

# فراوانی ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱ و ۲ (HSV-1,2) در زنان مبتلا به سرطان سینه با روش Multiplex-PCR

فاطمه کاوه<sup>۱</sup>، دکتر کیومرث امینی<sup>۲\*</sup>، دکتر مجتبی ساده<sup>۳</sup>

۱. کارشناس ارشد گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران.
۲. استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران.
۳. متخصص باکتری‌شناسی پزشکی، دپارتمان میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۱۲

## خلاصه

**مقدمه:** سرطان پستان، یک بیماری بدخیم مشترک و یک علت عمده مرگ‌ومیر در زنان است. ویروس‌ها به عنوان یکی از عوامل پرخطر در ارتباط با سرطان پستان انسان شناخته می‌شوند. ویروس هرپس سیمپلکس ۱ و ۲ (HSV-1,2) در پاتوژنز سرطان نقش دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی استفاده از روش M-PCR جهت بررسی فراوانی ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱ و ۲ در نمونه خون بیماران مبتلا به سرطان پستان انجام شد.

**روش کار:** این مطالعه مقطعی در سال ۹۵-۱۳۹۴ بر روی ۶۰ مورد بیمار مبتلا به سرطان پستان انجام گرفت. آلودگی به ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱ و ۲ توسط روش M-PCR مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۸) انجام شد.

**یافته‌ها:** از تعداد ۶۰ نمونه خون دریافت شده از بیماران مبتلا به سرطان پستان تعداد ۶ نمونه (۱۰٪) برای هرپس سیمپلکس ویروس تیپ ۱ و ۳ نمونه (۵٪) برای هرپس سیمپلکس ویروس تیپ ۲ مثبت بودند.

**نتیجه‌گیری:** ویروس هرپس سیمپلکس و به‌ویژه HSV-1 می‌تواند به‌عنوان کوفاکتوری در بروز سرطان سینه نقش ایفا نماید، لذا پیشنهاد می‌گردد که مطالعات بیشتری در این زمینه انجام گردد.

**کلمات کلیدی:** سرطان پستان، مولتی پلکس پی سی آر، ویروس هرپس سیمپلکس

\* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر کیومرث امینی؛ دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران. تلفن: ۰۹۱۲۵۴۵۴۰۷۴؛ پست الکترونیک: dr\_kumarss\_amini@yahoo.com

## مقدمه

در حال حاضر سرطان پس از بیماری‌های قلبی-عروقی، دومین علت مرگ را به خود اختصاص داده است. سرطان پستان، دومین عامل مرگ ناشی از سرطان‌ها به شمار می‌رود و تقریباً از هر ۸ زن، یک نفر به سرطان پستان مبتلا می‌شود که در اغلب اوقات به برداشتن کامل بافت پستان، شیمی‌درمانی، پرتودرمانی و هورمون درمانی منجر می‌گردد. در کشورهای توسعه‌یافته یکی از علل اصلی مرگومیر زنان، سرطان پستان است که در ۸۰-۵۰٪ موارد علل اصلی آن ناشناخته است. سرطان پستان، شایع‌ترین بدخیمی جنس مؤنث می‌باشد که عوامل اتیولوژیک و عوامل خطر متعددی در ایجاد و تکامل آن مطرح می‌باشند (۱). در ایران سرطان پستان پس از سرطان دهانه زهدان و پوست، سومین نوع سرطان شایع در زنان است (۵). طی دهه‌های اخیر با وجود موفقیت‌های به‌دست آمده در زمینه کنترل و پیشگیری از بیماری‌های واگیر، میزان بروز و شیوع بیماری‌های غیر واگیر به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است (۲). ویروس‌ها به‌عنوان یکی از عوامل پرخطر در ارتباط با سرطان پستان انسان شناخته می‌شوند. انواع ویروس‌های DNA دار مانند پاپیلومای انسانی (HPV)<sup>۱</sup>، ویروس اپشتین بار (EBV)<sup>۲</sup>، ویروس سیتومگال انسانی، ویروس هرپس سیمپلکس (HSV)<sup>۳</sup> و هرپس ویروس انسانی تیپ ۸ (HHV-8) با برخی از سرطان‌های انسانی در ارتباطند. ویروس هرپس سیمپلکس ۱ و ۲ (HSV-1 و HSV-2)، دو تن از اعضای خانواده هرپس ویریده می‌باشند که در تمام سنین انسان را آلوده می‌کنند (۳). HSV-1 معمولاً به‌صورت خوراکی در دوران کودکی انسان را مبتلا می‌سازد و همچنین ممکن است از طریق جنسی منتقل شود. ۷۶٪ سرطان‌های شایع زنان در ایران مربوط به پستان است و مجموع مبتلایان به سرطان پستان در ایران ۴۰ هزار نفر است و سالانه بیش از ۷

هزار بیمار به این تعداد اضافه می‌گردد. بیش از ۴۰٪ از مبتلایان در سنین ۵۰-۴۰ سال بوده‌اند و میانگین سنی آنان در ایران کمتر از سایر کشورها می‌باشد (۴). سرطان در ایران بعد از بیماری‌های قلبی - عروقی، سوانح و حوادث، سومین علت مرگومیر بوده و در بسیاری از کشورهای پیشرفته و در حال پیشرفت به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی محسوب می‌شود. در این میان، شیوع سرطان پستان حدود یک‌سوم از تمامی سرطان‌های زنان را تشکیل می‌دهد و دومین سرطان شایع بعد از سرطان ریه و شایع‌ترین علت مرگومیر ناشی از سرطان در بین زنان است (۶). HSV-2 در درجه اول یک عفونت مقاربتی می‌باشد، در عین حال سلول‌های سرطان پستان انسان نیز به HSV DNA آلوده می‌شوند (۷). استفاده از تکنیک PCR و Southern hybridization برای تشخیص DNA ویروس در بیماران مبتلا به سرطان پستان استفاده شده است. در مطالعه کزن و همکاران (۲۰۰۲) که بر روی نمونه‌های جمع‌آوری شده از افراد غیر سرطانی و یا سایر افراد با تومورهای تیروئید یا فیبروآدنوم انجام شد، نشان دادند که ارتباطی بین وجود HSV-1 با تومورهای بدخیم پستان وجود ندارد (۸). با این وجود، خاشمن (۲۰۱۳) نشان داد که فراوانی آنتی ژن HSV-1 در بافت سرطان سینه برابر با ۳۱/۸٪ است و از نظر آماری ارتباط معنی‌داری بین بیان HSV-1 با بیماران مبتلا به سرطان سینه وجود داشت. این محقق نتیجه گرفت که HSV-1 می‌تواند به‌عنوان یک کوفاکتور در انکوژنز سرطان سینه عمل کند (۹).

مطالعه حاضر با هدف بررسی استفاده از روش مولتی پلکس پی سی آر (M-PCR) جهت بررسی فراوانی ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱ و ۲ در نمونه خون بیماران مبتلا به سرطان پستان انجام شد.

## روش کار

این مطالعه مقطعی از مهر ماه سال ۱۳۹۴ تا خرداد سال ۱۳۹۵ انجام شد. در ابتدا، ۶۰ نمونه خون از زنان مبتلا به سرطان پستان مراجعه کننده به مرکز درمانی بیمارستان فیاض بخش تهران توسط پزشک متخصص

<sup>1</sup> Human papillomavirus

<sup>2</sup> Epstein-Barr virus

<sup>3</sup> Herpes simplex virus

DNA با استفاده از دستگاه HITACHI مدل U1800 (آلمان) طبق دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت خوانده شد و از غلظت استاندارد ۵۰ میکروگرم در هر میلی‌لیتر از ژنوم استخراج شده در همه واکنش‌ها استفاده شد. در مرحله بعدی پرایمرها طراحی و به شرکت پیشگام سفارش داده شد.

جمع‌آوری و ارسال گردید. برای انجام این تحقیق از شیوه نمونه‌گیری تصادفی استفاده شد. حجم نمونه با استفاده از فرمول کوکران و با در نظر گرفتن سطح احتمال ۵٪، ۵۴ نفر به دست آمد که با احتساب ریزش نمونه‌ها، ۶۰ بیمار در نمونه‌گیری شرکت داشتند. استخراج DNA با استفاده از کیت تجاری Invitek (آلمان) انجام شد. پس از استخراج، مقدار غلظت

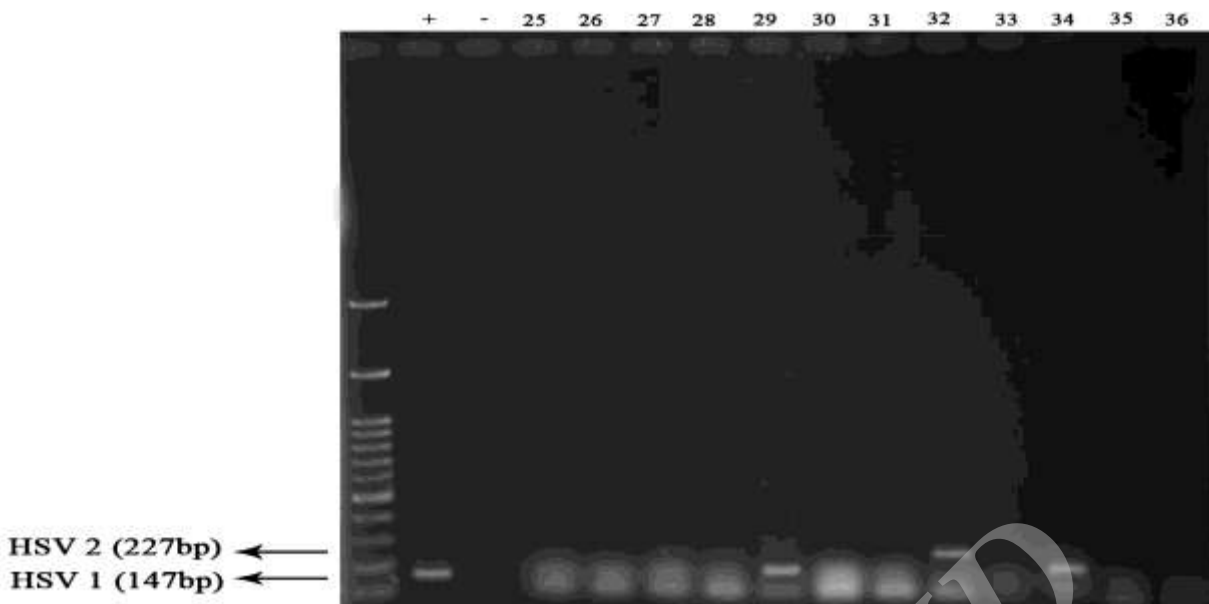
جدول ۱- توالی‌های نوکلئوتیدی و ویژگی آغازگرهای استفاده شده جهت شناسایی هرپس ویروس تیپ ۱ و ۲ انسانی

نام ژن	نوع پرایمرها	اندازه محصول bp
Human herpesvirus type -1	Forward: 5' TGGGACACATGCCTTCTTGG`3 Reverse: 5' ACCCTTAGTCAGACTCTGTTACTTACCC`3	۱۴۷
Human herpesvirus type -2	Forward: 5' AAGGCCAACTAAATGTCAC`3 Reverse: 5' CTGCTTTTATACAACCGG`3	۲۲۷

### یافته‌ها

در این مطالعه ۶۰ نمونه خون از زنان مبتلا به سرطان پستان در مرحله بدخیمی مراجعه کننده به مرکز درمانی بیمارستان فیاض بخش تهران توسط پزشک متخصص جمع‌آوری شد. میانگین سنی کل بیماران  $48 \pm 5/34$  سال و محدوده سنی بیماران ۱۸-۶۹ سال بود. از لحاظ گروه خونی اکثر بیماران دارای گروه خونی  $A^+$  (۸۰٪) و کمترین آنها  $AB^-$  (۱۶٪) بودند. از لحاظ مرحله‌بندی سرطان سینه در این بیماران؛ تعداد ۲۶ مورد (۴۳٪) در مرحله اول، ۱۷ مورد (۲۸٪) در مرحله دوم، ۱۱ مورد (۱۸٪) در مرحله سوم و ۶ مورد (۱۰٪) در مرحله چهارم سرطان بودند. از این تعداد ۶ نمونه (۱۰٪) برای هرپس ویروس تیپ ۱ و ۳ نمونه (۵٪) برای ویروس هرپس تیپ ۲ مثبت بودند. در هیچ‌کدام از نمونه‌ها هر دو ویروس به‌طور همزمان شناسایی نشدند.

پس از BLAST آغازگرهای انتخاب شده در سایت NCBI، واکنش Multiplex-PCR به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵/۵ میکرولیتر PCR master mix 5X (سیناکلون، ایران) حاوی Taq DNA polymerase (0.05 U/μl) و  $MgCl_2$  (3 mM) و ۰/۴ میلی مولار dNTPs، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها به غلظت ۰/۸ میکرومولار، ۱ میکرولیتر از DNA الگو (۱۰ نانوگرم) و ۱۰/۵ میکرولیتر آب دوبار تقطیر استریل با استفاده از گرادیانت ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) برای ۳۴ سیکل به صورت زیر انجام گرفت و با انتخاب برنامه مرتبط به صورت ذیل عمل گردید: گام اول واسرشت ثانویه ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۵۰ ثانیه، گام دوم اتصال آغازگر ۵۶ درجه برای ۳۰ ثانیه، گام سوم بسط اولیه ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۲ دقیقه و یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد. در پایان، محصولات واکنش M-PCR در ژل آگارز ۱٪ حاوی اتیدیوم بروماید (۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) الکتروفورز گردید.



شکل ۱- تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR با استفاده از آغازگر اختصاصی هیومن هرپس و ویروس تیپ ۱ (باند ۱۴۷ bp) و هیومن هرپس و ویروس تیپ ۲ (باند ۲۲۷ bp)، - : Negative Control; +: Positive Control; M: Marker 100bp

## بحث

شایع‌ترین مرحله بیماری B II می‌باشد. اکثر بیماران از نظر گیرنده هورمونی استروژن مثبت و از نظر HER2 منفی می‌باشند (۱۷). در مطالعه بشارت و همکاران (۲۰۱۱) که بر روی عوامل خطر سرطان پستان در زنان استان گلستان انجام شد، تمام موارد سرطان پستان ثبت شده در سیستم ثبت سرطان استان گلستان در سال‌های ۸۵-۱۳۸۳ و همسایگان با رده سنی مشابه از نظر عواملی مانند سن ازدواج، سن قاعدگی، سن حاملگی، مدت شیردهی و سایر عوامل فردی بررسی شدند (۱۳۴ مورد و ۱۳۳ شاهد)، داده‌ها با مصاحبه بر اساس پرسشنامه تهیه شده جمع‌آوری شد. در افراد با سن ازدواج زیر ۱۹/۲۹ سال احتمال ابتلاء به سرطان پستان ۰/۷۶ برابر، در سن قاعدگی زیر ۱۳/۳۷ احتمال ابتلاء ۱/۳، در افراد با سن یائسگی زیر ۴۶/۶ سال احتمال سرطان پستان ۲/۹۱ برابر ( $p=0/021$ )، در سن حاملگی کمتر از ۲۰/۵۱ سال احتمال ابتلاء به سرطان ۰/۸۷ برابر، در شیردهی بیش از ۶۴/۳۵ ماه احتمال سرطان پستان ۰/۷۳ برابر، در افراد مجرد ۱/۳۳ برابر و در تحصیلات زیر دیپلم ۱/۲ برابر بود. احتمال ابتلاء به سرطان پستان در افراد دارای سابقه سرطان در فامیل درجه اول و دوم به ترتیب ۰/۵۳ و ۰/۶۷ برابر بود (۱۰). جلالی ندوشن و همکاران (۲۰۰۷) وضعیت بیان ژن BCL-2 در سرطان اولیه پستان و ارتباط آن با برخی عوامل مؤثر در پیش آگاهی را مورد

ویروس‌ها به عنوان یکی از عوامل پرخطر در ارتباط با سرطان پستان انسان مطرح هستند. با این حال، مطالعات مختلف بر روی حضور ویروس‌ها در سرطان پستان به نتایج متناقضی رسیده‌اند. ویروس‌های DNA دار، مانند انواع خاصی از پاپیلوماوی انسانی (HPV)، ویروس اپشتین بار (EBV)، ویروس سیتومگال انسانی، ویروس هرپس سیمپلکس (HSV) و هرپس ویروس انسانی نوع ۸ (HHV-8)، به عنوان عوامل ابتلاء به برخی از سرطان‌های انسانی مطرح هستند. ویروس هرپس سیمپلکس ۱ و ۲ (HSV-1) و (HSV-2)، دو تن از اعضای خانواده هرپس ویروس هستند که در تمام سنین انسان را آلوده می‌کنند. در عین حال سلول‌های سرطان پستان انسان نیز به HSV آلوده می‌شوند. در مطالعه حاضر میانگین سنی کل بیماران  $48 \pm 5/34$  سال و دامنه میانگین سنی بیماران ۱۸-۶۹ سال بود. از این تعداد ۶ نمونه (۱۰٪) برای هیومن هرپس و ویروس تیپ ۱ و ۳ نمونه (۵٪) برای ویروس هیومن هرپس و ویروس تیپ ۲ مثبت بودند. در هیچ‌کدام از نمونه‌ها هر دو ویروس به‌طور همزمان شناسایی نشدند. مطالعه شهید ثالث و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که سرطان پستان در زنان بالای ۷۰ سال بیشتر از نوع تهاجمی داکتال کارسینوما می‌باشد و

سایر افراد با تومورهای تیروئید یا فیبروآدنوم (در پستان کنترل سرطان) در چین پرداختند، ۸ مورد (۱۲/۹٪) HSV-1، ۲۸ مورد (۴۵/۲٪) EBV و ۴۷ مورد (۷۵/۸٪) CMV شناسایی شد (۱۴). کوربکس و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی شیوع پاپیلوما، پولیوما و ویروس‌های هرپس در نمونه‌های سرطانی و غیر سرطانی پستان زنان الجزایر پرداختند. DNA ویروسی در ۲۲ مورد (۱۷/۹٪) از ۱۲۳ تومور پیدا شد. شایع‌ترین ویروس‌ها EBV-۱ و HPV-۱۶ بود، در حالی که هیچ موردی از ویروس HSV1 و HSV2 گزارش نشد (۱۵). در مطالعه خاشمن (۲۰۱۳) که به بررسی آنتی‌ژن ویروس HSV-۱ در ۲۲ نمونه بافت سرطان پستان بغداد پرداخت، تشخیص HSV-1 Ag در بیماران بافت مبتلا به سرطان پستان ۳۱/۸٪ (۷ نفر از ۲۲ نفر) بود (۱۶). نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه خاشمن و تسای مطابقت داشت. با توجه به یافته‌های پیشین می‌توان دریافت که مطالعات بیشتر برای درک ارتباط این ویروس‌ها با شکل‌گیری تومورهای سینه نیاز می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

ویروس هرپس سیمپلکس و به‌ویژه HSV-1 می‌تواند به‌عنوان کوفاکتوری در بروز سرطان سینه نقش ایفا نماید، لذا پیشنهاد می‌گردد که مطالعات بیشتری در این زمینه انجام گردد.

### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از پرسنل زحمتکش مرکز درمانی بیمارستان فیاض بخش کرج که ما را در جمع‌آوری نمونه یاری رساندند و همچنین از مدیریت و پرسنل آزمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد (واقع در تهران) که نقش چشمگیری را در انجام کارهای آزمایشگاهی بر عهده داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود.

بررسی قرار دادند. این مطالعه به روش مقطعی بر روی ۷۵ بیمار مبتلا به سرطان پستان در بیمارستان شهید مصطفی خمینی انجام گرفت. پس از آماده‌سازی از نمونه برش بافتی گرفته شد. یکی از برش‌های بافتی تومور و گره‌های لنفاوی با روش هماتوکسیلین و انوزین رنگ‌آمیزی گردید. لام دیگری به روش ایمنی بافتی - شیمیایی با آنتی‌بادی کلونال از نظر BCL-2 بررسی شد. ۳/۶۹٪ از بیماران درگیری غدد لنفاوی داشتند. ۳/۴۱٪ نمونه BCL-2 مثبت بود. به نظر می‌رسد BCL-2 عامل مؤثری در پیشگیری از سرطان پستان می‌باشد (۱۱). در مطالعه صبوری قناد و همکاران (۲۰۱۵) که به بررسی سرواپیدمیولوژی ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۲ و عوامل مؤثر بر آن در زنان مراجعه کننده به مرکز ژنتیک بیمارستان شهید بهشتی همدان پرداختند، روند تغییرات تعداد مورد مثبت آنتی‌بادی ضد HSV-2 طی سال‌های گزارش شده ارتباط معناداری داشت؛ به‌طوری‌که موارد مثبت از ۳۷/۵٪ در سال ۱۳۹۴ به ۶٪ در سال ۱۳۸۸ رسید. این امر می‌تواند نشان از آگاهی مردم از روش‌های سرایت و راه‌های پیشگیری و درمان این بیماری باشد (۱۲). هدایت مفیدی و همکاران (۲۰۰۸) سرواپیدمیولوژی هرپس سیمپلکس تیپ ۱ در مراجعین به آزمایشگاه‌های شهر گرگان را مورد مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که شیوع سرمی آنتی بادی‌های ضد HSV-1 در شهر گرگان با پژوهش‌های انجام یافته در سایر نقاط ایران همخوان است، ولی بالاتر از کشورهای اروپایی و پایین‌تر از کشورهای آفریقایی است که علت آن ممکن است مرتبط با فرهنگ اجتماعی منطقه باشد که بررسی احتمال دقیق‌تر، مطالعات بیشتری را می‌طلبد (۱۳). در مطالعه تسای و همکاران (۲۰۰۵) که به ردیابی ویروس پاپیلوما انسانی (HPV)، سیتومگالوویروس (CMV)، ویروس اپشتین بار (EBV)، ویروس هرپس سیمپلکس (HSV-1) و HSV-2 و هرپس انسانی (HHV-8) در ۶۹ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۶۰ نمونه از غیر سرطانی و یا

1. Dimri G, Band H, Band V. Mammary epithelial cell transformation: insights from cell culture and mouse models. *Breast Cancer Res* 2005; 7(4):171-9.
2. Thakur A, Xu H, Wang Y, Bollig A, Biliran H, Liao JD. The role of X-linked genes in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 93(2):135-43.
3. Amarante MK, Watanabe MA. The possible involvement of virus in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135(3):329-37.
4. Liao HC, Tsai JH. Data mining for DNA viruses with breast cancer, fibroadenoma, and normal mammary tissue. *Appl Mathem Comput* 2007; 188(1):989-1000.
5. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127(12):2893-917.
6. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006; 118(12):3030-44.
7. Lacey JV Jr, Devesa SS, Brinton LA. Recent trends in breast cancer incidence and mortality. *Environ Mol Mutagen* 2002; 39(2-3):82-8.
8. Czene K, Lichtenstein P, Hemminki K. Environmental and heritable causes of cancer among 9.6 million individuals in the Swedish family-cancer database. *Int J Cancer* 2002; 99(2):260-6.
9. Khashman BM. Detection of Herpes Simplex Virus-1 Antigen in Tissues of Breast Cancer. *Diyala Journal of Medicine*. 2013;4(1):2.
10. Motie MR, Besharat S, Torkjazi R, Shojaa M, Besharat M, Keshtkar A, et al. Modifiable risk of breast cancer in northeast Iran: hope for the future. A case-control study. *Breast Care* 2011; 6:453-6.
11. Jalali Nadoushan MR, Davati A, Tavakoli A. Expression of bcl-2 gene in primary breast cancer and its correlation with some prognostic factors. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2007; 17(58):30-6. (Persian).
12. Azadfar S, Cheraghali F, Moradi A, Javid N, Tabarraei A. Herpes simplex virus meningitis in children in south east of Caspian sea, Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2014; 7(1):e8599.
13. Rezaei-Chaparpordi S, Assmar M, Amirmozafari N, Modiri L, Massiha A, Shokri-Fashtali S, et al. Iran Seroepidemiology of herpes simplex virus type 1 and 2 in northern Iran. *Iran J Public Health* 2012; 41(8):75-9. (Persian).
14. Tsai JH, Tsai CH, Cheng MH, Lin SJ, Xu FL, Yang CC. Association of viral factors with non-familial breast cancer in Taiwan by comparison with non-cancerous, fibroadenoma, and thyroid tumor tissues. *J Med Virol* 2005; 75(2):276-81.
15. Corbex M, Bouzbid S, Traverse-Glehen A, Aouras H, McKay-Chopin S, Carreira C, et al. Prevalence of papillomaviruses, polyomaviruses, and herpesviruses in triple-negative and inflammatory breast tumors from algeria compared with other types of breast cancer tumors. *PLoS One* 2014; 9(12):e114559.
16. Khashman BM. Detection of herpes simplex virus-1 antigen in tissues of breast cancer. *Diyala J Med* 2013; 4(1):2.
17. Shahidsales S, Silanian Toussi M, Joudi M, Shahson Gharbi N, Ahmadi Simab N, Shahabadi M. Study of clinical characteristics of breast cancer among women older than 70 years. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2017; 19(38):1-6. (Persian).
18. Neinavaie M, Soltani HR, Soltani N. The relationship between breast self-examination (BSE) awareness and demographic factors in women health management. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2017; 20(1):15-22. (Persian).