

بررسی وضعیت هلیکوباکتر پیلوری و ضایعات حنجره در بیماران کاندید لارنگوسکوپی مستقیم و بیوپسی مراجعه کننده به بیمارستان آیت ا... طالقانی طی سال‌های ۱۳۸۷-۱۳۸۸

دکتر ساغر عنبری^۱، دکتر داود عیسی زاده^۲، دکتر سید عباس صفوی نائینی^{۳*}، دکتر فرزاد ایزدی^۴،
صاحب اختیاری^۴، دکتر محمدرضا زالی^۴

^۱ بخش گوش و حلق و بینی، بیمارستان آیت ا... طالقانی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۲ بیمارستان امام علی (ع)، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
^۳ بخش گوش و حلق و بینی، بیمارستان حضرت رسول (ص)، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
^۴ مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات محدودی در مورد ارتباط هلیکوباکتر پیلوری (HP) با بیماری‌های خوش‌خیم و بدخیم حنجره انجام شده که نتایج متفاوتی داشته است. این مطالعه با هدف بررسی وضعیت هلیکوباکتر پیلوری و ضایعات حنجره در بیماران کاندید لارنگوسکوپی مستقیم و بیوپسی مراجعه کننده به بیمارستان آیت ا... طالقانی طی سال‌های ۱۳۸۷-۱۳۸۸ انجام شد. روش بررسی: در این مطالعه مقطعی، بیمارانی که کاندید لارنگوسکوپی مستقیم ضایعات حنجره و بیوپسی آن بودند، بررسی شدند. نمونه‌های بیوپسی به بخش پاتولوژی و هم‌زمان به آزمایشگاه مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ارسال شدند. جهت تشخیص عفونت با هلیکوباکتر پیلوری آزمون PCR (Polymerase Chain Reaction) صورت گرفت. یافته‌ها: ۵۹ بیمار با سن $46/1 \pm 18/3$ سال مورد بررسی قرار گرفتند که ۲۷ نفرشان مبتلا به بیماری‌های بدخیم حنجره و ۳۲ نفر مبتلا به بیماری‌های خوش‌خیم حنجره بودند. فراوانی ابتلای بافت‌ها به HP در موارد بدخیمی (۲۹/۶ درصد) بیش از خوش‌خیمی (۱۵/۶ درصد) بود (NS). همراهی بیماری‌های بدخیم حنجره با جنس مرد، مصرف اتانول، مصرف سیگار و مصرف اپیوئید (تریاک) مشاهده شد. HP بیشتر در TVC، خلف و سمت راست کشف شد. از موارد HP مثبت، ۳۵ درصد سابقه ریفلاکس معده به مری نداشتند. نتیجه‌گیری: عفونت موضعی با هلیکوباکتر پیلوری (HP) نقشی در ایجاد بدخیمی‌های حنجره در مقایسه با موارد خوش‌خیم ندارد، هر چند که فراوانی ابتلای بافت‌های بیوپسی شده به HP در موارد بدخیمی (۲۹/۶ درصد) بیش از خوش‌خیمی (۱۵/۶ درصد) بود. واژگان کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، ضایعات خوش‌خیم حنجره، ضایعات بدخیم حنجره، PCR.

مقدمه

حنجره، غیر از نوع پاپیلومای اسکواموس (پاپیلوماتوز حاصل عفونت با ویروس HPV) شایع نیستند. اسکواموس سل کارسینوم ۹۵-۹۸ درصد تمامی بدخیمی‌های حنجره را تشکیل می‌دهد. سیگار و مصرف زیاد الکل، به کرات در بیماران مبتلا به کانسرها حنجره و لارنگوفارنکس دیده شده است. ثابت شده که سیگار باعث متاپلازی در حنجره می‌شود

تومورهای بدخیم حنجره ۵-۲ درصد بدخیمی‌های تشخیص داده شده را در سال، تشکیل می‌دهند. تومورهای خوش‌خیم

مطالعه Titiz و همکاران (۸) وجود مواد ژنومیک هلیکوباکتر پیلوری در بافت حنجره افراد مبتلا به SCC حنجره را نشان دهنده وجود این میکروب در این نواحی دانسته و ذکر کرده‌اند که ممکن است این مورد گویای ارتباط بین این باکتری و ایجاد SCC در حنجره باشد که البته مکانیسم آن ناشناخته است. در عوض، در مطالعه مسعود و همکاران (۹)، هلیکوباکتر پیلوری در هیچ‌یک از نمونه‌های مبتلا به ضایعات خوش‌خیم و بدخیم حنجره یافت نشد و ارتباط آن با ضایعات حنجره رد شد. در ایران نیز نتایج متفاوتی در مورد ارتباط هلیکوباکتر پیلوری با سرطان حنجره بدست آمده است. دکتر مختاری امیرمجدی و همکاران مشاهده کردند که هلیکوباکتر پیلوری با ابتلای سرطان حنجره در ارتباط است (۱۰)، در حالی که دکتر مجیدی و همکاران در مطالعه خود برای هلیکوباکتر پیلوری نقش محافظتی در برابر سرطان حنجره قائل بودند (۱۱).

با توجه به نتایج ضد و نقیض در مطالعات خارجی و ایرانی، این مطالعه با هدف بررسی وضعیت هلیکوباکتر پیلوری و ضایعات حنجره در بیماران کاندید لارنگوسکوپی مستقیم و بیوپسی مراجعه کننده به بیمارستان آیت ... طالقانی طی سال‌های ۱۳۸۸-۱۳۸۷ انجام شد. در این مطالعه از روش PCR برای شناسایی DNA هلیکوباکتر پیلوری در بافت مناطق مختلف حنجره (۵ ناحیه بر اساس وسعت درگیری ضایعه) در بیماران کاندید لارنگوسکوپی مستقیم و بیوپسی استفاده شد، چرا که هدف یافتن میکروب در بافت بود و انجام مطالعات سرولوژیک می‌تواند گمراه کننده باشد. لازم به ذکر است که حساسیت و ویژگی این تست به ترتیب ۱۰۰ و ۹۴/۶ درصد است (۱۲). امید است که پس از انجام این پژوهش و با توجه به نتایج آن بتوان به تاثیر آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری بر ایجاد ضایعات خوش‌خیم و بدخیم حنجره دست یافت.

مواد و روشها

در این مطالعه مقطعی، بیماران مراجعه کننده به بخش گوش و حلق و بینی بیمارستان آیت ... طالقانی طی سال‌های ۱۳۸۸-۱۳۸۷ که کاندید لارنگوسکوپی مستقیم ضایعه حنجره و بیوپسی آن بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا از بیماران شرح حال گرفته شده و در صورتی که معیارهای ورود به مطالعه را می‌داشتند، در مورد نحوه مطالعه توضیح داده می‌شد و در صورت رضایت، بیماران وارد مطالعه می‌شدند. معیارهای ورود به مطالعه شامل وجود ضایعه در حنجره، امکان‌پذیر بودن نمونه‌برداری از ضایعه و امکان اثبات وجود

و قابل برگشت است. کارسینوم حنجره در حیواناتی که در معرض دود سیگار بوده‌اند نیز دیده شده است. قرار گرفتن در معرض آمین‌های ارگانیک و کربوهیدرات‌های پلی‌سیکلیک بطور تجربی، باعث تومور حنجره شده است. تنباکو ممکن است عامل مستعد کننده‌ای باشد، ولی علت اولیه یا تنها علت اصلی بیماری نمی‌باشد. بعضی مطالعات نشان داده است که هرپس پاپیلوماتوز فاکتور مساعد کننده‌ای می‌باشد. بعضی وپروس‌ها ممکن است در وضعیت ایمنی سلولی تغییر ایجاد کرده و باعث رشد بدخیمی شوند. عفونت‌های مزمن، رادیاسیون و آلودگی هوا از عوامل دیگر می‌باشند. لکوپلازی و کراتوز طناب‌های صوتی نیز باعث سرطان حنجره می‌شوند، ولی در بررسی طولانی مدت کراتوز حنجره فقط در ۳/۴ درصد موارد سرطان حنجره دیده شده است. در تمام بیماران مبتلا به سرطان حنجره، تقریباً همیشه استعمال زیاد سیگار وجود داشته است. سرطان پست کریکوئید (Postcricoid cancer) در زنان همراه با سندرم پلامر-وینسون می‌باشد (۱).

یکی از مواردی که در سال‌های اخیر نقش اتیولوژیک آن در ایجاد سرطان حنجره مورد بررسی قرار گرفته است، آلودگی بافت حنجره به هلیکوباکتر پیلوری است. هلیکوباکتر پیلوری نوعی باکتری گرم منفی و یکی از شایع‌ترین عفونت‌های انسانی در سراسر جهان است که سبب گاستریت مزمن، زخم معده، زخم اثنی‌عشر و سرطان معده می‌شود (۴-۲). بیماری‌های بسیاری را در ارتباط با این میکروب مورد بررسی قرار داده‌اند که می‌توان به گاستریت مزمن، زخم معده، زخم اثنی‌عشر، سرطان معده، ریفلاکس گاستروازوفازیال، کنترل متابولیک دیابت نوع ۱، آنمی فقر آهن، میگرن، همراهی با عفونت HIV و مایکوباکتریوم توپرکلوزیس و هیپرامزیس گراویداروم اشاره کرد، هر چند به نتایج ضد و نقیضی دست یافته‌اند (۵). مطالعات محدودی در مورد ارتباط هلیکوباکتر پیلوری با بیماری‌های خوش‌خیم و بدخیم حنجره انجام شده که با نتایج متفاوتی همراه بوده است. در مطالعه Rubin و همکاران (۶) تفاوت شیوع این ارگانیزم در بیماران مبتلا به اختلالات خوش‌خیم با گروه کنترل اندک و از لحاظ آماری بیشتر در سنین میانسالی و بالا معنی‌دار بوده است. در مطالعه Fang و همکاران (۷) مشاهده شد که این میکروب اغلب در حنجره افراد مبتلا به پولیپ تار صوتی کلونیزه می‌شود تا ندول تار صوتی، با این وجود نمی‌توان از آن به عنوان یک اتیولوژی در ایجاد پولیپ تار صوتی نام برد. از طرف دیگر مطالعاتی وجود دارند که نشان می‌دهند آلودگی با این باکتری موجب افزایش خطر ابتلا به سرطان می‌شود. به عنوان مثال در

لازم به ذکر است از تمامی بیماران رضایت‌نامه کتبی گرفته شد و هیچ هزینه اضافی به بیمار در روند تحقیق تحمیل نشد. اطلاعات مربوط به نتایج بیوپسی، مصاحبه و شرح حال در فرمی وارد شد. اطلاعات به دست آمده در برنامه آماری SPSS وارد و تجزیه و تحلیل صورت گرفت. اطلاعات توصیفی با فراوانی (درصد) و میانگین و انحراف معیار ارائه شد. با استفاده از آزمون کای دو و آزمون دقیق فیشر درصد آلودگی در همه ضایعات خوش‌خیم و بدخیم و نیز برحسب سن و جنس و محل درگیری در حنجره مورد مقایسه قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌های دو ضایعه خوش‌خیم و بدخیم از آزمون آماری t استفاده شد.

یافته‌ها

طی مدت مورد بررسی ۵۹ بیمار واجد شرایط وجود داشت که ۴۶ نفر (۷۸ درصد) آنها مرد و ۱۳ نفرشان (۲۲ درصد) زن بودند. میانگین (\pm انحراف معیار) سن افراد مورد بررسی $46/1 \pm 18/3$ سال بود. از بیماران مورد بررسی، در کل ۹۳ نمونه از ۵ محل مختلف حنجره بر اساس وسعت ضایعه حنجره برداشته شد.

در نتایج پاتولوژی، ۲۷ مورد (۴۵/۸ درصد) بدخیمی و ۳۲ مورد (۵۴/۲ درصد) خوش‌خیمی گزارش شد و در گزارش PCR، هلیکوباکتر پیلوری ۱۳ نفر (۲۲ درصد) مثبت و ۴۶ نفر (۷۸ درصد) منفی بودند. ۵ کودک زیر ۱۰ سال تحت جراحی قرار گرفته بودند که همگی ضایعه خوش‌خیم داشتند. ۴ نفر دچار پاپیلوماتوز و یک نفر دارای گرانولاسیون بودند. از این ۵ کودک (۷ نمونه بیوپسی)، ۲ مورد (۳ نمونه بیوپسی) PCR مثبت به دست آمد که هر دوی آنها در بافت پاپیلوماتوز یافت شد. لازم به ذکر است که هر ۵ کودک سابقه انتوباسیون داشتند و هلیکوباکتر پیلوری در این کودکان بیشتر در TVC و نیز قدام کشف شد.

توزیع افراد مورد بررسی بر حسب وضعیت بدخیمی ضایعه حنجره و به تفکیک آلودگی با هلیکوباکتر در جدول ۱ ارائه شده است و نشان می‌دهد که مبتلایان به بدخیمی حنجره، ۲۹/۶ درصد آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری داشتند و در افراد با ضایعه خوش‌خیم حنجره، ۱۵/۶ درصد آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری داشتند (NS) و آنهایی که بدخیمی حنجره داشتند، ۲/۳ برابر بیشتر از افراد با خوش‌خیمی حنجره آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری داشتند (نسبت شانس: ۲/۳) و این مورد تعمیم‌پذیری نیز داشته است.

ضایعات خوش‌خیم و بدخیم حنجره در پاتولوژی بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل سابقه لارنژکتومی و سابقه درمان ضد هلیکوباکتر پیلوری بود. بیماران بر اساس میزان درآمد به گروه‌های زیر تقسیم شدند: بیکار (بدون درآمد)، کم (زیر ۲۵۰۰۰۰ تومان در ماه)، متوسط (بین ۲۵۰۰۰۰ و ۵۰۰۰۰۰ تومان در ماه)، بالا (بالای ۵۰۰۰۰۰ تومان در ماه).

تمامی بیماران تحت لارنگوسکوپی مستقیم قرار گرفتند و بر اساس وسعت درگیری ضایعه از هر یک از مناطق تار صوتی حقیقی، تار صوتی کاذب، کمیشر قدامی، کمیشر خلفی و سینوس پیریفورم (هر یک در سمت راست و یا چپ و نیز قدام و یا خلف) در صورت درگیری بیوپسی به عمل آمد. نمونه‌های بیوپسی به بخش پاتولوژی و هم‌زمان به آزمایشگاه مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ارسال شدند. در بررسی پاتولوژیک، نمونه‌ها از نظر خوش‌خیمی و بدخیمی بررسی شدند و موارد هیپرکراتوز، هیپرکراتوز با آتیپی، کارسینوم درجا، کارسینوم با تهاجم سطحی و در نهایت کارسینوم مهاجم مشخص شد. کلیه ضایعات حنجره بدخیم و خوش‌خیم وارد مطالعه شدند.

بر روی نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد جهت تشخیص عفونت با هلیکوباکتر پیلوری آزمون PCR (Polymerase Chain Reaction) صورت گرفت. برای انجام PCR، ابتدا از نمونه‌های ارسالی DNA آنها استخراج شد و تا زمان انجام آزمایش PCR نمونه‌ها در درجه حرارت ۲۰- نگهداری شدند. DNA هر سوش هلیکوباکتر پیلوری توسط کیت commercially available kit (Qiagen, Hilden, Germany) جداسازی شد. از gene *glmM (ure C)* به عنوان کنترل جداسازی DNA هلیکوباکتر پیلوری استفاده شد. توالی پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه شامل *GlmM1-R* و *GlmM2-F* 'GCTTACTTTCTAACACTAACGCGC' و *GGATAAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGG* بود که در فراورده های 296 bp تقویت شدند.

تمامی مخلوط‌های PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی 1 بافر PCR، ۵۰۰ نانومتر هر پرایمر، ۱/۵ میکرومول $MgCl_2$ ، ۲۰۰ میکرومول هر $Dntp$ ، ۱/۵ واحد *Taq DNA polymerase* و ۳۰۰ نانوگرم نمونه DNA بود. مخلوط‌ها در ترموسیکلر (Eppendorf AG 22331, Hamburg, Germany) قرار داده شدند. محصولات PCR توسط الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد رنگ آمیزی شده با اتیدیوم بروماید مشاهده شده و با اشعه ماورای بنفش بررسی شدند.

جدول ۱- توزیع افراد مورد بررسی بر حسب وضعیت بدخیمی حنجره و به تفکیک آلودگی به هلیکو باکتر پیلوری

	خوش خیم (n=۲۲)	بدخیم (n=۲۷)
هلیکوباکتر منفی	۲۷ (۸۴/۴ درصد)	۱۹ (۷۰/۴ درصد)
هلیکوباکتر مثبت	۵ (۱۵/۶ درصد)	۸ (۲۹/۶ درصد)
جمع	۳۲ (۱۰۰ درصد)	۲۷ (۱۰۰ درصد)

از ۵۹ بیمار مورد بررسی، ۹۸ نمونه بیوپسی از ۵ ناحیه حنجره بر اساس وسعت درگیری ضایعه برداشته شد که ۴۰ نمونه (۴۱ درصد) گزارش پاتولوژی خوش خیم و ۵۸ نمونه (۵۹ درصد) گزارش پاتولوژی بدخیم داشتند و آزمون کای دو نشان داد که این اختلاف به لحاظ آماری معنی دار نمی باشد (NS). تشخیص پاتولوژی بیماران بیوپسی شده به تفکیک خوش خیم و بدخیم در جدول ۲ ارائه شده است و نشان میدهد که در ۳۲ بیمار با ضایعه خوش خیم، پاپیلوماتوز به میزان ۱۸/۷ درصد و گرانولاسیون و ندول هر کدام ۱۵/۶ درصد و در ۲۷ بیمار با ضایعه بدخیم، SCC به میزان ۷۴ درصد و Basaloid SCC و Verucose ACC و هر کدام ۷/۵ درصد بیشترین تشخیص پاتولوژیک را تشکیل داده بودند.

جدول ۲- فراوانی تشخیص پاتولوژیک بیماران بیوپسی شده (n=۵۹)

نوع ضایعه	فراوانی	درصد
خوش خیم (n=۲۲)		
پاپیلوماتوز	۶	۱۸/۷
گرانولاسیون	۵	۱۵/۶
ندول	۵	۱۵/۶
کیست احتباسی مخاطی	۳	۹/۴
التهاب	۳	۹/۴
پولیپ	۲	۶/۲
دیس پلازی	۱	۳/۱
دیس پلازی + پاپیلوماتوز	۱	۳/۱
پاراکراتوز	۱	۳/۱
هیپرکراتوز	۱	۳/۱
فیبروز	۱	۳/۱
آمیلوئیدوز	۱	۳/۱
گرانولاسیون + واسکولیت	۱	۳/۱
ندول + هیپرکراتوز	۱	۳/۱
بدخیم N=27		
SCC	۲۰	۷۴
Basaloid SCC	۲	۷/۵
Verucose SCC	۲	۷/۵
ACC	۲	۷
کارسینوم اینتراپیتلیال	۱	۴

از ۹۸ نمونه، ۱۶ نمونه (۱۶/۳ درصد) از نظر هلیکوباکتر پیلوری مثبت و ۷۷ نمونه (۸۳/۷ درصد) منفی بودند. در موارد هلیکوباکتر پیلوری مثبت، ۷ مورد (۴۳/۸ درصد) در سمت راست، ۵ مورد (۳۱/۳ درصد) در سمت چپ و ۴ مورد (۲۵ درصد) در کمیشره‌های قدامی و خلفی قرار داشتند. در موارد هلیکوباکتر پیلوری منفی، ۳۵ مورد (۴۲/۷ درصد) در سمت چپ، ۲۹ مورد (۳۵/۴ درصد) در سمت راست و ۱۸ مورد (۲۲ درصد) در کمیشره‌های قدامی و خلفی بودند و اختلاف معنی داری بین دو گروه هلیکوباکتر پیلوری مثبت و منفی از این نظر مشاهده نشد.

در موارد هلیکوباکتر پیلوری مثبت، ۹ مورد (۵۶/۳ درصد) در خلف، ۷ مورد (۴۳/۸ درصد) در قدام قرار داشتند و در سینوس پیریفورم موردی یافت نشد. در موارد هلیکوباکتر پیلوری منفی، ۴۰ مورد (۴۸/۸ درصد) در قدام، ۳۸ مورد (۴۶/۳ درصد) در خلف و ۴ مورد (۴/۹ درصد) در سینوس پیریفورم بودند و اختلاف معنی داری بین دو گروه هلیکوباکتر پیلوری مثبت و منفی از این نظر مشاهده نشد.

محل‌های کشف هلیکوباکتر پیلوری، به ترتیب فراوانی TVC (۶۲/۵ درصد)، کمیشر قدامی (۱۸/۸ درصد)، FVC (۱۲/۵ درصد) و کمیشر خلفی (۶/۳ درصد) بود و در سینوس پیریفورم موردی یافت نشد. محل‌های بیوپسی در موارد هلیکوباکتر پیلوری منفی به ترتیب TVC (۴۸/۸ درصد)، FVC (۲۴/۴ درصد)، کمیشر قدامی (۱۴/۶ درصد)، کمیشر خلفی (۷/۳ درصد) و سینوس پیریفورم (۴/۹ درصد) بود. اختلاف معنی داری بین محل‌های مختلف بیوپسی از نظر وجود هلیکوباکتر پیلوری مشاهده نشد.

هیچ یک از بیماران سابقه خانوادگی بیماری‌های حنجره را ذکر نمی کردند. بیشتر بیماران دارای گروه خونی O مثبت (۴۴/۴ درصد) در بیماران با بدخیمی حنجره و ۵۶/۳ درصد در بیماران با خوش خیمی حنجره) بودند و بیماران با بدخیمی و خوش خیمی از نظر گروه خونی اختلاف معنی داری نداشتند.

در بیماران هلیکوباکتر پیلوری مثبت، ۸۷/۵ درصد بیماران با بدخیمی حنجره و ۶۰ درصد بیماران با خوش خیمی حنجره مرد بودند و جنس تأثیری بر نقش هلیکوباکتر پیلوری در ابتلای به بیماری‌های خوش خیم یا بدخیم حنجره نداشت. سن کل بیماران هلیکوباکتر پیلوری مثبت، $43/3 \pm 23/2$ سال و سن بیماران هلیکوباکتر پیلوری منفی $46/9 \pm 16/9$ سال بود و اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در بیماران با بدخیمی حنجره، سن بیماران هلیکوباکتر پیلوری مثبت و منفی به ترتیب $58/1 \pm 11/2$ سال و $52/7 \pm 12/9$ سال بود و اختلاف

بودند. در بیماران با بدخیمی حنجره پس از فارس، ترک‌ها بیشترین فراوانی را داشتند، در حالی که در بیماران با خوش‌خیمی حنجره و HP مثبت هیچ یک ترک نبودند و بیشتر کرد بودند.

توزیع خصوصیات دموگرافیک و عوامل خطرزا بر حسب گزارش پاتولوژی بدخیمی در جدول ۳ ارائه شده است و نشان می‌دهد که بیماران مبتلا به بدخیمی بیشتر از بیماران با خوش‌خیمی در مواجهه با سن بالا، جنس مرد، مصرف سیگار، مصرف الکل و مصرف اپیوئید بودند ($p < 0.01$).

بحث

این مطالعه نشان داد که عفونت موضعی با هلیکوباکتر پیلوری (HP) نقشی در ایجاد بدخیمی‌های حنجره در مقایسه با موارد خوش‌خیم ندارد، هر چند که فراوانی ابتلای بافت‌های بیوپسی شده به HP در موارد بدخیمی (۲۹/۶ درصد) بیش از خوش‌خیمی (۱۵/۶ درصد) بود. هم‌چنین همراهی بیماری‌های بدخیم حنجره با جنس مرد، مصرف اتانول، مصرف سیگار و مصرف اپیوم مشاهده شد. در بیماران مبتلا به ضایعه بدخیم، میانگین سنی موارد هلیکوباکتر پیلوری مثبت و منفی تفاوتی نداشت، هر چند در بیماران مبتلا به ضایعات خوش‌خیم تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و میانگین سنی بیماران HP منفی بیش از HP مثبت بود.

در این مطالعه، شایع‌ترین تشخیص در بیماران جراحی شده، سرطان سلول اسکوامو (SCC) بود که ۲۰ نفر (۳۳/۹ درصد) کل بیماران و ۷۴/۱ درصد بیماران دچار بدخیمی حنجره را درگیر ساخته بود. ۲ مورد (۳/۴ درصد) Basaloid SCC یافت شد که از تشخیص‌های بسیار نادر در سطح جهان است. در مطالعات ذکر شده است که اسکواموس سل کارسینوم ۹۵-۹۸ درصد تمامی بدخیمی‌های حنجره را تشکیل می‌دهد (۱). در مطالعه ما نیز اگر ۲ مورد Basaloid SCC و ۲ مورد Verucose SCC را نیز اضافه کنیم، فراوانی SCC به ۸۸/۸ درصد می‌رسد. در ضمن ۲ مورد ضایعه پیش‌بدخیمی دیس‌پلازی داشتیم که با احتساب آنها به ۹۶/۳ درصد می‌رسد.

در مطالعه ما با وجود بالاتر بودن فراوانی HP در نمونه‌های بافتی بیماران مبتلا به ضایعات بدخیم، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با بیماران مبتلا به ضایعات خوش‌خیم مشاهده نشد. مطالعات محدودی در مورد ارتباط هلیکوباکتر پیلوری با بیماری‌های خوش‌خیم و بدخیم حنجره انجام شده که نتایج متفاوتی به همراه داشته است. مطالعاتی وجود دارند که نشان

معنی‌داری مشاهده نشد. در بیماران با خوش‌خیمی حنجره، سن بیماران هلیکوباکتر پیلوری مثبت و منفی به ترتیب ۱۹/۶±۱۵/۸ سال و ۴۲/۹±۱۸/۳ سال بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان می‌داد ($p=0.01$).

جدول ۳- توزیع فراوانی خصوصیات دموگرافیک و عوامل خطرزا در بیماران با بدخیمی و خوش‌خیمی حنجره

خصوصیات دموگرافیک	گزارش پاتولوژی		p-value
	خوش‌خیم (n=۳۲)	بدخیم (n=۲۷)	
سن (سال)	۳۹/۲±۱۹/۷	۵۴/۳±۱۲/۵	<0.001
جنس			
زن	۱۱ (۳۴/۴)§	۲ (۷/۴)	<0.02
مرد	۲۱ (۶۵/۶)	۲۵ (۹۲/۶)	<0.02
سابقه GERD*	۱۳ (۴۱)	۱۶ (۵۹/۲)	NS‡
سابقه لارنژیت	۴ (۱۲/۵)	۲ (۷/۴)	NS
سابقه رینیت آلرژیک	۱۱ (۳۴)	۸ (۳۰)	NS
سابقه عفونت HPV†	۸ (۲۵)	۶ (۲۲/۲)	NS
سابقه مصرف الکل	۳ (۹/۴)	۱۰ (۳۷)	0.01
سابقه مصرف سیگار	۱۲ (۳۷/۵)	۲۵ (۹۲/۶)	<0.001
سابقه مصرف اپیوئید	۲ (۶/۲۵)	۱۸ (۶۷)	<0.001
سابقه ترومای صوتی	۶ (۱۹)	۴ (۱۵)	NS

* ریفلاکس گاستروازوفازیتال؛ † ویروس پاپیلوماوی انسانی؛ ‡ Not significant § اعداد داخل پرانتز معرف درصد هستند.

از ۱۳ فرد HP مثبت، ۸ بیمار سابقه ریفلاکس داشتند و در بیماران با خوش‌خیمی و بدخیمی حنجره اختلاف معنی‌داری چه در موارد HP مثبت و چه HP منفی یافت نشد. از ۱۳ فرد HP مثبت، ۴ بیمار سابقه آلودگی به ویروس پاپیلوماوی انسانی (HPV) داشتند و در بیماران با خوش‌خیمی و بدخیمی حنجره اختلاف معنی‌داری چه در موارد HP مثبت و چه HP منفی یافت نشد. از ۱۳ فرد HP مثبت، ۵ بیمار سابقه رینیت آلرژیک داشتند و در بیماران با خوش‌خیمی و بدخیمی حنجره اختلاف معنی‌داری چه در موارد HP مثبت و چه HP منفی یافت نشد. از ۱۳ فرد HP مثبت، اکثراً بیکار و یا درآمد متوسط داشتند. در HP مثبت، بیماران مبتلا به ضایعات خوش‌خیم اکثراً بیکار و مبتلایان به ضایعات بدخیم اکثراً دارای درآمد متوسط بودند و اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.009$). ۴۲ درصد بیماران با بدخیمی حنجره و ۵۱/۹ درصد بیماران با خوش‌خیمی حنجره گروه خونی O مثبت داشتند. ۷۵ درصد بیماران با بدخیمی حنجره و ۶۰ درصد بیماران با خوش‌خیمی حنجره در موارد HP مثبت فارس

منفی بوده است، هلیکوباکتر پیلوری کشف می‌شد. گواه این مسئله، تفاوت فراوانی هلیکوباکتر پیلوری در بافت ضایعات حنجره بیماران مورد مطالعه (۲۲ درصد) در مقایسه با فراوانی هلیکوباکتر پیلوری در بررسی سرولوژیک جمعیت ایرانی (۷۱ درصد) است (۲۱).

در این مطالعه، همراهی بیماری‌های بدخیم حنجره با جنس مرد، مصرف اتانول، مصرف سیگار و مصرف اپیوم مشاهده شد که با سایر مطالعات در این زمینه مطابقت دارد و جزو عوامل خطرزای اثبات شده می‌باشد. مطالعات، عوامل خطرزای سرطان حنجره را جنس مرد (۵ برابر)، محیط کاری سمی (برخورد با موادنفیتی، چوب، کروم، نیکل و رنگ صنعتی)، نژاد سیاه (۲ برابر)، مصرف تنباکو و سیگار و پیپ و الکلی، سابقه سرطان سر و گردن در خواهر و برادر بیمار، آلودگی حنجره به ویروس پاپیلوماوی انسانی (HPV)، سابقه رادیوتراپی قبلی سر و گردن، سابقه وجود سرطان قبلی در سر و گردن، ژنتیک که اثبات اثر آن جدا از اثرات سبک زندگی و خطرات سمی محیط کار سخت است و در نهایت التهاب حنجره در اثر ریفلاکس اسید معده به مری ذکر می‌کنند، هر چند هنوز ارتباط مورد آخری با سرطان حنجره ثابت نشده است (۱۷). کارسینوم حنجره در حیواناتی که در معرض دود سیگار بوده‌اند، نیز دیده شده است. قرار گرفتن در معرض آمین‌های ارگانیک و کربوهیدرات‌های پلی‌سیکلیک بطور تجربی، باعث تومور حنجره شده است. عفونت‌های مزمن، رادیاسیون و آلودگی هوا از عوامل دیگر می‌باشند. لکوپلازی و کراتوز طناب‌های صوتی نیز باعث سرطان حنجره می‌شوند، ولی در بررسی طولانی‌مدت کراتوز حنجره فقط ۳/۴ درصد موارد سرطان حنجره دیده شده است (۱).

HP در ۵۹ بیمار مورد بررسی ما تنها در ضایعات SCC (۵۳/۸ درصد)، Basaloid SCC (۷/۷ درصد)، گرانولاسیون (۱۵/۴ درصد) و پاپیلوماتوز (۲۳/۱ درصد) مشاهده شد، هر چند اختلاف معنی‌داری بین پاتولوژی‌های مختلف یافت نشد. در مطالعه‌ای که Fang و همکارانش بر روی مبتلایان به ضایعات خوش‌خیم حنجره شامل ندول و پولیپ تارهای صوتی انجام دادند، در آزمون اوره‌آز بافت ضایعه، در ندول HP یافت نشد ولی از ۲۰ پولیپ ۱۳ تای آنها از نظر HP مثبت بودند. در مورد ضایعات بدخیم نتایج متفاوتی به دست آمده است. Burduk PK در بررسی ۸۰ نمونه سرطان حنجره و ۳۴ ضایعه خوش‌خیم حنجره با آزمون اوره‌آز بافت ضایعه دریافت که ۶۲/۵ درصد ضایعات بدخیم و ۴۷/۳ درصد ضایعات خوش‌خیم از نظر HP مثبت بودند (۳۵). در حالی که Kizilay A و

می‌دهند آلودگی با این باکتری موجب افزایش خطر ابتلا به سرطان می‌شود. به عنوان مثال در مطالعه Titiz و همکاران (۱۱) وجود مواد ژنومیک هلیکوباکتر پیلوری در بافت حنجره افراد مبتلا به SCC حنجره را نشان دهنده وجود این میکروب در این نواحی دانسته و ذکر کرده‌اند که ممکن است این مورد گویای ارتباط بین این باکتری و ایجاد SCC در حنجره باشد که البته مکانیسم آن ناشناخته است. در مطالعه مسعود و همکاران (۱۲) هلیکوباکتر پیلوری در هیچ‌یک از نمونه‌های مبتلا به ضایعات خوش‌خیم و بدخیم حنجره یافت نشد و ارتباط آن با ضایعات حنجره رد شد. اما Rubin و همکاران (۱۳) متوجه شدند که سطح خونی آنتی‌بادی ضد هلیکوباکتر پیلوری در افراد مبتلا به دیس‌پلازی شدید در سر و گردن (حدود ۶۵ درصد آنها دیس‌پلازی یا SCC حنجره داشتند) بالاتر از گروه شاهد (منطبق شده از نظر سنی) است و پیشنهاد دادند که مطالعات بیشتری در این زمینه انجام شود. Nurgalieva و همکارانش (۱۴) نشان دادند که هیچ ارتباطی بین عفونت با هلیکوباکتر پیلوری و محافظت از سرطان SCC در حنجره وجود ندارد و حتی برعکس آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری می‌تواند باعث افزایش سرطان‌های حنجره غیر مرتبط با آلودگی به HPV-16 گردد. در ایران نیز نتایج متفاوتی در مورد ارتباط هلیکوباکتر پیلوری با سرطان حنجره بدست آمده است. دکتر مختاری امیرمجدی و همکاران مشاهده کردند که هلیکوباکتر پیلوری با ابتلای کانسر حنجره در ارتباط است (۱۶)، در حالی که دکتر مجیدی و همکاران در مطالعه خود برای هلیکوباکتر پیلوری نقش محافظتی در برابر کانسر حنجره قائل بودند (۱۷). البته در هر دو مطالعه از روش‌های سرولوژیک استفاده شده بود و تنها در مطالعه دکتر مختاری امیرمجدی و همکاران از کشت برای تایید استفاده شده بود که نیاز به تجربه و امکانات خاص دارد. مقالاتی که به نقش اتیولوژیک هلیکوباکتر پیلوری اشاره می‌کنند، ذکر می‌کنند که هلیکوباکتر پیلوری می‌تواند عفونت مزمن به وجود بیاورد که شاید با ایجاد ضایعات خوش‌خیم و بدخیم در مسیر aerodigestive همراه باشد (۱۵). آنها در نهایت نتیجه گرفتند که عفونت با هلیکوباکتر پیلوری در مسیر aerodigestive فوقانی می‌تواند به mucosal disruption منجر گردد که مخاط این ناحیه را آماده می‌کند تا کارسینوژن‌هایی مانند کارسینوژن‌های موجود در سیگار و الکلی روی آن اثر کنند. ما در مطالعه خود، از بافت ضایعه استفاده کردیم و به عبارتی اثر مستقیم هلیکوباکتر پیلوری را ارزیابی کردیم، چه بسا در بررسی بافت معده بسیاری از بیمارانی که نتیجه PCR آنها

متوسط داشتند، در حالی که اکثر بیماران مبتلا به خوش‌خیمی حنجره بیکار (۴۳/۸ درصد) یا دارای درآمد پایین (۳۴/۴ درصد) بودند. از طرف دیگر ۴ نفر از بیماران با ضایعه بدخیم حنجره (۱۴/۸ درصد) و ۶ نفر از بیماران با ضایعه خوش‌خیم حنجره (۱۸/۸ درصد) دارای شغل یا فعالیتی بودند که به ترومای تار صوتی و تولید بیش از حد صوت می‌انجامید، اما اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد. به عبارتی شغل‌هایی با ترومای صوتی و نیز میزان درآمد نقشی تعیین‌کننده در ابتلای به بیماری‌های خوش‌خیم و بدخیم ندارند. در موارد HP مثبت، بیماران مبتلا به ضایعات خوش‌خیم اکثراً بیکار و مبتلایان ضایعات بدخیم اکثراً دارای درآمد متوسط بودند و اختلاف معنی‌داری نیز مشاهده شد که نیازمند بررسی بیشتر است.

نکته جالب دیگر اینکه، از موارد هلیکوباکتر مثبت ۳۵ درصد سابقه GERD نداشتند که این نشان می‌دهد که عدم داشتن سابقه GERD رد‌کننده وجود HP در بافت حنجره نیست. در ۳۰ درصد موارد HP مثبت، HPV نیز در بافت حنجره وجود داشت و ۲۸/۵ درصد نیز سابقه رینیت آلرژیک داشتند که همراهی آنها با HP و داشتن اثر سینرژیسم این موارد در ایجاد ضایعات حنجره نیازمند بررسی بیشتر است. HP در گروه خونی O مثبت بیشتر دیده می‌شود که این در مورد ضایعات حنجره نیز اثبات شد. در ضمن اکثر موارد HP مثبت فارس بودند.

در این مطالعه، دو گروه بیماری‌های خوش‌خیم و بدخیم حنجره از نظر سابقه خانوادگی بیماری‌های حنجره، نوع گروه خونی، سابقه ریفلکس گاستروازوفازئال، سابقه لارنژیت، سابقه ابتلا به ویروس پاپیلوما (HPV)، سابقه رینیت آلرژیک، سابقه رادیوتراپی، نوع شغل، میزان درآمد و شغل یا فعالیت منجر به ترومای تار صوتی و تولید بیش از حد صوت اختلاف معنی‌داری نداشتند. این عدم اختلاف می‌تواند به این دلیل باشد که موارد ذکر شده در هر دو حالت بیماری‌های خوش‌خیم و بدخیم حنجره نقش دارند، لذا تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

از یافته‌های این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که عفونت موضعی با هلیکوباکتر پیلوری (HP) نقشی در ایجاد بدخیمی‌های حنجره در مقایسه با موارد خوش‌خیم ندارد، هر چند که فراوانی ابتلای بافت‌های بیوپسی شده به HP در موارد بدخیمی (۲۹/۶ درصد) بیش از خوش‌خیمی (۱۵/۶ درصد) بوده است. با توجه به یافتن میکروب هلیکوباکتر پیلوری در بافت حنجره مبتلایان به بیماری‌های خوش‌خیم و بدخیم

همکاران در رنگ‌آمیزی بافت ضایعات خوش‌خیم و بدخیم حنجره با هماتوکسیلین-ائوزین و گیمسا و مشاهده آنها زیر میکروسکوپ الکترونی هیچ میکروب هلیکوباکتر پیلوری را مشاهده نکردند (۳۷). این نتایج متفاوت می‌تواند به دلیل روش‌های مختلف تشخیص HP، فراوانی مختلف HP در جوامع مختلف و مطالعاتی با حجم نمونه‌های مختلف باشد.

ما در مطالعه خود دریافتیم که در بیماری‌های بدخیم، میانگین سنی موارد هلیکوباکتر پیلوری مثبت و منفی تفاوتی نداشت، هر چند در بیماران مبتلا به ضایعات خوش‌خیم تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و میانگین سنی بیماران HP منفی بیش از HP مثبت بود. این نشان دهنده آن است که ابتلای به HP می‌تواند در سنین پایین‌تری باعث بیماری‌های خوش‌خیم حنجره شود، اما در بیماری‌های بدخیم حنجره این حالت مشاهده نمی‌شود. بر طبق شواهد به دست آمده، عفونت HP اکثراً در دوران کودکی کسب می‌شود و بدون درمان از بین نمی‌رود و با افزایش سن بر میزان شیوع HP افزوده می‌شود (۲۱). کسب بیشتر عفونت در دوران کودکی می‌تواند توجیه‌کننده ابتلا به ضایعات خوش‌خیم در سنین پایین‌تر در موارد HP مثبت باشد، به خصوص که ذکر می‌کنند هلیکوباکتر پیلوری می‌تواند عفونت مزمن به وجود آورد (۱۵). این حالت در موارد بدخیم مشاهده نشد که می‌تواند بیانگر مسیر دیگری برای ایجاد بدخیمی‌های حنجره باشد. برای قبول یا رد این فرضیه نیاز به مطالعات بیشتر و حجم نمونه بالاتر با لحاظ کردن تمامی عوامل مداخله‌گر شناخته شده احساس می‌شود. لازم به ذکر است که اکثر کودکان زیر ۱۰ سال ما (۴۰ درصد) HP مثبت بودند، در حالی که تنها حدود ۲۰ درصد بزرگسالان HP مثبت بودند که این مورد شاید به دلیل سابقه انتوباسیون در کودکان باشد.

هلیکوباکتر پیلوری بیشتر در TVC، خلف و سمت راست کشف شد. محل بیوپسی موارد هلیکوباکتر پیلوری منفی بیشتر در TVC، قدام و سمت چپ بود. این نشان‌دهنده آن است که بیشتر ضایعات ما در TVC رخ داده بود و شاید علت معنی‌دار نشدن آزمون آماری در این مورد این باشد که کلاً شایع‌ترین محل ایجاد ضایعه حنجره تار صوتی حقیقی یا همان TVC می‌باشد. شواهد بیانگر آن است که GERD بیشتر در خلف حنجره ضایعه ایجاد می‌کند (۲۷) و کشف هلیکوباکتر پیلوری بیشتر در خلف حنجره در این مطالعه شاید بی‌ارتباط با GERD نباشد.

از دیگر موارد به دست آمده در این مطالعه این است که بیشتر بیماران (۴۸/۱ درصد) مبتلا به بدخیمی حنجره درآمد

حنجره، انجام مطالعه‌ای به منظور مقایسه هر یک از این گروه‌ها با بافت حنجره افراد سالم ضروری به نظر می‌رسد تا نقش اتیلوژنیک این میکروب در ایجاد آنها ارزیابی شود.

REFERENCES

۱. حسنی افشار ع. تومورهای حنجره و بررسی ۱۶۳ مورد آن در استان آذربایجان غربی. مجله پزشکی ارومیه. سال ۱۳۷۰؛ دوره ۲، بهار و تابستان، شماره ۲-۱: صفحات ۴۰-۲۳.
2. Sepulveda AR, Graham DY. Role of *Helicobacter pylori* in gastric carcinogenesis. *Gastroenterol Clin North Am* 2002; 31: 517-35.
3. El-Omar EM, Oien K, Murray LS, El-Nujumi A, Wirz A, Gillen D, et al. Increased prevalence of precancerous changes in relatives of gastric cancer patients: critical role of *H. pylori*. *Gastroenterology* 2000; 118: 22-30.
4. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 784-89.
5. Malaty HM, Nyren O. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2003; 8: 245-53.
6. Rubin JS, Benjamin E, Prior A, Lavy Y, Ractcliffe P. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in benign laryngeal disorders. *J Voice* 2002; 16: 87-91.
7. Fang TJ, Lee LA, Li HY, Yang C, Huang CG. *Helicobacter pylori* colonization in the larynges of patients with hoarseness. *Laryngoscope* 2008; 118: 389-93.
8. Titiz A, Ozcaker O, Ceyhan S, Yilmaz YF, Unal A, Akyon Y. The presence of *Helicobacter pylori* in the larynx pathologies. *Auris Nasus Larynx* 2008; 35: 534-38.
9. Masoud N, Manouchehr K, Najmeh D, Monireh H. Lack of association between *Helicobacter pylori* and laryngeal carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9: 81-82.
۱۰. مختاری امیرمجدی ن، خواجه کرم الدین م، سعادت نیا ح، رجعتی حقی م. بررسی رابطه کانسر حنجره و هیپوفارنکس با عفونت هلیکوباکتر پیلوری. مجله گوش، گلو، بینی و حنجره ایران. سال ۱۳۸۳؛ دوره ۱۶، شماره ۳۵: صفحات ۳۲-۲۷.
۱۱. مجیدی م ر، رضائی س، حسن زاده ن، اسماعیل زاده ع، بابائیان م، نوری زاده ن، شاکری م ت. بررسی ارتباط هلیکوباکتر پیلوری با پیدایش سرطان سلول سنگفرشی حنجره و هیپوفارنکس. مجله گوش، گلو، بینی و حنجره ایران، ۱۳۸۶؛ دوره ۱۹، تابستان، شماره ۲: صفحات ۸۹-۹۴.
12. Vinette KMB, Gibney KM, Proujansky R, Fawcett PT. Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing *H. pylori* infection in pediatric patients. *BMC Microbiol* 2004; 4: 5.
13. Rubin JS, Benjamin E. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in malignant and premalignant conditions of the head and neck. *J Laryngol* 2003; 117: 118-21.
14. Nurgalieva ZZ, Graham DY, Dahlstrom KR, Wei Q, Sturgis EM. A pilot study of *Helicobacter pylori* infection and risk of laryngopharyngeal cancer. *Head Neck* 2005; 27: 22-27.
15. Aygenc E, Selcuk A, Celikkanat S, Ozbek C, Ozdem C. The role of *Helicobacter pylori* infection in the cause of squamous cell carcinoma of the larynx. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 125: 520-21.
16. Alizadeh AHM, Ansari S, Ranjbar M, Shalmani HM, Ardalan AM, Arabi M, et al. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in Nahavand: a population based study. *Eastern Med J* 2008; 222: 234-38.
17. Cummings CW, Flint PW, Haughey BH, Robbins KT. *Otolaryngology, head and neck surgery*. 4th ed. Philadelphia: W.B.Saunders; 2005.