مقاله پژوهشی

بررسی رابطه پاپیلوما ویروس انسانی و هرپس سیمپلکس ویروس نوع ۱ و ۲ با ضایعه‌های اندومتریوزی

فاطمه عزیزوکیلی[۱و۲]، گیتا سعادت نیا[۳]*، مهناز هادی‌زاده[۳]

۱- مرکز تحقیقات سلولی مولکولی و سلول‌های بنیادی صارم، بیمارستان فوق تخصصی صارم، تهران، ایران
۲- دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۳- پژوهشکده زیست‌فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۱/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: اندومتریوز یک بیماری شایع در زنان است که در آن بافت اندومتر رحم درجایی خارج از رحم، شروع به رشد می‌کند. عوامل زیادی در ایجاد این بیماری نقش دارند، مطالعات نشان داده است که عوامل عفونی به دلیل ایجاد التهاب می‌توانند زمینه‌ساز بروز اندومتریوز گردند. در این مطالعه حضور عفونت‌های ویروسی پاپیلومای انسانی و هرپس سیمپلکس نوع ۱ و ۲ در ضایعات اندومتریوزی بررسی شدند.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد- شاهدی، در بیمارستان فوق تخصصی صارم انجام گردید، ۴۰ بلوک پارافینی اندومتریوزیس و ۴۰ بلوک حاوی بافت اندومتر طبیعی افراد عاری از اندومتریوز به‌عنوان شاهد انتخاب شدند. پس از استخراج DNA، بررسی مولکولی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تشخیص عفونت‌های ذکرشده انجام شد.

نتایج: نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که در بررسی عفونت پاپیلومایی، DNA این ویروس در ۱ نمونه (۲/۵٪) از بافت‌های گروه بیمار و ۶ نمونه (۱۵٪) از بافت‌های افراد سالم تشخیص داده شد. آلودگی به هرپس ویروس، در ۵ نمونه (۱۲/۵٪) از بافت‌های اندومتریوزی و ۲ نمونه (۵٪) از گروه کنترل مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان داد که بین عفونت پاپیلومای انسانی و هرپس سیمپلکس با بیماری اندومتریوز ارتباط آماری معنی‌داری وجود ندارد. به عبارتی حضور این ویروس‌ها به‌عنوان عواملی که احتمال بروز بیماری اندومتریوز را افزایش دهند تائید نگردید (P=۰/۱۴ و P=۰/۳۸ به ترتیب) اگرچه برای نتیجه‌گیری نهایی، مطالعات جامع‌تری موردنیاز است.

کلمات کلیدی: اندومتریوز، ویروس پاپیلومای انسانی، ویروس هرپس سیمپلکس، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

مقدمه

اندومتریوز یکی از اختلالات شایع در زنان است. در این بیماری بافت‌هایی شبیه اندومتر رحم خارج از محل اصلی خود رشد می‌کنند (۱، ۲). ضایعه‌های اندومتریوزی می‌توانند در بیشتر بافت‌های بدن به وجود آیند ولی رایج‌ترین محل پدید آمدن آن‌ها، لگن است که در این قسمت، تخمدان‌ها بیش از دیگر اندام‌ها گرفتار اندومتریوز می‌شوند (۳، ۴)؛ بنابراین هم‌زمان با دوره‌های ماهیانه زنان این نقاط خونریزی می‌کنند و دشواری‌های فراوانی برای فرد به وجود می‌آورند که از شایع‌ترین آن‌ها دیسمنوره یا درد هنگام عادت ماهانه، نازایی و دردهای مزمن لگنی است (۵، ۶). بیشترین سن ابتلا به این بیماری ۲۵ تا ۴۰ سالگی است، همچنین اندومتریوز عامل ۵ تا ۱۵ درصد موارد نازایی در زنان است (۱، ۷). مطالعات نشان داده است که پارامترهای مختلفی همچون عوامل ژنتیکی، ایمنولوژیکی، هورمونی و زیست‌محیطی در ایجاد اندومتریوز نقش دارد ولی هنوز علت واقعی اندومتریوز ناشناخته مانده است (۱۱-۸).

مطالعات متعددی در جهان آلودگی‌های ویروسی و باکتریایی را که در ارتباط زیاد با عفونت دستگاه تناسلی زنان هستند، به‌عنوان عوامل مؤثر در ایجاد اندومتریوز موردبررسی قرار داده‌اند (۱۲، ۱۳). در مورد عوامل ویروسی عفونت‌زا در دستگاه تناسلی، پاتوژن‌های زیادی وجود دارد ولی عفونت پاپیلومای انسانی (HPV)، شایع‌ترین عفونت ویروسی DNAدار مجاری تناسلی است (۱۴، ۱۵). ویروس پاپیلوما تمایل بسیار زیادی به

***نویسنده مسئول: گیتا سعادت نیا**، پژوهشکده زیست‌فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران
Email: gitasaadat@gmail.com

سلول‌های پوششی پوست و سلول‌های مخاطی دارد. انتقال پاپیلوماي انسانی در ارتباط با ضایعات تناسلی شایع است. پاپیلوما ویروس‌های انسانی بر اساس پتانسیل سرطان‌زایی به دودسته پرخطر و کم‌خطر تقسیم می‌شوند (۱۶). تاکنون بیش از ۱۰۰ نوع HPV شناسایی شده‌اند و حداقل ۲۰ نوع آن با سرطان گردن رحم همراه است. انواع کم‌خطر و یا غیر سرطانی ویروس باعث اختلالات خوش‌خیم یا درجه پایین سلولی دهانه رحم می‌شوند که از شایع‌ترین آن‌ها تایپ‌های ویروسی ۶ و ۱۱ هستند (۱۵، ۱۷) برخی مطالعات نشان داده است که ابتلا به عفونت پاپیلوماي انسانی می‌تواند احتمال ایجاد اندومتریوز را افزایش دهد (۴، ۱۳). اکثر بیماری‌های مقاربتی مانند عفونت ویروسی هرپس سیمپلکس(HSV) در زنان بدون علامت هستند. هرپس تناسلی عموماً به‌عنوان یک بیماری مقاربتی مزمن رایج در کشورهای درحال‌توسعه و با عوارض قابل‌توجهی شناخته شده است. عفونت در اثر آلودگی به دو نوع ویروس HSV-2 (عمدتاً) و HSV-1 (گاهی اوقات) ایجاد می‌شود (۱۸). این ویروس معمولاً در غشاء مخاطی و ضایعات پوستی آلت تناسلی باعث ایجاد التهاب و عفونت می‌شود (۱۹، ۲۰) فرض بر آن است که حضور این عوامل ویروسی در دستگاه تناسلی با افزایش التهاب و اختلال در پاسخ سیستم ایمنی خطر بروز اندومتریوز را افزایش دهد. با توجه به اهمیت موضوع و اینکه در ایران مطالعات محدودی درزمینه تعیین ارتباط بین ابتلا به عوامل عفونی و ایجاد اندومتریوز صورت گرفته است، در این مطالعه سعی شد تا رابطه آلودگی به ویروس‌های پاپیلوماي انسانی و هرپس نوع ۱ و ۲ در بروز ضایعات اندومتریوزی موردبررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

این مطالعه مورد- شاهدی در کمیته اخلاق مرکز تحقیقات سلولی مولکولی صارم تصویب گردید (شماره: ۷۷۲-۹۳۰۱۰). نمونه‌های موردمطالعه بیماران سن ۴۲-۲۰ سال بوده‌اند که در طول سال‌های ۹۴- ۹۳ در بیمارستان فوق تخصصی صارم تحت عمل جراحی قرار گرفتند. از کلیه افراد شرکت‌کننده در این مطالعه قبل از عمل جراحی رضایت آگاهانه اخذ گردید و نمونه‌ها با رعایت کلیه اصول و کُدهای کمیته اخلاق پزشکی تهیه شدند. بافت‌های موردنیاز برای آزمایش از طریق لاپاراسکوپی و یا لاپراتومی تهیه گردید. این نمونه‌ها شامل مواردی بود که ضایعه اندومتریوزی آن‌ها توسط پاتولوژیست تائید شده بود (۴۰ نمونه)، نمونه‌های کنترل، نمونه اندومتر افراد عاری از اندومتریوزی بود که به یکی از دلایل کیست رحمی، ناباروری بدون علت و یا خونریزی غیرطبیعی، تحت عمل کورتاژ اندومتر قرار گرفته بودند (۴۰ نمونه) که توسط بخش پاتولوژی آزمایشگاه صارم در فرمالین تثبیت و در قالب‌های پارافین قرار داده شد بود. زنان موردمطالعه در گروه‌های شاهد و بیمار، در یک گروه سنی قرار داشتند.

جهت استخراج DNA، با استفاده از میکروتوم برش‌های ۱۰ میکرونی به تعداد ۴ تا ۵ عدد از هر بلوک تهیه و در میکروتیوب‌های استریل قرار داده شد. برای پارافین زدایی ۱۰۰۰ میکرولیتر گزیلن به تیوب اضافه گردید و مخلوط به مدت سی دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد تا پارافین از بین برود. پس از تکرار این مرحله، ۵۰۰ میکرولیتر الکل با درجات ۵۰ و ۷۰ و ۱۰۰ و درنهایت آب مقطر هر یک به مدت ده ثانیه به تیوب‌ها اضافه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در دور ۸۰۰۰g سانتریفوژ شده و پس‌ازآن آب روی رسوب گرفته و باقی ماندند تا کاملاً خشک شوند. درنهایت ۲۵ میلی‌گرم از بافت به میکروتیوب جدید منتقل شد و بقیه مراحل استخراج DNA با استفاده از کیت آلمانی شرکت روش (Roche, GmbH)، مطابق با پروتکل موجود در کیت صورت گرفت، سپس DNAهای استخراج‌شده تغلیظ شد، به‌طور خلاصه ابتدا سه برابر هر نمونه DNA استخراج‌شده الکل ۹۶٪ سرد و ۰/۱ برابر آمونیوم استات سرد اضافه گردید، سپس نمونه‌ها در فریزر ۲۰- درجه قرار داده شدند پس از ۲۴ ساعت نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در دور ۱۶۰۰۰g سانتریفوژ شد. در این مرحله مواد روی رسوب DNA خارج و ۴۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰٪ سرد اضافه گردید و مجدد به مدت ۳۰ دقیقه با همان دور سانتریفوژ انجام شد. در آخر مواد رویی خارج گردید و رسوب باقی ماند تا خشک شود در آخر ۵۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر به هر نمونه اضافه و برای استفاده‌های بعدی به فریزر ۲۰- درجه انتقال یافت. برای اطمینان از صحت استخراج، ۲ میکرولیتر از هر نمونه روی ژل اگاروز ۱/۵ درصد برده شد.

جهت تشخیص پاپیلوما ویروس از پرایمرهای MY09، MY11 مربوط به ژن L1 ویروس استفاده گردید (۳، ۲۱) توالی پرایمرها در جدول شماره۱ آمده است. PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام گردید، هر تیوب شامل ۵ میکرولیتر از DNA نمونه، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر و ۱۲ میکرولیتر مسترمیکس (Fermentas, EU) بود. PCR در دستگاه ترموسایکلر (Primus-25, USA) گذاشته شد، برنامه تکثیر شامل یک چرخه، مرحله

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده‌شده برای تشخیص ژن L1 ویروس پاپیلومای انسانی

نام پرایمر	توالی پرایمر (5´→3´)	توضیحات	اندازه محصول PCR	منابع
پیش‌رونده MY09	5-CGTCCMARRGGAWACTGATC-3	R=A/C W=A/T M=A/T	۴۵۰ جفت باز	Venceslau,et al 2014 (3) Coutlee et al 1999 (21)
معکوس MY11	5-GCMCAGGGWCATAAYAATGG-3	M=A/C W=A/T Y=C/T		

واسرشت اولیه DNA با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱/۵ دقیقه و ۴۵ سیکل شامل مرحله واسرشت در دمای ۹۴ درجه به مدت ۵۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در دمای ۶۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه و گسترش پرایمر در ۷۲ درجه به مدت ۵۰ ثانیه انجام گرفت و درنهایت به منظور تثبیت و سرد شدن در دمای ۱۰ درجه باقی ماندند. مشاهده باندی با وزن مولکولی ۴۵۰bp در محصول PCR نشان‌دهنده مثبت بودن نمونه بود. در تمامی مراحل برای شناسایی آلودگی‌های احتمالی از کنترل منفی (نمونه آب به‌جای DNA) و کنترل مثبت استاندارد از کیت HPV Type 3.5 LCD-Array (Chipron GmbH) استفاده شد.

برای تشخیص هرپس ویروس از کیت تشخیصی اختصاصی HSV1, 2، (DNA Technology, Moscow, Russia)، استفاده گردید و مطابق با پروتکل موجود در کیت، PCR گذاشته شد. ابتدا نمونه‌ها به مدت ۹۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه قرار داده شدند و سپس برنامه دمایی شامل دو سری سیکل ۵ و ۴۰ تایی بود. در ۵ سیکل ابتدایی ترموسایکلر در دماهای ۹۴، ۶۷ و ۷۲ درجه هرکدام ۵۰ ثانیه تنظیم گردید و ۴۰ سیکل بعدی به ترتیب در دماهای ۹۳، ۶۷ و ۶۲ درجه هرکدام ۵۰ ثانیه انجام شد و در آخر مرحله نگهداری در دمای ۱۰ درجه بود. مشاهده باند کنترل داخلی نشان‌دهنده صحت انجام واکنش PCR در کلیه نمونه‌ها بوده و مشاهده باند در محدوده ۲۶۱bp نشان‌دهنده عفونت می‌باشد (مطابق با دستورالعمل کیت). در آخر برای الکتروفورز از ژل آگارز ۱/۵٪ استفاده گردید، ۵ میکرولیتر از محصول PCR هر نمونه با مقداری رنگ ژل رد مخلوط و در چاهک‌ها تزریق شد، نتایج با دستگاه ژل‌داک (شرکت DNA تکنولوژی، ایران) ثبت گردید و موردبررسی و آنالیز قرار گرفت. کلیه نتایج با استفاده از نرم افزار آماری spss ویراست ۱۶ بررسی گردیدند و برای آنالیز آماری از آزمون T-test و Fisher Exact test استفاده گردید و P-Value < ۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

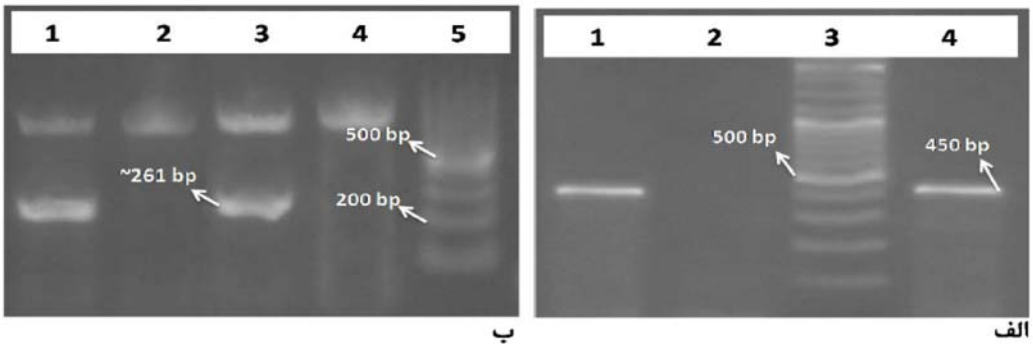
نتایج

در این تحقیق ۸۰ بلوک پارافینی موردبررسی قرار گرفت که نمونه‌های بیماران مربوط به افرادی بودند که از لحاظ سنی به‌طور میانگین ۳۲/۹±۵/۷۴ سال از لحاظ شاخص توده بدنی به‌طور میانگین ۲۲/۸±۲/۷۵ کیلوگرم بر متر مکعب و از نظر سن شروع قاعدگی ۱۲/۷۲±۲/۱۰ سال داشتند. افراد گروه شاهد دارای میانگین سنی ۳۵/۷±۶/۹۱، شاخص توده بدنی ۲۲/۸۵±۲/۷۴ کیلوگرم بر متر مکعب و سن شروع قاعدگی ۱۴±۱/۵۸ سال بودند (جدول ۲).

در بررسی حضور عفونت HPV، در این مطالعه، تنها در یک نمونه (۲/۵٪) از بافت‌های اندومتریوزی DNA ویروس مشاهده شد همچنین ۶ نمونه (۱۵٪) از بافت‌های افراد سالم مثبت تشخیص داده شدند. در بررسی عفونت HSV، DNA ویروس هرپس در ۵ نمونه (۱۲/۵٪) از بافت‌های اندومتریوزی و در ۲ نمونه (۵٪) از گروه افراد سالم مشاهده گردید. شکل۱ نمونه‌ای از نتایج حاصل از PCR را که جهت تشخیص عفونت پاپیلوما ویروس و هرپس در نمونه‌های اندومتریوزی بیماران انجام شده است را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج آنالیز آماری حاصل از آزمون Fisher Exact test می‌توان نتیجه گرفت که ارتباط معنی‌داری بین عفونت HPV و بروز اندومتریوز وجود ندارد (P=۰/۱۴). همچنین در بررسی عفونت HSV نیز باید گفت که مطابق با نتایج آزمون دقیق فیشر، رابطه معنی‌داری مابین حضور عفونت و بیماری اندومتریوز وجود ندارد (P=۰/۳۸). در بررسی مقایسه‌ای دو گروه بیمار و سالم که با استفاده از آزمون آماری T-Test، متغیرهای سن، تعداد بارداری، تعداد زایمان، تعداد سقط، تعداد فرزند زنده، سن شروع قاعدگی و شاخص توده بدنی مورد ارزیابی قرار گرفت، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه مشاهده نگردید (Pv>0.05). نتایج حاصل از آنالیز آماری

جدول۲. متغیرهای کمی مورد مطالعه (ردیف اول گروه بیمار، ردیف دوم گروه شاهد)

متغیر	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر	ارزش P
سن	۳۲/۹	۵/۷۴	۲۳	۴۲	۰/۳۴۲
	۳۵/۷	۶/۹۱	۲۰	۴۲	
تعداد بارداری	۰/۷۵	۱/۲۹	۰	۶	۰/۰۹۷
	۱/۴۱	۰/۵۱	۱	۲	
تعداد زایمان	۰/۳۷	۰/۶۴	۰	۲	۰/۲۱۲
	۰/۶۶	۰/۶۵	۰	۲	
تعداد سقط	۰/۲۵	۱/۰۳	۰	۵	۰/۵۸۹
	۰/۰۸۳	۰/۲۸	۰	۱	
تعداد فرزند زنده	۰/۱۶	۰/۳۸	۰	۱	۰/۱۵۴
	۰/۴۱	۰/۵۱	۰	۱	
سن منارک	۱۲/۷۲	۲/۱۰	۱۰	۱۹	۰/۲۲۴
	۱۴	۱/۵۸	۱۲	۱۶	
شاخص توده بدنی	۲۲/۸۵	۲/۷۵	۱۷/۷	۲۸/۶	۰/۱۵۱
	۲۲/۸۵	۲/۷۴	۱۷/۷۲	۲۸/۵۸	



شکل۱. نمونه‌ای از نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
الف- تشخیص عفونت HPV (۱: کنترل مثبت، ۲: کنترل منفی، ۳: شاخص وزن مولکولی، ۴: نمونه بالینی)
ب- تشخیص عفونت HSV (۱: کنترل مثبت، ۲: کنترل منفی ۳ و ۴: نمونه بالینی، ۵: شاخص وزن مولکولی)

متغیرهای کمی مورد مطالعه مربوط به گروه‌های بیمار و شاهد در جدول ۲ خلاصه شده است.

بحث و نتیجه گیری

با این که تقریباً بیش از یک قرن از زمان معرفی اندومتریوز می‌گذرد، هنوز اطلاعات در مورد سبب‌شناسی این بیماری ناقص است. تئوری‌های گوناگونی در مورد چگونگی پیدایش این بیماری مطرح شده است، از جمله تئوری سمپسون (Sampson) که بیان می‌کند به عقب برگشتن خون قاعدگی طی عادت ماهیانه می‌تواند باعث کاشت سلول‌های اندومتر در حفره صفاق و اندومتریوز گردد (۲۲)، نظریه متاپلازی سیلومی (Coelomic metaplasia theory) و نظریه القا (Induction theory) (۲۳، ۲۴) ولی هیچ کدام از نظریه‌ها نمی‌تواند به طور کامل همه موارد بیماری را توضیح دهد (۲۵، ۲۶). این امر نشان می‌دهد که عوامل دیگری نیز وجود دارند که باعث القا و پیشرفت بیماری می‌شوند، مشخص‌شده که فاکتورهای هورمونی و ایمونولوژیک، عوامل ژنتیکی و محیطی، مواد شیمیایی و سابقه عفونت در بروز اندومتریوز نقش دارند (۲۴).

اندومتریوز یک بیماری وابسته به هورمون است که استروژن نقش مهمی در تکامل آن دارد. مطالعات نشان می‌دهد هورمون استروژن رشد بافت اندومتر را خارج از رحم افزایش می‌دهد که

ممکن است سیستم غدد درون‌ریز در بروز آن مؤثر باشد (۲۷). مطالعه‌های انجام‌شده بر پایه‌ی پیشینه‌ی خانوادگی افراد و نیز مطالعه‌ی دوقلوها ثابت کرده است که زمینه قوی ژنتیکی در بیماری اندمتریوز دخالت دارد. در زنانی که دارای پیشینه خانوادگی اندومتریوز در مادر یا خواهرشان بوده‌اند، احتمال بروز این بیماری ۹-۶ برابر بیشتر است (۲۸). در مورد عوامل محیطی، یک پژوهش اخیر عوامل خطرناک وابسته به رژیم غذایی را برای اندومتریوز در یک تحقیق جمعیت محور موردبررسی قرار داد. نتایج نشان می‌دهند که ترکیبات خاص در رژیم غذایی ممکن است با ایجاد اندومتریوز مرتبط باشند به‌طور مثال مصرف لبنیات خطر ابتلا به بیماری را کاهش می‌دهد (۲۹).

در تحقیقی که توسط oppelt و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام شد همانند مطالعه حاضر برای تشخیص عفونت پاپیلومای انسانی به شناسایی ژن HPV L1 با استفاده از روش PCR پرداختند. محققین در این مطالعه ۶۲ نمونه بیمار اندومتریوزیس و ۲۹ بافت اندومتر به‌عنوان کنترل را موردبررسی قرار دادند، از این تعداد ۷ مورد از ۶۲ نمونه بیمار (۱۱/۳٪) و ۸ مورد از ۲۹ نمونه کنترل (۲۷/۵٪) برای DNA-HPV مثبت گزارش شد. ولی در بررسی هرپس ویروس و کلامیدیا تراکوماتیس فقط بافت‌های اندومتریوزی مورد مطالعه قرار گرفت و هیچ DNA کلامیدیایی و هرپس در بافت‌های بیماران دیده نشد و ارتباط آماری معنی‌داری که وجود این عفونت‌ها شانس ابتلا به اندومتریوز را بیشتر می‌کند پیدا نکردند (۴). هر چند در این مطالعه درصد نمونه‌های پاپیلوما مثبت بیماران نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بوده ولی نتیجه‌گیری شده که با توجه به نقش ثابت‌شده HPV در ایجاد تومورها آلودگی به این ویروس می‌تواند در ایجاد اندومتریوز نیز نقش داشته باشد.

در مطالعه حاضر HPV DNA تنها در یک نمونه از بافت‌های گروه بیمار یافت شد در حالی که در شش مورد از نمونه‌های کنترل، آلودگی به این ویروس مشخص گردید و آنالیز آماری نیز عدم ارتباط این عفونت با ایجاد اندومتریوز را نشان داد. آلودگی به هرپس ویروس، در تعداد بیشتری از نمونه‌های بافت‌های اندومتریوزی نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید ولی بررسی آماری ارتباط معنی‌داری بین این عفونت و بروز اندومتریوز نشان نداد. با توجه به اینکه اندومتریوز یک عارضه پاتولوژیک پیچیده است به نظر می‌رسد التهاب و اختلال ایجادشده در سیستم ایمنی در نتیجه ابتلا به عفونت‌ها، قدرت تهاجم لایه بازال اندومتر را همراه با برگشت خون قاعدگی به داخل شکم و ناحیه میومتریال افزایش دهد، بنابراین ممکن است بدلیل حجم کم نمونه در این مطالعه به نتایج مورد انتظار دست نیافتیم.

Vestergaard و همکاران در سال ۲۰۱۰ تحقیقات گسترده‌ای را مبنی بر تعیین نقش ویروس‌ها در ایجاد اندومتریوز انجام دادند، در این مطالعه متداول‌ترین ویروس‌های بیماری‌زای DNAدار از جمله HPV، HSV، CMV و EBV در اندومتر و زخم‌های اندومتری زنانی که دچار اندومتریوز بودند و زنان سالم، موردبررسی قرار گرفت و گزارش شد که ویروس هرپس در بافت‌های اندومتریوزی تشخیص داده نشد، در حالی که شیوع پایینی از CMV و EBV در اندومتر مشاهده گردید، در این مطالعه ۲۰ نمونه بافت اندومتر و ۳۲ نمونه بافت اندومتریوزیس برای شناسایی ویروس HPV مورد مطالعه قرار گرفت، آن‌ها نیز از ژن L1 استفاده نمودند و نتایج نشان می‌داد که تنها ۳٪ نمونه‌های اندومتریوزیس و ۱۰٪ نمونه‌های کنترلی حاوی DNA-HPV بودند و ارتباط آماری معنی‌داری بین حضور HPV و بیماری اندومتریوز گزارش نکردند که این مطالعه نتایج حاصل از مطالعه ما را تائید می‌کند (۱۴).

در ایران مطالعات محدودی در این زمینه انجام شده است، معینی و همکاران در سال ۱۳۹۱ با روش PCR به بررسی حضور DNA ویروس پاپیلومای انسانی در نمونه‌های اندومتریوزی و عاری از آن پرداختند و گزارش کرده‌اند که از ۴۳ نمونه بافت اندومتریوزیس ۱۱ مورد (۲۵/۵۸٪) مثبت و از ۴۳ نمونه بافت اندومتر تنها ۷ مورد (۱۶/۲۷٪) مثبت شده است و نتیجه‌گیری کرده‌اند که پایداری عفونت پاپیلومایی در ضایعه‌های اندومتریوزی می‌تواند به پیشرفت آن کمک کند (۵). در دسامبر ۲۰۱۶ حیدرپور و همکاران نتایج مطالعه خود را با عنوان شیوع عفونت پاپیلومای انسانی پر خطر در زنان مبتلا به اندومتریوز تخمدان منتشر نمودند. در این مطالعه مقطعی ویروس HPV در ۲۶٪ از نمونه‌های اندومتریوز تخمدان و در ۱۰/۲٪ از نمونه‌های کنترل مشاهده گردیده و با توجه به حضور بیشتر آلودگی در نمونه‌های اندومتریوزی جهت تائید نقش زمینه‌ساز آن در اندومتریوز مطالعات بیشتری را توصیه نموده‌اند (۱۲). ممکن است مغایرت مشاهده‌شده بین این نتایج و یافته‌های مطالعه حاضر به دلیل جامعه مورد مطالعه باشد که در این مطالعه تمامی نمونه‌ها از یک بیماستان خصوصی تهیه گردیده است، یافته‌های این تحقیق نشان داد که ارتباط آماری معنی‌داری بین حضور

عفونت پاپیلوما ویروس انسانی و همچنین هرپس سیمپلکس ویروس با بروز اندومتریوز وجود ندارد. هرچند که برای به اثبات رسیدن این نتایج نیاز به مطالعات بیشتری با حجم نمونه بالاتر و تنوع جامعه شرکت‌کننده در مطالعه است.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران است که با حمایت مرکز تحقیقات سلولی مولکولی و سلول‌های بنیادی صارم انجام‌شده است (کد طرح: ۲۱/ق۲۳۰۰۹۳۰۳، کد اخلاق: ۷۷۲-۹۳۰۱۰). از آقای دکتر آرش پولادی که برای تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج کمال همکاری را داشتند تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Cheng CH, Kuo HC, Su B. Endometriosis in a kidney with focal xanthogranulomatous pyelonephritis and a perinephric abscess. BMC Res Notes. 2015;8:591-96
2. Ahn SH, Monsanto SP, Miller C, Singh SS, Thomas R, Tayade C. Pathophysiology and Immune Dysfunction in Endometriosis. BioMed research international. 2015;12.
3. Venceslau EM, Bezerra MM, Lopes ACM, Souza ÉV, Onofre ASC, Melo CMd, et al. HPV detection using primers MY09/MY11 and GP5+/GP6+ in patients with cytologic and/or colposcopic changes. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. 2014;50:280-5.
4. Oppelt P, Renner SP, Strick R, Valletta D, Mehlhorn G, Fasching PA, et al. Correlation of high-risk human papilloma viruses but not of herpes viruses or Chlamydia trachomatis with endometriosis lesions. Fertil Steril. 2010;93(6):1778-86.
5. Moieni Z, Tahmasebifard Z, Abdirad A, Aliruteh SM, Sarmadi S. The relationship between human papillomavirus and endometriosis lesions. NCMBJ. 2012;6(2):67-73. [In Persian].
6. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. Fertil Steril. 2012;98(3):511-9.
7. Stilley JA, Birt JA, Sharpe-Timms KL. Cellular and molecular basis for endometriosis-associated infertility. Cell Tissue Res. 2012;349(3):849-62.
8. Burghaus S, Haberle L, Schrauder MG, Heusinger K, Thiel FC, Hein A, et al. Endometriosis as a risk factor for ovarian or endometrial cancer - results of a hospital-based case-control study. BMC Cancer. 2015;15:751.
9. Figueira PG ,Abrao MS, Krikun G, Taylor HS. Stem cells in endometrium and their role in the pathogenesis of endometriosis. Ann N Y Acad Sci. 2011;1221(1):10-17.
10. Xu HM, Deng HT, Liu CD, Chen YL, Zhang ZY. Phosphoproteomics Analysis of Endometrium in Women with or without Endometriosis. Chin Med J (Engl). 2015;128(19):2617-24.
11. Khan KN, Fujishita A, Kitajima M, Hiraki K, Nakashima M, Masuzaki H. Intra-uterine microbial colonization and occurrence of endometritis in women with endometriosisdagger. Hum Reprod. 2014;29(11):2446-56.
12. Heidarpour M, Derakhshan M, Derakhshan-Horeh M, Kheirollahi M, Dashti S. Prevalence of high-risk human papillomavirus infection in women with ovarian endometriosis. J Obstet Gynaecol Res. 2017;43(1):135-9.
13. Kobayashi H, Higashiura Y, Shigetomi H, Kajihara H. Pathogenesis of endometriosis: the role of initial infection and subsequent sterile inflammation (Review). Mol Med Rep. 2014;9(1):9-15.
14. Vestergaard AL, Knudsen T, Munk U, Rosbach H, Bialasiewicz S, Sloots T, et al. Low prevalence of DNA viruses in the human endometrium and endometriosis. Arch Virol. 2010;155: 695-703.
15. Agorastos T, Chatzistamatiou K, Katsamagkas T, Koliopoulos G, Daponte A, Constantinidis T, et al. Primary screening for cervical cancer based on high-risk human papillomavirus (HPV) detection and HPV 16 and HPV 18 genotyping, in comparison to cytology. PLoS One. 2015;10(3):e0119755.
16. Mahmoodi SMM, Hamkar R, AkhavanTafti M, Eslamifar A, Adibi L, Sadrabadi SAA, et al. Human papillomavirus genotypes in cervical cancer specimens, in Yazd. Iran J Infect Dis Trop Med. 2008;12 (37): 19-24 [Article In Persian].
17. Chiang AJ, Chen DR, Cheng JT, Chang TH. Detection of human papillomavirus in squamous cell carcinoma arising from dermoid cysts. Taiwan J Obstet Gynecol. 2015;54(5):559-66.
18. Mehrabani D, Behzadi MA, Azizi S, Payombarnia H, Vahdani A, Namayandeh M, et al. Cervical Infection with Herpes simplex Virus, Chlamydia trachomatis, and Neisseria gonorrhoeae among Symptomatic Women, Dubai, UAE: A Molecular Approach. Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases. 2014;2014:6.
19. Vassantachart JM, Menter A. Recurrent lumbosacral herpes simplex virus infection. Proc (Bayl Univ Med Cent). 2016;29(1):48-9.

20. Slade J, Hall JV, Kintner J, Schoborg RV .Chlamydial Pre-Infection Protects from Subsequent Herpes Simplex Virus-2 Challenge in a Murine Vaginal Super-Infection Model. PLoS One. 2016;11(1):e0146186.
21. Coutlee F, Gravitt P, Richardson H, Hankins C, Franco E, Lapointe N, et al. Nonisotopic detection and typing of human papillomavirus DNA in genital samples by the line blot assay. The Canadian Women's HIV study group. J Clin Microbiol. 1999;37(6):1852-7.
22. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. Am J Obstet Gynecol. 1927;14:422–469.
23. Gazvani R, Templeton A. New considerations for the pathogenesis of endometriosis. International Journal of Gynecology and Obstetrics. 2002;76(2):117-26.
24. Gargett C. Uterine stem cells: what is the evidence?. Human reproduction update. 2007;13(1):87-101.
25. Ozkan S, Murk W, Arici A. Endometriosis and infertility: epidemiology and evidence-based treatments. Ann N Y Acad Sci. 2008;1127:92-100.
26. Leyendecker G, Herbertz M, Kunz G, Mall G. Endometriosis results from the dislocation of basal endometrium. Hum Reprod. 2002;17(10):2725-36.
27. Speroff L, Fritz MA. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 8th ed. Philadelphia: lippincott Williams & wilkins; 2005. P.121-141.
28. Treloar S, Hadfield R, Montgomery G, Lambert A, Wicks J, Barlow DH, et al. The International Endogene Study: a collection of families for genetic research in endometriosis. Fertility and sterility. 2002;78(4):679-85.
29. Rogers PA, D'Hooghe TM, Fazleabas A, Giudice LC, Montgomery GW, Petraglia F, et al. Defining Future Directions for Endometriosis. Research Workshop Report From the 2011 World Congress of Endometriosis in Montpellier, France. Reproductive Sciences. 2013;20(5):483-99.

Original Article

Investigating the Relationship Between Human Papillomavirus and Herpes Simplex Virus Type 1 and 2 with Endometriosis Lesions

Azizvakili F[1, 2], Saadatnia G[3*], Hadizadeh M[3]

1. Sarem Cell Research Center (SCRC), Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran
2. Department of Basic Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran

Received: 15 Dec 2016 Accepted: 11 Apr 2017

Abstract

Background & Objective: Endometriosis is one of the most common diseases in women, in which endometrial tissue begins to grow outside the uterine. Many factors are involved in the development of this disorder. Studies have shown that infectious agents due to the inflammation may predispose endometriosis. In this study the presence of human papillomavirus and herpes simplex virus types 1 and 2 were examined in endometriosis lesions.

Material & Methods: This case-control study was performed in Sarem Women's Hospital. 40 paraffin-embedded blocks of endometriosis and 40 normal endometrial tissue blocks from patients without endometriosis were selected as control. After DNA extraction, molecular analysis was performed using polymerase chain reaction for diagnosis of mentioned infections.

Results: The results of this study showed that, in investigation of papilloma infection, the virus DNA was found in one of the tissues of patients group (2.5%) and in 6 (15%) of healthy subjects. HSV infection was detected in 5 samples (12.5%) of the endometriosis tissues and 2 samples (5%) of control group.

Conclusions: Findings of this research indicated that there is no significant association between papillomavirus and herpes simplex virus with endometriosis. In the other words, the presence of these viruses as factors that increase the risk of endometriosis incidence was not confirmed (P = 0.14 and P= 0.38, respectively), however further investigations are needed for the final conclusion.

Key Words: Endometriosis, Human Papillomavirus, Herpes Simplex Virus, Polymerase Chain Reaction

***Corresponding Author: Geita Saadatnia,** Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran
Email: gitasaadat@gmail.com

Journal of Fasa University of Medical Sciences 7 (2018): 480-487