ۶۰۰۰۰ مرد در دنیا به سرطان‌های مرتبط با HPV مبتلا می‌شوند که از کمتر از ۳٪ در استرالیا تا ۲۶٪ در قبایل صحرای آفریقا متفاوت می‌باشد (۱۷). شیوع سرطان سرویکس در ایران ۶ در ۱۰۰۰۰۰ نفر زن است و از این میان ۴۲٪ به مرگ منجر می‌شود (۱۸). علی‌رغم واکسیناسیون فراگیر در جوامع پیشرفته و کاهش ابتلاء به HPV در آنها، پراکندگی فزاینده ویروس در کشورهای با درآمد متوسط و پایین مشاهده می‌شود (۱۷). شناسایی ژنوتیپ‌های HPV در جمعیت‌ها، علاوه بر تقویت رویکردهای واکسیناسیون HPV، نقش بسزایی در غربالگری افراد آلوده و در معرض سرطان گردنه رحم ایفا می‌کند. مطالعات شیوع

اسمیر افراد را مستقل از حضور ضایعات قابل مشاهده مورد بررسی قرار دادند.

در مطالعه جامدار و همکاران (۲۰۱۸) که بر روی ۲۴۵۳ زن ایرانی در بازه زمانی سپتامبر ۲۰۱۵ تا مارچ ۲۰۱۷ انجام شد و در آن میانگین سنی افراد ۳۵/۸ سال بود و ابتلاء به انواع پرخطر ویروس مورد بررسی قرار گرفت، نتایج حاکی از آلودگی ۲/۹۷٪ از افراد به ویروس تیپ ۱۶، ۰/۶۵٪ افراد به تیپ ۱۸ و ۶/۷۶٪ به سایر انواع پرخطر HPV آلودگی بودند (۲۲). همان‌گونه که نتایج نشان می‌دهند میانگین سنی مطالعه جامدار و همکاران (۲۰۱۸) مشابه نمونه جمعیتی مطالعه حاضر می‌باشد، اما فراوانی ژنوتیپ‌ها تفاوت فاحشی نشان می‌دهد که به دلیل ماهیت تصادفی نمونه‌گیری توسط جامدار و همکاران (۲۰۱۸) (۲۲) در مقایسه با نمونه‌گیری این مطالعه (از افراد مشکوک به HPV) می‌باشد. از سوی دیگر، نتایج مطالعه حاضر با نتایج دو آزمایشگاه مرجع دیگر در تبریز مقایسه شد که با توجه به تفاوت در نمونه‌گیری، روش‌های تشخیصی و تعداد بالای نمونه‌های منفی در نتایج آزمایشگاه‌های ذکر شده، امکان جمع‌بندی نتایج به‌دست آمده از آزمایشگاه‌های مختلف فراهم نشد. در نهایت این مطالعه انتقال توأم تیپ‌های ۱۸ و ۴۳، همچنین تیپ‌های ۶۲ و ۸۱ را نشان داده است که مطالعه مشابهی برای مقایسه یافت نشد.

نتیجه‌گیری

شناسایی ژنوتیپ‌های HPV و عوامل خطر مرتبط با آن در هر جمعیت می‌تواند بر تبیین سیاست‌های واکسیناسیون HPV اثر بگذارد. همچنین در غربالگری ژنوتیپ‌ها با حساسیت بالا به منظور شناسایی افراد آلوده با ویروس، مدیریت بیماری و تشخیص نوپلازی داخل اپی‌تلیال در افراد مبتلا نقش ایفا نماید. ۷۳٪ از نمونه‌های این مطالعه HPV مثبت بودند که در این میان سهم عمده متعلق به انواع با ریسک پایین ویروس بود. ژنوتیپ‌های ۶، ۱۱ و ۳۳ در میان انواع کم‌خطر و تیپ‌های ۱۸، ۳۹ و ۱۶ در دسته پرخطر به‌عنوان شایع‌ترین ژنوتیپ‌های جمعیت مورد مطالعه معرفی

تیپ‌های ۱۶، ۱۸ و ۳۱ به‌ترتیب با ۵۴٪، ۱۴٪ و ۶٪ به‌عنوان ژنوتیپ‌های شایع ویروس معرفی شدند (۱۸). این در حالی است که در مطالعه حاضر ۷۵٪ از نمونه‌های زنان HPV مثبت و تیپ‌های ۱۸، ۳۹ و ۱۶ به‌عنوان ژنوتیپ‌های پرخطر شایع به‌دست آمدند. تفاوت در تعداد نمونه‌های مثبت می‌تواند ناشی از تفاوت در نمونه‌گیری دو مطالعه باشد. جمالی و همکار (۲۰۱۸) نمونه‌های غربالگری پاپ اسمیر را مورد مطالعه قرار دادند، در حالی که در این مطالعه نمونه‌ها از افراد مشکوک به آلودگی HPV به‌دست آمد. بنابراین فراوانی بالای نمونه‌های HPV مثبت در این مطالعه دور از انتظار نبود. ملکوتی و همکاران (۲۰۱۶) فراوانی افراد HPV مثبت را در زنان دارای مشکلات تناسلی یا بهداشتی ۲۰/۸٪ گزارش کردند، اما اشاره‌ای به تیپ‌های ویروس نمودند (۲۰). بنابراین، مقایسه یافته‌های آنها با مطالعه حاضر امکان‌پذیر نبود.

در مطالعه حاضر، تیپ ۱۸ به‌عنوان شایع‌ترین تیپ پرخطر در ۳۳٪ از نمونه‌های پرخطر (در ۱۵/۸٪ از نمونه‌های HPV مثبت) مشاهده شد. با توجه به معرفی تیپ ۱۶ به‌عنوان تیپ شایع در دو مطالعه قبلی (۱۹، ۱۸)، دلیل این تفاوت می‌تواند ناشی از دوام^۱ تیپ ۱۶ HPV در بدن و پاک‌سازی نسبتاً سریع تیپ ۱۸ توسط سیستم دفاعی بدن باشد (۲۱). بنابراین در این مطالعه فراوانی تیپ ۱۶ در زنان مبتلا به سرطان سرویکس ۵۴٪، در زنان دارای شکایت در دستگاه تناسلی ۱۹٪ و در افراد مشکوک به HPV ۶/۸٪ به‌دست آمد. با توجه به اینکه جمالی و همکار (۲۰۱۸) تعداد محدودی از تیپ‌های کم‌خطر را مطالعه نمودند (۱۹)، نتایج آنها با نتایج مطالعه حاضر قابل مقایسه نبود. از سوی دیگر، در مورد تیپ‌های کم‌خطر بررسی شده نیز تفاوت فاحشی با این مطالعه وجود دارد. شیوع بالای تیپ‌های ۶ و ۱۱ در مطالعه حاضر می‌تواند ناشی از نمونه‌گیری از افراد دارای ضایعات قابل مشاهده (زگیل) باشد که ویژگی تیپ‌های کم‌خطر ویروس می‌باشد، درحالی‌که جمالی و همکار نمونه‌های پاپ

¹ Persistent infection

مراجعین یک مرکز می‌باشد، لازم است که تعمیم آن به جمعیت آذربایجان شرقی با احتیاط صورت بگیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمام افرادی که در روند اجرای این مطالعه با پژوهشگران همکاری نمودند به ویژه از کارکنان آزمایشگاه پاتوبیولوژی دکتر مظفری شهر تبریز تشکر و قدردانی می‌گردد.

شدند. همچنین استفاده از کیت HPV Direct Flow CHIP برای تشخیص آلودگی‌های HPV از بهترین روش‌ها محسوب می‌شود، زیرا علاوه بر سهولت استفاده، از توانایی شناسایی ۳۶ تیپ شایع ویروس در هر دو دسته کم‌خطر و پرخطر برخوردار است. همچنین با توجه به دارا بودن دو نقطه لکه‌گذاری برای هر ژنوتیپ، نتایج حاصل از آن قابل اعتماد و تکرارپذیر است. با توجه به اینکه نتایج ارائه شده در این مقاله مبتنی بر یک روش تشخیصی خاص و نمونه‌های

منابع

1. Preston SM, Darrow WW. Improving Human Papillomavirus-Related Knowledge and Attitudes Among Ethnically Diverse Young Adults. *Health Equity* 2019; 3(1):254-63.
2. World Health Organization. Cervical cancer. World Health Organization; 2019. Available from: <https://www.who.int/cancer/prevention/diagnosis-screening/cervical-cancer/en/>.
3. Kajitani N, Satsuka A, Kawate A, Sakai H. Productive lifecycle of human papillomaviruses that depends upon squamous epithelial differentiation. *Front Microbiol* 2012; 3:152.
4. Graham SV. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clin Sci (Lond)* 2017; 131(17):2201-21.
5. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Human Papillomaviruses. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2007. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 90.) Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK321760/>
6. Shanmugasundaram S, You J. Targeting persistent human papillomavirus infection. *Viruses* 2017; 9(8):E229.
7. Malakouti J, Mirghafourvand M, Gorbani M, Salehi Poormeher H, Pourasad Shahrak SH, Jafari Shabiri M. Incidence of Human Papilloma Virus (HPV) infection and its relevant factors among women referring to Alzahra Therapeutic-Educational Center of Tabriz, September 2013 to March 2014. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2016;18(185):16-22.
8. Campo MS, Roden RB. Papillomavirus prophylactic vaccines: established successes, new approaches. *J Virol* 2010; 84(3):1214-20.
9. Castro-Muñoz LJ, Manzo-Merino J, Muñoz-Bello JO, Olmedo-Nieva L, Cedro-Tanda A, Alfaro-Ruiz LA, et al. The Human Papillomavirus (HPV) E1 protein regulates the expression of cellular genes involved in immune response. *Sci Rep* 2019; 9(1):13620.
10. Choi YJ, Park JS. Clinical significance of human papillomavirus genotyping. *J Gynecol Oncol* 2016; 27(2):e21.
11. Åhrlund-Richter A, Cheng L, Hu YOO, Svensson M, Pennhag AA, Ursu RG, et al. Changes in Cervical Human Papillomavirus (HPV) Prevalence at a Youth Clinic in Stockholm, Sweden, a Decade After the Introduction of the HPV Vaccine. *Front Cell Infect Microbiol* 2019; 9:59.
12. de Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int J Cancer* 2017; 141(4):664-70.
13. Moniri Javadhesari S, Pourseif S, Khakpour K. Nucleic acid vaccines for human papillomavirus; prevention or treatment. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2019; 22(7):77-88.
14. Cutts FT, Franceschi S, Goldie S, Castellsague X, de Sanjose S, Garnett G, et al. Human papillomavirus and HPV vaccines: a review. *Bull World Health Organ* 2007; 85(9):719-26.
15. Toh ZQ, Kosasih J, Russell FM, Garland SM, Mulholland EK, Licciardi PV. Recombinant human papillomavirus nonavalent vaccine in the prevention of cancers caused by human papillomavirus. *Infect Drug Resist* 2019; 12:1951-1967.
16. de Sanjosé S, Serrano B, Tous S, Alejo M, Lloveras B, Quirós B, et al. Burden of human papillomavirus (HPV)-related cancers attributable to HPVs 6/11/16/18/31/33/45/52 and 58. *JNCI Cancer Spectrum* 2018; 2(4):pky045.
17. de Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int J Cancer* 2017; 141(4):664-670.
18. Khorasanizadeh F, Hassanloo J, Khaksar N, Mohammad Taheri S, Marzaban M, H Rashidi B, 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.
19. 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.

20. Malakouti J, Mirghafourvand M, Gorbani M, Salehi Poormehr H, Poursad Shahrak S, Jafari Shabiri M. Incidence of Human Papilloma Virus (HPV) infection and its relevant factors among women referring to Alzahra Therapeutic-Educational Center of Tabriz, September 2013 to March 2014. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2016; 18(185):16-22.
21. Byun JM, Jeong DH, Kim YN, Jung EJ, Lee KB, Sung MS, et al. Persistent HPV-16 infection leads to recurrence of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97(51):e13606.
22. Jandar F, Farzaneh F, Navidpour F, Younesi S, Balvayeh P, Hosseini M, et al. Prevalence of human papillomavirus infection among Iranian women using COBAS HPV DNA testing. *Infect Agent Cancer* 2018; 13:6