

### مقاله های پژوهشی

- ۱۰۴ ..... بررسی تأثیر کتامین و دگزامتازون بر روی فراوانی و شدت سرفه ناشی از فتانیل  
ریحانک طلاکوب، آناهیتا هیرمن پور، طاهره غلامزاده، پریسا جلیلیان فر
- ۱۱۱ ..... بررسی اثربخشی نرم افزار واقعیت مجازی بر بهبود فویبای خون- تزریق در کودکان و نوجوانان  
مصطفی نجفی، سید احمد رضا رضیان، حسین گراوند، شهلا آکوچکیان
- ۱۱۸ ..... تولید پپتید YY<sub>(3-36)</sub> در سیستم بیانی Escherichia Coli با استفاده از پروموتور خود القایی  
امیرحسین مومن، بیژن بیهی، ناصر هرزندی، اعظم حدادی
- ۱۲۴ ..... بررسی نقش پایش طولانی مدت در تصحیح الگوهای دارویی و درمان بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان  
محمد زارع، جعفر مهوری، نسرین اوجی فرد

### مقاله مروری

- ۱۳۱ ..... پارا پروبیوتیک ها: راه حلی برای خروج از مشکلات تولید و مصرف پروبیوتیک ها  
آتنا سادات سمبلیستانی، رسول شافیعی، محمد ربانی خوراسگانی

### Original Articles

- The Effect of Ketamine and Dexamethasone on Frequency and Intensity of Fentanyl-Induced Cough ..... 110  
Reihanak Talakoub, Anahita Hirmanpour, Tahereh Gholamzadeh, Parisa Jalilianfar
- The Effectiveness of Virtual Reality Software on Improvement of Blood-Injection Phobia in Children and Adolescents ..... 117  
Mostafa Najafi, Seyed Ahmadreza Razian, Hossein Garavand, Shahla Akuchekian
- Production of YY Peptides in the Escherichia Coli Expression System Using Self-Induction Promoter ..... 123  
Amirhossein Momen, Bijan Bambai, Naser Harzandi, Azam Hadadi
- The Effect of Long-Term Monitoring on the Correction of Medication and Treatment among Patients with Intractable Epilepsy ..... 130  
Mohammad Zarea, Jafar Mehvari, Nasrin Oujifard

### Review Article

- Paraprobiotics: A Solution to Leave Problems of the Production and Consumption of Probiotics ..... 141  
Atena Sadat Sombolستانی, Rasoul Shafiei, Mohammad Rabbani-Khorasgani



# مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و ششم، شماره (۴۶۸)، بهمن چهارم فروردین ماه ۱۳۹۷

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

مدیر مسؤول: دکتر منصور شعله‌ور      سردبیر افتخاری: دکتر رویا کلیشادی

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر مریم راد احمدی

ناشر:

انتشارات وسنا (فرزادگان راندیش)  
Email: farapublications@gmail.com  
http://farapub.com

تلفن: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۳۵

دورنگار: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۸۲

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

Email: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی      صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مدیر اجرایی: علی مرادی      مسؤول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۹۱      تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

Email: jims@med.mui.ac.ir

http://jims.mui.ac.ir

وب سایت مجله:

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

- Scopus
- Chemical Abstracts
- Islamic World Science Citation Center (ISC)
- Academic Search Complete EBSCO Publishing databases
- WHO/EMRO/Index Medicus
- Google Scholar
- Index Copernicus
- Directory of Open Access Journal (DOAJ)
- Index Academicus
- Scientific Information Database (www.sid.ir)
- www.iranmedex.com

کپی‌رایت: چاپ مطالب مندرج در این مجله به شرط ذکر منبع مجله بلامانع است.

تصاویر رنگی، مقالات و کلیپ‌های ویدئویی بر روی وب سایت مجله قابل دسترسی می‌باشند

## اعضای شورای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان (به ترتیب حروف الفبا)

نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی
۱- دکتر محمد رضا اخلاقی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر علی اخوان	استادیار، متخصص پرتودرمانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، فوق تخصص غدد، بیمارستان‌های دانشگاهی مرکز پزشکی کیولند، آمریکا
۵- دکتر احمد اسماعیل زاده	استاد، دکترای تخصصی تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- دکتر افسون امامی نائینی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۷- دکتر شاهین امامی	گروه بیوشیمی، بیمارستان سن آنتونیو، پاریس، فرانسه
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، فوق تخصص بیماری‌های ایمونولوژی و آلرژی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر فریبا ایرجی	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۱- دکتر کن باست	استاد، متخصص ابتکارات درمانی، دانشگاه بریتیش کلمبیا، کانادا
۱۲- دکتر رضا باقریان سرارودی	دانشیار، دکترای تخصصی روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- دکتر مجید برکتین	استاد، متخصص روانپزشکی، فلوشیپ نوروسایکیاتری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۴- دکتر فرزین پور فرزاد	دکترای تخصصی زیست شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند
۱۵- دکتر مسعود پورمقدس	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر احمد چیت‌ساز	استاد، متخصص مغز و اعصاب، فلوشیپ بیماری‌های حرکتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۷- دکتر علی حکمت نیا	استاد، متخصص رادیولوژی، فلوشیپ رادیولوژی مغز و اعصاب و کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۸- دکتر سید مرتضی حیدری	استاد، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۹- دکتر مجید خیراللهی	دانشیار، دکترای تخصصی ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر بهناز خانی	دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر مریم راداحمدی	استادیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۳- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۴- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۵- دکتر محمدرضا شریفی	استاد، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۶- دکتر منصور شعله‌ور	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۷- دکتر رسول صالحی	استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر مسیح صبوری	استاد، متخصص جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر محمدرضا صفوی	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۰- دکتر خسرو عادل‌لی	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۳۱- دکتر سعید عندلیب جورتانی	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لوئیس ویل، آمریکا
۳۲- دکتر زیبا فرج‌زادگان	استاد، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۳- دکتر رویا کلیشادی	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۵- دکتر عزیر گه‌ری	استاد، متخصص جراحی پلاستیک، دانشگاه بریتیش کلمبیا، کانادا
۳۶- دکتر پروین محزون‌ی	استاد، متخصص آسیب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۷- دکتر سید مهدی مدرس‌زاده	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۸- دکتر محمد مردانی	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۹- دکتر عطیه مغیثی	دانشیار، فوق تخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات دیابت و غدد داخلی مارینا، آمریکا
۴۰- دکتر مرجان منصوریان	استادیار، دکترای تخصصی اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۱- دکتر محمدرضا نوربخش	استاد، متخصص فیزیوتراپی، دانشگاه جورجیای شمالی، آمریکا
۴۲- دکتر مصطفی هاشمی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

## فهرست مطالب

### مقاله‌های پژوهشی

- ۱۰۴.....بررسی تأثیر کتامین و دگزامتازون بر روی فراوانی و شدت سرفه‌ی ناشی از فتانیل  
ریحانک طلاکوب، آناهیتا هیرمن‌پور، طاهره غلام‌زاده، پریسا جلیلیان‌فر
- ۱۱۱.....بررسی اثربخشی نرم‌افزار واقعیت مجازی بر بهبود فویبای خون- تزریق در کودکان و نوجوانان،  
مصطفی نجفی، سید احمدرضا رضیان، حسین گراوند، شهلا آکوچکیان
- ۱۱۸.....تولید پپتید YY(3-36) در سیستم بیانی *Escherichia Coli* با استفاده از پرموتر خود القایی  
امیرحسین مومن، بیژن بمئی، ناصر هرزندی، اعظم حدادی
- ۱۲۴.....بررسی نقش پایش طولانی مدت در تصحیح الگوهای دارویی و درمان بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان  
محمد زارع، جعفر مهوری، نسرین اوجی‌فرد
- ۱۳۱.....پاراپروبیوتیک‌ها: راه حلی برای خروج از مشکلات تولید و مصرف پروبیوتیک‌ها.  
آتناسادات سمبلستانی، رسول شفیعی، محمد ربانی خوراسگانی

## بررسی تأثیر کتامین و دگزامتازون بر روی فراوانی و شدت سرفه‌ی ناشی از فتانیل

ریحانک طلاکوب<sup>۱</sup>، آناهیتا هیرمن‌پور<sup>۲</sup>، طاهره غلامزاده<sup>۳</sup>، پریسا جلیلیان‌فر<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** تجویز وریدی فتانیل در طی القای بیهوشی عمومی اغلب باعث تحریک سرفه با فراوانی بین ۸۰-۱۸ درصد می‌شود. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی و مقایسه‌ی اثرات کتامین و دگزامتازون بر روی کاهش سرفه در بیماران کاندیدای بیهوشی عمومی با استفاده از فتانیل انجام شد.

**روش‌ها:** در طی یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی دو سو کور، ۹۹ بیمار با درجه‌ی ASA American Society of Anesthesiologists I و II در سنین ۱۸-۶۴ سال کاندیدای بیهوشی عمومی با استفاده از فتانیل مورد مطالعه قرار گرفتند. بیماران به صورت تصادفی و مساوی به ۳ گروه دریافت کننده‌ی کتامین (۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم)، گروه دگزامتازون (۰/۱ میلی‌گرم/کیلوگرم) و گروه دارونما (۵ میلی‌لیتر نرمال‌سالین) تقسیم شدند. کلیه‌ی داروها یک دقیقه قبل از تجویز ۲/۵ میکروگرم/کیلوگرم فتانیل تجویز شد. علائم حیاتی، تعداد و شدت سرفه اندازه‌گیری و ثبت گردید. آنالیز آماری با استفاده از آزمون‌های One-way ANOVA و Kruskal-Wallis صورت گرفت.

**یافته‌ها:** فراوانی سرفه به طور معنی‌داری در گروه کتامین (۸۱/۸ درصد) در مقایسه با گروه‌های دگزامتازون (۹۰/۹ درصد) و دارونما (۹۳/۱ درصد) کمتر بود (P = ۰/۰۳). شدت سرفه، به طور معنی‌داری در گروه کتامین (ملازم ۱۸/۲ درصد، متوسط ۷۸/۸ درصد و شدید ۳۰/۰ درصد) در مقایسه با گروه دارونما (ملازم ۹/۱ درصد، متوسط ۲۲/۷ درصد و شدید ۱۸/۲ درصد) کمتر بود (P = ۰/۰۴). همچنین، تفاوت‌های معنی‌داری بین سه گروه در تغییرات فشار خون سیستول و دیاستول و ضربان قلب وجود داشت (P < ۰/۰۵).

**نتیجه‌گیری:** تجویز دز کم کتامین، می‌تواند به طور مؤثری تعداد و شدت سرفه‌ی ناشی از فتانیل را در بیماران کاندیدای بیهوشی عمومی در حین القای بیهوشی کاهش دهد.

**واژگان کلیدی:** سرفه، بیهوشی، دگزامتازون، فتانیل، کتامین

**ارجاع:** طلاکوب ریحانک، هیرمن‌پور آناهیتا، غلامزاده طاهره، جلیلیان‌فر پریسا. بررسی تأثیر کتامین و دگزامتازون بر روی فراوانی و شدت سرفه‌ی

ناشی از فتانیل. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۸): ۱۱۰-۱۰۴

در یک مورد گزارش شده، سرفه‌ی ناشی از فتانیل در یک پسر بچه‌ی ۷ ساله، باعث Petechia اطراف اریبت شده است (۳).

در مطالعات مختلف، روش‌ها و داروهای گوناگونی جهت پیش‌گیری یا کاهش شدت سرفه در حین القای بیهوشی عمومی و یا حین خروج از بیهوشی بررسی شده است. استفاده از ماسک حلقی، خروج لوله در مراحل عمیق بیهوشی، تجویز آلفتانیل، رمی فتانیل و لیدوکائین موضعی یا داخل وریدی از این جمله هستند که هر کدام از این روش‌ها با درصدی از موفقیت همراه بوده است (۳). در اغلب موارد، این پدیده خود محدود شونده است، اما در مواردی هم

### مقدمه

سرفه از عوارض ناخواسته‌ای است که حین القای بیهوشی عمومی و نیز بعد از خروج لوله در بیمارانی که جهت عمل جراحی لوله‌گذاری شده‌اند، روی می‌دهد (۱). این رفلکس می‌تواند احساس ناخوشایند شدیدی برای بیمار ایجاد کند. این عارضه، به طور معمول گذرا و خود محدود شونده می‌باشد؛ هر چند که می‌تواند باعث آثار نامطلوب در بعضی از بیماران با بیماری‌های زمینه‌ای (آریتمی، شکستگی دنده، سردرد، آمفیوزم ریوی، باز شدن زخم‌های جراحی و افزایش فشار داخل جمجمه‌ای، داخل چشمی و یا داخل شکمی) شود (۲). حتی

۱- دانشیار، گروه بیهوشی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه بیهوشی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشجوی پزشکی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۱۰ میلی‌گرم دگزامتازون وریدی ۵ دقیقه قبل از تزریق فتانیل می‌تواند میزان بروز سرفه‌ی ناشی از فتانیل را کاهش دهد (۹). در مطالعه‌ی دیگری نیز نشان داده شد که تزریق ۱۰ میلی‌گرم دگزامتازون باعث کاهش میزان بروز و شدت سرفه‌ی ناشی از فتانیل می‌شود (۱۰). در مطالعه‌ای که بر روی تنفس آبروسل‌های کورتیکو استروئید بکلومتازون طی ۱۵ دقیقه قبل از ورود به اتاق عمل صورت گرفت، نشان داده شد که میزان سرفه‌ی ناشی از فتانیل به طور معنی‌داری کاهش یافت (۱۱).

تا زمان انجام مطالعه‌ی حاضر، تأثیر دگزامتازون در مقایسه با کتامین در کاهش سرفه‌های ناشی از فتانیل به صورت هم‌زمان مورد بررسی قرار نگرفته بود. از این رو، طی این مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی، تأثیر دگزامتازون و کتامین در کاهش سرفه‌ی ناشی از فتانیل هنگام القای بیهوشی عمومی در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان بررسی و مقایسه گردید.

### روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر به صورت کارآزمایی بالینی تصادفی دو سو کور بر روی تعداد ۹۹ بیمار کاندیدای بیهوشی عمومی با هدف بررسی تأثیر دگزامتازون و کتامین در کاهش سرفه‌ی ناشی از فتانیل هنگام القای بیهوشی عمومی در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان صورت گرفت. قبل از شروع مطالعه، تمام مراحل پژوهش و عوارض احتمالی آن برای تمامی بیماران شرکت کننده در این مطالعه توضیح داده شد و رضایت آگاهانه‌ی کتبی از آن‌ها دریافت گردید. مطالعه‌ی حاضر در کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب شد. نمونه‌گیری برای این مطالعه به صورت بلوکی صورت گرفت و بیماران در سه گروه دریافت کننده‌ی کتامین، دگزامتازون و دارونما قرار گرفتند.

معیارهای ورود به مطالعه، شامل درجه‌ی I و II (American Society of Anesthesiologists (ASA) با محدودی سنی ۶۵-۱۸ سال و کاندیدای عمل جراحی انتخابی تحت بیهوشی عمومی با استفاده از فتانیل بودند. معیارهای عدم ورود شامل ابتلا به آسم، سرفه‌ی مزمن، سابقه‌ی عفونت دستگاه تنفسی فوقانی در کمتر از دو هفته‌ی اخیر، سابقه‌ی بیماری کبدی و کلیوی، درمان با داروهای مهار کننده‌ی آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین طی دو هفته‌ی اخیر، درمان با برونکودیلاتور و استروئید، مصرف ضد افسردگی در دو هفته‌ی اخیر می‌باشد. معیارهای خروج از مطالعه شامل عدم تکمیل اطلاعات تا پایان جراحی به هر دلیلی و تغییر در تکنیک عمل و بیهوشی می‌باشند.

در گروه کتامین، بیماران ۵ سی‌سی نرمال‌سالین، ۵ دقیقه قبل از

می‌تواند منجر به عوارض جدی همانند آسپیراسیون ریوی، ادم ریه، آریتمی و یا ایست قلبی شود (۴). بنابراین، پیش‌گیری از سرفه‌ی ناشی از فتانیل ضروری می‌باشد.

فتانیل، یک مخدر سنتتیک است که به طور گسترده به عنوان پیش‌دارو برای کم کردن اضطراب و کاهش درد ناشی از عمل جراحی طی القای بیهوشی عمومی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). فتانیل، به عنوان یک داروی مورد استفاده در بیهوشی دارای خصوصیتی نظیر اثر سریع، مدت اثر کوتاه، بی‌دردی شدید، پایداری قلبی-عروقی و آزادسازی اندک هیستامین می‌باشد. فتانیل، می‌تواند بدون سرکوب قلبی-عروقی و بدون ترشح هیستامین، سبب کاهش سریعی در پاسخ‌های بدن به استرس‌های القای بیهوشی عمومی گردد و همچنین، بی‌دردی مؤثری را در برش جراحی ایجاد کند. این ویژگی‌ها، موجب استفاده‌ی روزافزون از آن گردیده است. سرفه‌ی واکنشی، پس از تزریق بولوس وریدی فتانیل در مطالعات گوناگون با شیوعی بین ۸۰-۱۸ درصد گزارش شده است (۶).

مکانیسم دقیق ایجاد سرفه‌ی ناشی از فتانیل به طور کامل شناخته نشده است، اما مکانیسم‌های متعددی نظیر مهار مرکزی سمپاتیک و به دنبال آن، غالب شدن واگ، فعال‌سازی C-fiber، تغییر شکل دیواره‌ی مجاری تنفسی که منجر به تحریک گیرنده‌ها و به دنبال آن انقباض رفلکسی برونش‌ها و ایجاد سرفه می‌شود، مطرح شده است (۶).

تاکنون مداخلات دارویی زیادی برای کاهش بروز سرفه‌ی ناشی از فتانیل صورت گرفته است که با توجه به شناخته شدن آمینو اسیدهای تحریکی و آنتاگونیست‌های گیرنده‌ی N-متیل-D-آسپاراتات به عنوان تنظیم کننده‌های رفلکس سرفه در این مطالعات از دارویی‌هایی همچون آنتاگونیست گیرنده‌ی N-متیل-D-آسپاراتات، بنزودیازپین‌ها، پروپوفول، آلفا-۲ آگونیست، آتروپین، سالیوتامول، بتا-۲ آدرنرژیک، برونکودیلاتور، بکلومتازون و سدیم کروموجلکات استفاده شده است (۳).

کتامین وریدی نیز یک آنتاگونیست گیرنده‌ی N-متیل-D-آسپاراتات است که به واسطه‌ی اثرات ضد درد و برونکودیلاتاسیونی خود شناخته می‌شود (۷). همچنین، کتامین به واسطه‌ی اثراتی که بر روی سیستم سمپاتیک گشاد کننده‌ی تراشه دارد، به عنوان یک بیهوش کننده‌ی وریدی برای بیماران مبتلا به آسم که نیازمند ایستوبه شدن برای بهبود علایم آسم نظیر تنگی نفس و سرفه دارند، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸).

در این زمینه، کورتیکو استروئیدها نیز به علت مهار تحریک پذیری مجاری هوایی، کاهش ادم مخاطی و پاسخ‌های التهابی راه هوایی برای کاهش سرفه‌ی ناشی از بیهوشی توسط فتانیل مورد استفاده قرار می‌گیرند. Lin و همکاران، نشان داده‌اند که تزریق

استفاده گردید. توزیع و ارتباط بین متغیرهای کیفی با استفاده از آزمون  $\chi^2$  مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار و تعداد (درصد) بیان شد و  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

در این مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تعداد ۹۹ بیمار کاندیدای بیهوشی عمومی با فتانیل وارد مطالعه و به سه گروه تقسیم شدند. میانگین سنی گروه دریافت‌کننده‌ی کتابمین  $12/80 \pm 43/21$ ، در گروه دریافت‌کننده‌ی دگزامتازون  $12/74 \pm 40/27$  و در گروه دریافت‌کننده‌ی دارونما  $11/63 \pm 41/81$  سال می‌باشد. تفاوت معنی‌داری بین سه گروه از نظر سن وجود ندارد ( $P = 0/63$ ). در گروه دریافت‌کننده‌ی کتابمین ۵۴/۵ درصد بیماران را مردان تشکیل می‌دهد و این میزان در گروه دریافت‌کننده‌ی دگزامتازون ۶۳/۶ درصد و در گروه دریافت‌کننده‌ی دارونما ۶۰/۶ درصد می‌باشد که تفاوت معنی‌داری را از نظر جنسیت بین سه گروه نشان نمی‌دهد ( $P = 0/61$ ). از آن جایی که بیماران شرکت‌کننده در این مطالعه به خوبی از نظر سن و جنس همسان‌سازی شده بودند، تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها از نظر متغیرهای دموگرافیک تأثیرگذار بر روی نتایج اصلی مطالعه وجود نداشت. سایر اطلاعات دموگرافیک و بالینی بیماران شرکت‌کننده در هر سه گروه در جدول ۱ آمده است.

از نظر تعداد سرفه در گروه دریافت‌کننده‌ی کتابمین ۱۸/۲ درصد بیماران بدون سرفه و ۵۱/۵ درصد بیماران سرفه‌ی ملایم و ۳۰/۳ درصد بیماران سرفه‌ی متوسط داشتند و در گروه دریافت‌کننده‌ی دگزامتازون، ۹/۱ درصد از بیماران بدون سرفه، ۶۶/۷ درصد بیماران سرفه‌ی ملایم و ۲۴/۲ درصد از بیماران سرفه‌ی متوسط داشتند و در گروه دریافت‌کننده‌ی دارونما ۶/۱ درصد بیماران بدون سرفه، ۴۵/۵ درصد از بیماران سرفه‌ی ملایم، ۴۵/۵ درصد از بیماران سرفه‌ی متوسط و ۳/۰ درصد از بیماران سرفه‌ی شدید داشتند. تفاوت معنی‌داری از جهت تعداد سرفه بین سه گروه شرکت‌کننده در مطالعه مشاهده شد ( $P = 0/03$ ). از نظر شدت سرفه در گروه دریافت‌کننده‌ی کتابمین ۱۸/۲ درصد از بیماران سرفه با درجه‌ی صفر، ۷۸/۸ درصد از بیماران سرفه با درجه‌ی ۱ و ۳/۰ درصد از بیماران سرفه با درجه‌ی ۲ و در گروه دریافت‌کننده‌ی دگزامتازون ۱۲/۱ درصد از بیماران سرفه با درجه‌ی صفر، ۷۸/۸ درصد از بیماران سرفه با درجه‌ی ۱ و ۹/۱ درصد از بیماران سرفه با درجه‌ی ۲ داشتند و در گروه دریافت‌کننده‌ی دارونما ۹/۱ درصد از بیماران سرفه با درجه‌ی صفر، ۷۲/۷ درصد از بیماران سرفه با درجه‌ی ۱ و ۱۸/۲ درصد از بیماران سرفه با درجه‌ی ۲ داشتند. تفاوت معنی‌داری بین سه گروه از نظر شدت سرفه وجود داشت ( $P = 0/04$ ).

تزریق فتانیل و ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم کتابمین در ۵ سی‌سی نرمال‌سالین یک دقیقه قبل از تزریق فتانیل دریافت کردند. در گروه دگزامتازون، بیماران ۰/۱ میلی‌گرم/کیلوگرم دگزامتازون در ۵ سی‌سی نرمال‌سالین، ۵ دقیقه قبل از تزریق فتانیل و ۵ سی‌سی نرمال‌سالین ۱ دقیقه قبل از تزریق فتانیل دریافت کردند. در گروه دریافت‌کننده‌ی دارونما نیز بیماران ۵ سی‌سی نرمال‌سالین، ۵ دقیقه قبل از تزریق فتانیل و ۵ سی‌سی نرمال‌سالین ۱ دقیقه قبل از تزریق فتانیل دریافت کردند. در کلیه‌ی بیماران شرکت‌کننده در این مطالعه، فتانیل با دز ۲/۵ میکروگرم/کیلوگرم به صورت وریدی، ۵ دقیقه بعد از تزریق نرمال‌سالین و در طول مدت بیش از ۲ ثانیه تزریق گردید. کلیه‌ی بیماران به صورت مداوم با الکتروکاردیوگرام، پالس‌اکسی‌متری و اندازه‌گیری فشار خون تحت مراقبت و پایش قرار گرفتند. پژوهشگری که از تزریق نوع داروهای بی‌اطلاع بود، تعداد و شدت سرفه‌ها را در تنها یک بار دو دقیقه بعد از تزریق فتانیل بر اساس طبقه‌بندی‌های زیر ثبت می‌نماید.

تعداد سرفه‌ها بر اساس بدون سرفه (۰)، ملایم (۱-۲)، متوسط (۳-۴) و شدید (۵) تقسیم‌بندی شد. شدت سرفه‌ها بر اساس درجه‌ی (Grade) صفر (بدون سرفه)، درجه‌ی ۱ (سرفه‌ی کمتر از ۳ ثانیه) و درجه‌ی ۲ (سرفه‌ی بیشتر از ۳ ثانیه) تقسیم‌بندی شد. ضربان قلب، فشار خون سیستول و دیاستول و درصد اشباع اکسیژن خون شریانی قبل از تزریق هر گونه دارو و دو دقیقه بعد از تزریق فتانیل، اندازه‌گیری و ثبت گردید. تمام بیماران در طول مطالعه، اکسیژن از طریق ماسک صورت دریافت کردند. همچنین، عوارض جانبی ناشی از تزریق فتانیل، کتابمین، دگزامتازون مانند آبنه، تهوع، استفراغ، رژیدیتی (Rigidity) عضلات قفسه‌ی صدری، افت فشار خون، دپرسیون (Depression) تنفسی، بی‌قراری، درد محل تزریق، برادری‌کاردی و تغییرات سطح هوشیاری قبل از القای بیهوشی عمومی ثبت گردید. بیماران به صورت تصادفی در گروه‌ها قرار گرفتند. بیماران و پژوهشگران از نوع مداخله‌ی دریافتی برای هر فرد آگاهی نداشتند و از این رو، مطالعه به صورت دو سوکور صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) صورت گرفت. با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov، توزیع طبیعی داده‌ها بررسی شد و بر حسب آن، از آزمون‌های پارامتریک و یا غیر پارامتریک برای واکاوی داده‌های کمی استفاده می‌شود. به منظور مقایسه‌ی بین هر کدام از متغیرهای کمی بین سه گروه مورد مطالعه از آزمون‌های One-way ANOVA و Kruskal-Wallis استفاده گردید. به منظور مقایسه‌ی میانگین‌ها بین هر دو گروه شرکت‌کننده در این مطالعه، آزمون‌های Independent t و Mann-Whitney

جدول ۱. تأثیر کتامین، دگزامتازون و دارونما بر روی عوامل همودینامیک و بالینی بیماران شرکت کننده در مطالعه ( $n = 33$  در هر سه گروه).

مقدار P	گروه دارونما	گروه دگزامتازون	گروه کتامین	متغیرهای همودینامیک و بیهوشی
۰/۶۳	۴۱/۸۱ ± ۱۱/۶۳	۴۰/۲۷ ± ۱۲/۷۴	۴۳/۱۲ ± ۱۲/۸۰	سن (سال) (میانگین ± انحراف معیار)
۰/۶۱	۲۰ (۶۰/۶)	۲۱ (۶۳/۶)	۱۸ (۵۴/۵)	جنس [تعداد (درصد)]
۰/۱۵	۱۳ (۳۹/۴)	۱۲ (۳۶/۴)	۱۵ (۴۵/۵)	مؤنث
۰/۷۱	۱۷۳/۱۸ ± ۷/۳۴	۱۷۱/۳۳ ± ۷/۸۵	۱۶۹/۶۰ ± ۷/۰۵	قد (سانتی‌متر) (میانگین ± انحراف معیار)
۰/۳۲	۷۴/۴۲ ± ۱۱/۳۸	۷۳/۳۹ ± ۹/۱۱	۷۲/۴۸ ± ۸/۲۲	وزن (کیلوگرم) (میانگین ± انحراف معیار)
	۱۷/۱۶	۱۴/۱۹	۱۳/۲۰	ASA (درجات ۱ و ۲)
۰/۰۳	۲ (۶/۱)	۳ (۹/۱)	۶ (۱۸/۲)	تعداد سرفه [تعداد (درصد)]
	۱۵ (۴۵/۵)	۲۲ (۶۶/۷)	۱۷ (۵۱/۵)	بدون سرفه
	۱۵ (۴۵/۵)	۸ (۲۴/۲)	۱۰ (۳۰/۳)	ملایم
	۱ (۳/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	متوسط
	۳ (۹/۱)	۴ (۱۲/۱)	۶ (۱۸/۲)	شدید
۰/۰۴	۲۴ (۷۲/۷)	۲۶ (۷۸/۸)	۲۶ (۷۸/۸)	شدت سرفه [تعداد (درصد)]
	۶ (۱۸/۲)	۳ (۹/۱)	۱ (۳/۰)	درجه‌ی ۱
				درجه‌ی ۲
< ۰/۰۱	-۴/۱۲ ± ۹/۵۰	-۷/۲۱ ± ۶/۶۶	۴/۰۳ ± ۷/۶۴	تغییرات فشار خون سیستول (میلی‌متر جیوه)
				(میانگین ± انحراف معیار)
< ۰/۰۱	-۳/۸۷ ± ۷/۸۹	-۴/۸۷ ± ۸/۵۳	۲/۷۵ ± ۵/۴۳	تغییرات فشار خون دیاستول (میلی‌متر جیوه)
				(میانگین ± انحراف معیار)
۰/۱۷	-۰/۴۵ ± ۵/۴۵	۰/۶۹ ± ۲/۶۹	-۲/۱۸ ± ۱۶/۹۱	تغییرات درصد اشباع اکسیژن (درصد)
				(میانگین ± انحراف معیار)
< ۰/۰۱	-۴/۸۴ ± ۶/۶۹	-۹/۷۵ ± ۱۴/۷۳	۰/۱۵ ± ۴/۶۹	تغییرات تعداد ضربان قلب (bpm)
				(میانگین ± انحراف معیار)

ASA: American Society of Anesthesiologists

صورت گرفت. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از کتامین در مقایسه با دگزامتازون و دارونما تأثیر بیشتری در کاهش تعداد و شدت سرفه‌ها پس از القای بیهوشی توسط فتانیل دارد. همچنین، میزان تغییرات فشار خون سیستول و دیاستول و تعداد ضربان قلب در گروه دریافت کننده‌ی کتامین بیش از گروه دریافت کننده‌ی دگزامتازون و گروه دریافت کننده‌ی دارونما بود. مکانیسم‌های سرفه‌ی ناشی از فتانیل به خوبی شناخته نشده است، اما نظریه‌های متعددی در این زمینه مطرح شده‌اند، از جمله این که فتانیل با مهار سمپاتیک موجب بروز اثرات واگ و به دنبال آن تنگ شدن برونش‌ها و سرفه می‌شود. کاهش سرفه‌ی ناشی از فتانیل پس از تجویز داروهای برونکودیلاتور از این نظریه که فتانیل از طریق تنگ کردن برونش‌ها موجب سرفه می‌شود، حمایت می‌کند (۵). به علاوه، آزاد شدن مواد شبه هیستامینی و نوروپپتیدهای ناشی از تجویز وریدی فتانیل و رژییدی عضلانی که منجر به بسته شدن ناگهانی تارهای صوتی یا انسداد سوپراگلوتیک می‌شود نیز نظریه‌های احتمالی در بروز سرفه‌ی ناشی از فتانیل هستند (۱۲).

در مطالعه‌ی Yeh و همکاران، تعداد ۳۶۰ بیمار کاندیدای بیهوشی عمومی به کمک فتانیل مورد بررسی قرار گرفتند (۱۳). در این مطالعه، بیماران به صورت تصادفی به دو گروه دریافت کننده‌ی

تغییرات فشار خون سیستول، فشار خون دیاستول و ضربان قلب به طور معنی‌داری در گروه دگزامتازون بیشتر از دو گروه دیگر و در گروه کتامین بیشتر از گروه دارونما بود ( $P < 0/01$ ). با این وجود، تفاوت معنی‌داری بین سه گروه از نظر میانگین تغییرات درصد اشباع اکسیژن بین سه گروه یافت نشد ( $P = 0/17$ ).

در خصوص عوارض مشاهده شده حین استفاده از داروهای مورد مطالعه، فراوانی عوارض افت سطح هوشیاری، درد پس از تزریق، برادری‌کاردی و رژییدی عضلات تنفسی تفاوت معنی‌داری بین سه گروه یافت شد ( $P < 0/05$ ). رژییدی عضلات تنفسی، افت سطح هوشیاری و برادری‌کاردی در گروه دریافت کننده‌ی دگزامتازون بیش از دو گروه دیگر بود و عارضه‌ی درد تزریق در گروه دریافت کننده‌ی کتامین بیش از دو گروه دیگر بود ( $P < 0/05$ ). با این وجود، تفاوت معنی‌داری بین سه گروه از نظر فراوانی دپرسیون تنفسی، بی‌قراری، کاهش سطح فشار خون، تهوع و استفراغ یافت نشد ( $P > 0/05$ ).

## بحث

مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی تأثیر دگزامتازون و کتامین در کاهش سرفه‌ی ناشی از فتانیل هنگام القای بیهوشی عمومی بر روی ۹۹ بیمار

تحریکی اطراف آن و در نهایت، باعث رفلکس سرفه از طریق راه‌های اوران واگ می‌گردد، به نظر می‌رسد کورتیکو استروئیدهایی نظیر دگزامتازون با مکانیسم کاهش تحریک پذیری برونکیال و ادم مخاطی، باعث کاهش بروز سرفه شوند (۱۰). همچنین، نتایج مطالعه نشان می‌دهد که عوارضی همچون درد پس از تزریق، ریژیدیتی عضلات تنفسی، افت سطح هوشیاری و برادی‌کاردی در گروه دریافت‌کننده‌ی کتامین به طور معنی‌داری بیشتر از دو گروه دیگر بود.

از جمله محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر، می‌توان به حجم پایین نمونه‌ی مورد بررسی در هر گروه، عدم بررسی تأثیر هم‌زمان استفاده از دگزامتازون و کتامین تحت گروه جداگانه‌ای از مطالعه، عدم بررسی سطح خونی لازم و نیز زمان و سرعت مناسب تزریق کتامین جهت رسیدن به بیشترین میزان کارایی جهت مطالعه‌ی کاهش سرفه در بیماران تحت بیهوشی عمومی با استفاده از فتانیل اشاره کرد. از این رو، مطالعات دیگری با حجم نمونه‌ی بیشتر و بررسی دزهای متفاوت در تزریق کتامین و مقایسه‌ی آن با سایر داروهای مؤثر در این زمینه پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری نهایی این که استفاده از کتامین در مقایسه با دگزامتازون و دارونما باعث کاهش چشم‌گیر در تعداد و شدت سرفه و همچنین، بهبود همودینامیک ناشی از فتانیل حین بیهوشی عمومی می‌گردد. کتامین در مقایسه با دگزامتازون و دارونما باعث کاهش معنی‌داری در تعداد و شدت سرفه‌ی ناشی از فتانیل حین بیهوشی عمومی می‌گردد. با این وجود، استفاده از کتامین با تغییرات همودینامیک و نیز عوارض بسیاری در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی دگزامتازون و دارونما همراه می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دکتری حرفه‌ای پزشکی عمومی با کد ۳۹۵۶۰۷ می‌باشد. منابع مالی طرح حاضر توسط دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین گردید. همچنین، محققین بر خود لازم می‌دانند که از همکاری‌های ارزشمند جناب آقای دکتر مهرداد فرخی در تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها تشکر و قدردانی نمایند.

کتامین و دارونما تقسیم شدند. اگر چه در این مطالعه، تأثیر کتامین با دگزامتازون مورد مقایسه قرار نگرفت، اما مشابه مطالعه‌ی حاضر، یافته‌های مطالعه‌ی آن‌ها نشان می‌دهد که میزان بروز و شدت سرفه در گروه دریافت‌کننده‌ی کتامین (۷/۲ درصد) بیشتر از گروه دریافت‌کننده‌ی دارونما می‌باشد. تفاوت قابل ملاحظه بین میزان بروز سرفه در گروه کتامین در این مطالعه (۷/۲ درصد) و مطالعه‌ی حاضر (۸۱/۸ درصد) می‌تواند به علت تفاوت در حجم نمونه‌ها، دز فتانیل و یا سرعت تزریق فتانیل باشد.

در مطالعه‌ی مشابه دیگری که توسط Guler و همکاران صورت گرفت، تعداد ۳۶۸ بیمار کاندیدای عمل جراحی انتخابی تحت بیهوشی عمومی توسط فتانیل به سه گروه دریافت‌کننده‌ی دارونما، گروه دریافت‌کننده‌ی کتامین و گروه دریافت‌کننده‌ی لیدوکائین تقسیم شدند (۱۴). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که کتامین، به طور مؤثری باعث کاهش تعداد و شدت سرفه نسبت به گروه دارونما می‌شود. همچنین، نتایج مطالعه‌ی آن‌ها نشان می‌دهد که این اثرات ضد سرفه در گروه دریافت‌کننده‌ی کتامین از گروه دریافت‌کننده‌ی لیدوکائین نیز به طور معنی‌داری بیشتر می‌باشد.

در مطالعه‌ی Saleh و همکاران بر روی ۴۰۰ بیمار کاندیدای بیهوشی عمومی، بیماران به چهار گروه دریافت‌کننده‌ی کتامین، گروه دکسمتومیدین، گروه کتامین + دکسمتومیدین و گروه دارونما تقسیم شدند (۱۵). نتایج این مطالعه نیز مشابه با مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که کتامین می‌تواند به طور مؤثری باعث کاهش میزان بروز و شدت سرفه‌ی ناشی از فتانیل در بیماران کاندیدای بیهوشی عمومی شود. همچنین، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تأثیر کتامین به همراه دکسمتومیدین به طور هم‌زمان اثرات ضد سرفه‌ی بیشتری نسبت به استفاده‌ی هر کدام به تنهایی دارد. این در حالی است که در مطالعه‌ی حاضر، نتایج استفاده‌ی هم‌زمان کتامین و دگزامتازون مورد بررسی قرار نگرفت که ممکن بود نتایج مشابه را نشان دهد. از آن جایی که فتانیل باعث انقباض عضلات صاف تراکتال و در نتیجه تغییر شکل دیواره‌ی تراکتوبرونکیال و به دنبال آن تحریک‌گیرنده‌ی

### References

- Shuying L, Ping L, Juan N, Dong L. Different interventions in preventing opioid-induced cough: A meta-analysis. *J Clin Anesth* 2016; 34: 440-7.
- Wang K, Milojevic N, Sheinman B, Usmani OS. Cough management in primary, secondary and tertiary settings. *Pulm Pharmacol Ther* 2017; 47: 93-8.
- Kim JE, Min SK, Chae YJ, Lee YJ, Moon BK, Kim JY. Pharmacological and nonpharmacological prevention of fentanyl-induced cough: A meta-analysis. *J Anesth* 2014; 28(2): 257-66.
- Song WJ, Morice AH. Cough hypersensitivity syndrome: A few more steps forward. *Allergy Asthma Immunol Res* 2017; 9(5): 394-402.
- El Baissari MC, Taha SK, Siddik-Sayyid SM. Fentanyl-induced cough--pathophysiology and prevention. *Middle East J Anaesthesiol* 2014; 22(5): 449-56.
- Du BX, Cao L, Zhao WL, Xu ZH, Song J, Shi XY. Pre-emptive small dose of fentanyl suppresses fentanyl-induced cough: a meta-analysis of

- randomized controlled trials. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7(4): 826-36.
7. Rajan S, Malayil GJ, Varghese R, Kumar L. Comparison of usefulness of ketamine and magnesium sulfate nebulizations for attenuating postoperative sore throat, hoarseness of voice, and cough. *Anesth Essays Res* 2017; 11(2): 287-93.
  8. Hendaus MA, Jomha FA, Alhammadi AH. Is ketamine a lifesaving agent in childhood acute severe asthma? *Ther Clin Risk Manag* 2016; 12: 273-9.
  9. Lin JA, Chen FC, Lee MS, Horng HC, Cherng CH, Yeh CC, et al. Intravenous dexamethasone pretreatment reduces fentanyl-induced cough. *J Formos Med Assoc* 2007; 106(8): 649-55.
  10. Yu MS, Kim JY, Kim HY. Intravenous dexamethasone pretreatment reduces remifentanyl induced cough. *Korean J Anesthesiol* 2011; 60(6): 403-7.
  11. Agarwal A, Azim A, Ambesh S, Bose N, Dhiraj S, Sahu D, et al. Salbutamol, beclomethasone or sodium chromoglycate suppress coughing induced by iv fentanyl. *Can J Anaesth* 2003; 50(3): 297-300.
  12. Stanley TH. The fentanyl story. *J Pain* 2014; 15(12): 1215-26.
  13. Yeh CC, Wu CT, Huh BK, Lee MS, Lin SL, Sheen J, et al. Premedication with intravenous low-dose ketamine suppresses fentanyl-induced cough. *J Clin Anesth* 2007; 19(1): 53-6.
  14. Guler G, Aksu R, Bicer C, Tosun Z, Boyaci A. Comparison of the effects of ketamine or lidocaine on fentanyl-induced cough in patients undergoing surgery: A prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Curr Ther Res Clin Exp* 2010; 71(5): 289-97.
  15. Saleh AJ, Zhang L, Hadi SM, Ouyang W. A priming dose of intravenous ketamine-dexmedetomidine suppresses fentanyl-induced coughing: a double-blind, randomized, controlled study. *Ups J Med Sci* 2014; 119(4): 333-7.

## The Effect of Ketamine and Dexamethasone on Frequency and Intensity of Fentanyl-Induced Cough

Reihanak Talakoub<sup>1</sup>, Anahita Hirmanpour<sup>2</sup>, Tahereh Gholamzadeh<sup>3</sup>, Parisa Jalilianfar<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Intravenous (IV) administration of fentanyl during induction of general anesthesia often elicits cough, with frequency of 18% to 80%. Therefore, in this study, we aimed to compare the effects of ketamine and dexamethasone on decreasing cough in patients undergoing general anesthesia with fentanyl.

**Methods:** During a double-blind randomized clinical trial study, 99 patients aged 18-64 years with class I and II based on the scale of American Society of Anesthesiologists (ASA) who were undergoing general anesthesia with fentanyl were investigated. Patients were randomly divided equally into 3 groups receiving ketamine (0.5 mg/kg), dexamethasone (0.1 mg/kg), and placebo (5 ml normal saline). All drugs were administered 1 minute before administration of 2.5 µg/kg fentanyl. Vital signs, and frequency and intensity of cough were measured and recorded. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA and Kruskal-Wallis tests.

**Findings:** The frequency of cough was significantly lower in the ketamine group (81.8%) compared with dexamethasone (90.9%) and placebo (93.1%) groups ( $P = 0.03$ ). The intensity of cough was significantly lower in the ketamine group (mild: 18.2%; moderate: 78.8%; severe: 3.0%) compared with placebo group (mild: 9.1%, moderate: 72.7%; severe: 18.2%) ( $P = 0.04$ ). Furthermore, there were significant differences between the three groups in variations of systolic blood pressure, diastolic blood pressure, and heart rate ( $P < 0.05$  for all).

**Conclusion:** Administration of low-dose ketamine can effectively reduce frequency and intensity of fentanyl-induced cough during anesthesia in patients undergoing general anesthesia.

**Keywords:** Cough, Anesthesia, Dexamethasone, Fentanyl, Ketamine

**Citation:** Talakoub R, Hirmanpour A, Gholamzadeh T, Jalilianfar P. **The Effect of Ketamine and Dexamethasone on Frequency and Intensity of Fentanyl-Induced Cough.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(468): 104-10.

1- Associate Professor, Department of Anesthesiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Anesthesiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Student of Medicine, Student Research Committee, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Tahereh Gholamzadeh, Email: ensieh.gholamzadeh@gmail.com

## بررسی اثربخشی نرم‌افزار واقعیت مجازی بر بهبود فویبای خون - تزریق در کودکان و نوجوانان

مصطفی نجفی<sup>۱</sup>، سید احمدرضا رضیان<sup>۲</sup>، حسین گراوند<sup>۳</sup>، شهلا آکوچکیان<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** فویبای خون-تزریق یک اختلال مزمن و ناتوان کننده در کودکان و نوجوانان می‌باشد که می‌تواند با اجتناب اضطرابی از تعداد زیادی از درمان‌های ضروری ارتباط داشته باشد. اگر چه تعدادی درمان پیشنهاد شده‌ی جاری برای فویبای خون-تزریق وجود دارد، اما شواهد اندکی در مورد درمان واقعیت مجازی وجود دارد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثر درمان به روش واقعیت مجازی بر روی فویبای خون-تزریق کودکان و نوجوانان انجام شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه‌ی نیمه‌تجربی، ۳۱ کودک و نوجوان ۶-۱۸ ساله با تشخیص فویبای خون-تزریق مورد بررسی قرار گرفتند. تمام کودکان ۱۲ جلسه کار کردن با نرم‌افزار واقعیت مجازی را دریافت کردند. میزان اضطراب کودکان با استفاده از پرسش‌نامه‌های Spielberg و علائم اختصاصی فویبای خون-تزریق مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

**یافته‌ها:** بعد از کار کردن با نرم‌افزار، میانگین امتیاز اضطراب موقعیتی، ذاتی و موقعیتی-ذاتی و نیز فویبای خون-تزریق در کودکان به طور معنی‌داری پایین‌تر از میزان آن‌ها قبل از کار کردن با نرم‌افزار بود ( $P < 0/050$ ). ارتباط مستقیم و معنی‌داری بین سن و میزان کاهش اضطراب موقعیتی-ذاتی وجود داشت ( $r = +0/60$  و  $P < 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** درمان واقعیت مجازی، می‌تواند به طور مؤثری اضطراب موقعیتی، ذاتی و موقعیتی-ذاتی و نیز فویبای خون-تزریق را در کودکان و نوجوانان کاهش دهد. با این وجود، مطالعات بیشتری برای تعیین بهترین نسخه‌ی نرم‌افزار واقعیت مجازی برای فویبای خون-تزریق لازم است.

**واژگان کلیدی:** نوجوان، خون، کودک، تزریق، فویبا، واقعیت مجازی

**ارجاع:** نجفی مصطفی، رضیان سید احمدرضا، گراوند حسین، آکوچکیان شهلا. بررسی اثربخشی نرم‌افزار واقعیت مجازی بر بهبود فویبای خون-

تزریق در کودکان و نوجوانان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۸): ۱۱۷-۱۱۱

گرفته شده است، اما یافته‌های مطالعات اخیر نشان می‌دهند که ترس و سایر احساسات در ایجاد فویبای خاص یا سایر اختلالات اضطرابی نقش دارد. فویبای خاص، به چهار دسته‌ی حیوان، محیط زیست طبیعی، وضعیتی و خون-تزریق تقسیم‌بندی می‌شوند (۲).

فویبای خون-تزریق، یک فویبای خاص شایع می‌باشد که شیوع آن حدود ۳/۵ درصد در بین زنان و مردان می‌باشد و بر خلاف سایر فویباها، ۷۵ درصد افراد مبتلا به آن سابقه‌ی سنکوپ در پاسخ محرک ترس را گزارش می‌کنند (۳). اگر چه فویبای خون-تزریق به عنوان یک فویبای خاص شناخته می‌شود، اما در واقع یک نوع ترس غیر

### مقدمه

فویبای خاص با میزان بروز ۱۹/۵-۱۲/۵ درصد، یکی از شایع‌ترین اختلالات اضطرابی می‌باشند و با تجربه‌ی شدید، غیر معقول و ترس دایمی در پاسخ به حضور اشیا یا شرایط خاص و یا انتظار فرد از مقابله با چنین اشیا یا شرایطی تعریف می‌شود (۱). اگر چه فویبای خاص در بین شایع‌ترین اختلالات اضطرابی شناخته می‌شوند، اما همچنان در مورد احساسات پایه‌ای که منجر به این فویباها می‌شوند، اختلافات بسیاری وجود دارد. اگر چه در ادبیات معاصر، ترس و اضطراب به عنوان احساسات پایه در اختلالات اضطرابی در نظر

۱- دانشیار، گروه روان‌پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- گروه کامپیوتر، دانشکده‌ی مهندسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشجوی پزشکی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشیار، گروه روان‌پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

یکی از درمان‌هایی که در طی سال‌های اخیر به طور رو به افزایشی در بیماران مبتلا به فوبیای خاص مورد بررسی قرار گرفته است، واقعیت مجازی می‌باشد. در واقعیت مجازی، برنامه‌ی کامپیوتری محیط مجازی تحریک‌کننده‌ی وضعیت فوبیا را با ادغام گرافیک‌ها، نمایش‌های بصری، بازی‌های گرافیکی، دستگاه‌های ردیابی بدن و سایر دستگاه‌های ورودی حسی تولید می‌کند (۸). پژوهش‌های اولیه شامل گزارش‌های موردی و مطالعات کوچک بر روی درمان‌های واقعیت مجازی نتایج امیدبخشی را نشان داد که منجر به انجام مطالعات مداخله‌ای بزرگ‌تری در این زمینه شد که نتایج آن‌ها نیز کارایی بیشتر این درمان‌ها را در مقایسه با گروه‌های شاهد نشان داد (۹). با این وجود، تا زمان اجرای این مطالعه، پژوهشی به منظور بررسی کارایی درمان واقعیت مجازی بر روی فوبیای خون- تزریق صورت نگرفته بود. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف طراحی و بررسی اثربخشی نرم‌افزار واقعیت مجازی بر بهبودی فوبیای خون- تزریق در کودکان و نوجوانان انجام شد.

### روش‌ها

در این مطالعه‌ی نیمه‌تجربی، ۳۱ کودک و نوجوان ۱۸-۶ ساله‌ی مبتلا به فوبیای خون- تزریق وارد مطالعه شدند. برای این منظور، کودکانی که سابقه‌ی ترس از خون و یا تزریق داشتند بر اساس معیارهای تشخیصی توسط روان‌پزشک فوق تخصص کودک و نوجوان بررسی گردیدند و در صورت تأیید تشخیص فوبیای خون- تزریق مورد بررسی بیشتر جهت ورود به مطالعه قرار گرفتند.

معیارهای ورود به مطالعه شامل سن ۱۸-۶ سال و تشخیص فوبیای خون- تزریق بر اساس معیارهای تشخیصی آن Diagnostic and statistical manual of mental disorders-5 (DSM-5) می‌باشد. معیارهای عدم ورود به مطالعه شامل بارداری، درمان دارویی یا روان‌پزشکی جاری یا طی ۳ ماه قبل از شروع مطالعه، بیماری‌های قلبی- عروقی یا عصبی، اختلال بینایی استرئوسکوپیک، اختلال شنوایی شدید، اختلالات روان‌پزشکی شدید و یا تمایل شدید به خودکشی بودند. معیارهای خروج از مطالعه شامل عدم رضایت به ادامه‌ی مطالعه، عدم توانایی بیمار در استفاده از نرم‌افزار و یا تکمیل پرسش‌نامه‌های مورد استفاده و نیاز به درمان دارویی و یا مداخله‌ی روان‌پزشکی اورژانسی در حین مطالعه بود. تمام مراحل مطالعه و نیز عوارض احتمالی آن برای بیماران و نیز همراهان آن‌ها توضیح داده شد و سپس، رضایت‌نامه‌ی کتبی آگاهانه از تمامی آن‌ها کسب گردید. شیوه‌نامه‌ی مطالعه در کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب گردید.

پس از بررسی بیماران از جهت معیارهای ورود به مطالعه،

معمول می‌باشد که با واکنش‌های متفاوت شناختی، فیزیولوژیک و حرکتی همراه می‌باشد. برخلاف سایر فوبیایها، فعالیت سیستم عصبی اتونومیک دی‌فازیک شامل فعال شدن سیستم‌های عصبی سمپاتیک و پاراسمپاتیک در شروع مواجهه با فوبیای خون- تزریق رخ می‌دهد. پاسخ سنکوپ در این افراد با مسیر عصب واگ که خود از دو بخش تشکیل شده است، به وجود می‌آید (۴). سنکوپ در پاسخ به فوبیای خون- تزریق، یک عامل اصلی نگرانی برای تعداد زیادی از بیمارانی است که از فوبیای خون رنج می‌برند و می‌تواند باعث تشدید پرهیز و ترس این افراد از برخورد با خون شود. پرهیز از وضعیت‌هایی که با خون، آسیب و تزریق ارتباط دارند، باعث افزایش تهدید سلامت فرد به دلیل ترس فرد از مراقبت بهداشتی و درمان‌های حیاتی برای وی می‌شود (۵).

یکی از گروه‌های سنی که فوبیای خون- تزریق در آن‌ها در مطالعات گوناگون گزارش شده است، کودکان و نوجوانان می‌باشند. این گروه سنی مبتلا به فوبیای خون- تزریق، ممکن است از بیمارستان و مراکز درمانی، افراد بیمار و حتی مشاهده‌ی برنامه‌های پزشکی نیز خودداری کنند. کودکان مبتلا به بیماری‌های نیازمند دریافت فرم‌های تزریقی داروها، کودکان مبتلا به دیابت نیازمند دریافت تزریق انسولین و مواردی که نیازمند دریافت درمان‌های حفظ‌کننده‌ی حیات هستند، ممکن است از دریافت این موارد درمانی خودداری کنند که می‌تواند عواقب جبران‌ناپذیری برای آن‌ها داشته باشد (۶). مطالعات نشان داده‌اند که ترس از خون و تزریق در کودکان در صورت عدم کنترل، می‌تواند به موارد دیگری که با خون و تزریق ارتباط دارند نظیر ترس از پزشک و پرستار نیز گسترش یابد. از دیگر مشکلات این بیماران، احساس ناراحتی، گر گرفتگی پوست، تغییرات تعداد ضربان قلب و تهوع در زمان مواجهه با خون می‌باشد. ترس خفیف انسان از خون و تزریق، به طور معمول مشکلی در زندگی روزمره ایجاد نمی‌کند و زمانی فوبیا نامیده می‌شود که شدید باشد و باعث مشکلات جدی و حتی تهدیدکننده‌ی حیات شود (۷).

تا کنون درمان‌های مختلفی برای فوبیای خاص پیشنهاد شده است که از این جمله می‌توان به واقعیت مجازی، درمان شناختی، تماس مصنوعی، درمان تماسی، درمان رفتاری، اصلاح رفتاری، حساسیت‌زدایی سیستمیک، هیپنوتیزم درمانی، درمان حساسیت‌زدایی حرکت چشم، درمان حمایتی، درمان روان‌پزشکی، دارودرمانی، داروهای ضد افسردگی و نیز داروهای مهارکننده‌ی آدرنرژیک اشاره کرد (۳). با وجود گستردگی طیف وسیع درمان‌هایی که برای فوبیای خون و تزریق و نیز فوبیای خاص دیگر مورد بررسی قرار گرفته است، اما کارایی آن‌ها به طور کامل اثبات نشده است و نیز در موارد بسیاری، تناقضات زیادی بین نتایج آن‌ها وجود دارد.

بله و خیر پاسخ داده می‌شوند و نشانگر آن است که بیماران، به هنگام مواجهه با خون و تزریق دچار علائم مورد سؤال می‌شوند یا خیر. هر مورد، ۱ نمره دارد که در صورت پاسخ بله، نمره ۱ و در صورت پاسخ خیر، نمره ۰ صفر برای آن لحاظ می‌شود. بنابراین، مجموع نمرات این پرسش‌نامه بین صفر تا ۱۷ است و چون تمام گزینه‌ها، علائم موجود در این نوع فوبیا را بررسی می‌کند، هر چه عدد بالاتری به دست آید، نشانگر شدت بیشتر علائم است.

بیماران طی ۱۲ جلسه در بیمارستان حضرت علی اصغر (ع)، با استفاده از نرم‌افزار فوبیای خون-تزریق که مبتنی بر واقعیت مجازی طراحی گردیده است، جهت بهبودی فوبیای خون-تزریق، تحت درمان قرار گرفتند. اساس طراحی نرم‌افزار با نرم‌افزار Adobe flash بود که محیط اصلی و بازی‌ها در آن طراحی و پیاده‌سازی شد. همچنین، از نرم‌افزار Adobe photoshop برای ایجاد جلوه‌های تصویری و پس‌زمینه‌ها استفاده شد. ورود به بازی، همانند ورود به یک مرکز مخصوص تزریق و بهداشت مخصوص کودکان طراحی گردید و به صورت متحرک شده، در کودک القا می‌نماید که وی در حال وارد شدن به آن می‌باشد. منوی اصلی، نمای یک اتاق مخصوص تزریق و خون‌گیری کودکان می‌باشد که کاربر با انتخاب هر کدام از اجزای داخل آن به یک بازی و سرگرمی منتقل می‌گردد. فضا شاد و کودکانه است تا مخاطب این گروه سنی بتواند در آن احساس راحتی نماید. گزینه‌های هر بازی، دارای یک گفتار می‌باشد تا در صورتی که قادر به تشخیص بازی نیست، گوینده او را راهنمایی نماید. مراحل بازی طراحی شده هر کدام متناسب با نوع بازی، دارای فضاهای متنوع و آموزه‌های مرتبط با خود می‌باشند تا بتوان از طریق چند رسانه ای (Multimedia) مباحث درمانی برای رفع ترس (فوبیای خون-تزریق) را به وی منتقل نمود. نرم‌افزار فوبیای خون-تزریق، یک محیط مجازی می‌باشد که بیمار پس از قرار گرفتن در آن محیط به صورت تدریجی و طبق مراحل مختلف و منظم در معرض خون و سرنگ قرار خواهد گرفت.

مراحل کار با نرم‌افزار واقعیت مجازی (نرم‌افزار فوبیای خون-تزریق) بدین صورت بود:

- ۱) در طی دو جلسه اول، بیمار در محیط مجازی بازی‌های جورچین مربوط به خون‌گیری را انجام می‌داد. جورچین، شامل تصویری از یک کودک در محیط آزمایشگاه و در حین خون‌گیری بود.
- ۲) در طی جلسات سوم و چهارم، بیمار در محیط مجازی بازی دوتایی را انجام می‌داد. در این مرحله، تصاویری از وسایل مرتبط با خون و تزریق نمایش داده می‌شد که کودک تصاویر مشابه را در کنار هم قرار می‌داد.
- ۳) در طی جلسات پنجم و ششم، بیمار در محیط مجازی بازی، میز

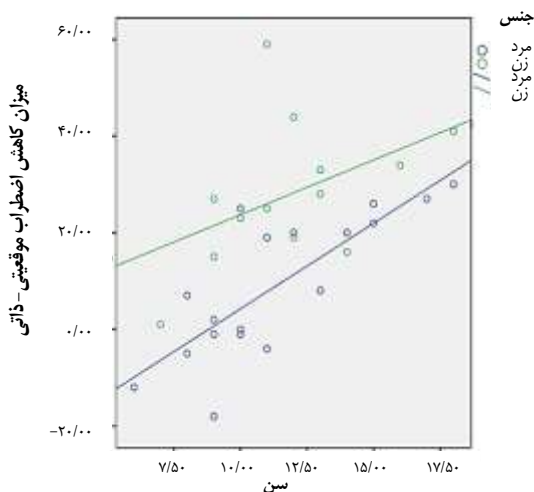
۳۱ بیمار جهت بررسی وارد مطالعه شدند. تمامی افراد شرکت کننده در ابتدای مطالعه پرسش‌نامه‌ی Spielberg که برای تعیین میزان ترس و اضطراب بیماران است و نیز پرسش‌نامه‌ی علائم اختصاصی فوبیای خون-تزریق را به صورت حضوری و با کمک پرسشگر آموزش دیده و مجرب پر کردند.

پرسش‌نامه‌ی Spielberg، یک پرسش‌نامه جهت تعیین اضطراب موقعیتی و ذاتی می‌باشد که شامل ۴۰ سؤال مجزا است. ۲۰ سؤال اول آن در مورد ارزیابی اضطراب موقعیتی است که هدف اصلی آن اندازه‌گیری اضطراب با شدتی از کم به زیاد است؛ یعنی نمره‌های پایین بیانگر احساس آرامش، نمره‌های متوسط بیانگر سطوح متوسط تنش و نگرانی و نمره‌های بالا انعکاسی از ترس شدید، نزدیک به وحشت و هراس است. در پاسخ به این موارد، بیماران شدت احساس خود را در یک مقیاس ۴ درجه‌ای (اصلا با نمره ۱، تا حدی با نمره ۲، متوسط با نمره ۳ و خیلی زیاد با نمره ۴) در زمانی خاص نشان می‌دهند. ۲۰ سؤال بعدی در مورد ارزیابی اضطراب ذاتی است که احساسات عمومی و معمولی بیماران را می‌سنجد و از آن‌ها خواسته می‌شود با توجه به فراوانی وقوع احساسات و علائم مربوط به اضطراب، نشان دهند که به طور کلی چه احساسی دارند. در پاسخ به این موارد، بیماران شدت احساس خود را در یک مقیاس ۴ درجه‌ای (تقریباً هیچ وقت با نمره ۱، گاهی با نمره ۲، غالباً با نمره ۳ و تقریباً همیشه با نمره ۴) بیان می‌کنند. از این رو، نمرات هر کدام از دو مقیاس اضطراب موقعیتی و ذاتی، می‌تواند در دامنه‌ای بین ۸۰-۲۰ قرار گیرد. روایی و پایایی این پرسش‌نامه، در مطالعات قبلی مورد بررسی قرار گرفته است که ضریب همبستگی داخلی برای مقیاس‌های پرسش‌نامه بین ۰/۹۵-۰/۸۶ بود و ضریب پایایی که در طول یک بازه‌ی زمانی دو ماهه اندازه‌گیری شد، بین ۰/۷۵-۰/۶۵ بود (۱۰).

جهت افزایش دقت بررسی نتایج کار، از یک پرسش‌نامه‌ی دیگر نیز استفاده شد که پرسش‌نامه‌ی علائم اختصاصی فوبیای خون-تزریق نام دارد. مطالعات پیشین نشان می‌دهد که این پرسش‌نامه، می‌تواند با حساسیت بالایی تغییرات علائم فوبیا را در طول درمان نشان دهد و همبستگی بالایی بین علائم ذکر شده در آن وجود دارد. بررسی پایایی نشانگر آن بود که همبستگی داخلی که با استفاده از Cronbach's alpha اندازه‌گیری شد، برای نمره‌ی مقیاس کلی پرسش‌نامه ۰/۸۶، ۹ شاخص مربوط به غش کردن ۰/۸۵، ۴ شاخص اضطراب ۰/۶۸، ۴ شاخص کشش و انقباض عضلانی ۰/۵۶ و مجموع ۸ شاخص اضطراب و کشش (شاخص‌های ترس) ۰/۷۲ بود (۱۱). این پرسش‌نامه، بر اساس شایع‌ترین علائم موجود در افراد مبتلا به این فوبیا طراحی شده است. این پرسش‌نامه، دارای ۱۷ سؤال است که به صورت

یافت ( $P < 0/001$ ). میانگین اضطراب ذاتی قبل از شروع مطالعه  $7/53 \pm 40/67$  و بعد از کار کردن با نرم افزار  $33/90 \pm 8/24$  بود که به طور معنی داری کاهش یافت ( $P = 0/010$ ). همچنین، میانگین اضطراب موقعیتی - ذاتی قبل از کار کردن با نرم افزار  $88/32 \pm 12/48$  و بعد از دریافت مداخله  $15/27 \pm 71/22$  بود که کاهش معنی داری را در بین کودکان نشان می داد ( $P < 0/001$ ). میانگین فوبیای خون و تزریق نیز بعد از کار کردن با نرم افزار به طور معنی داری نسبت به قبل از مداخله پایین تر بود ( $P < 0/001$ ) (جدول ۱).

اگر چه میزان اضطراب موقعیتی، ذاتی و موقعیتی - ذاتی در دختران بیشتر از پسران بود، اما این تفاوت تنها در مورد اضطراب موقعیتی و موقعیتی - ذاتی از نظر آماری معنی دار بود ( $P < 0/050$ ). میزان کاهش فوبیای ناشی از خون و تزریق نیز تفاوت معنی داری را بین دختران و پسران نشان داد ( $P = 0/010$ ). همچنین، نتایج مطالعه نشان داد که ارتباط مستقیم معنی داری بین سن با میزان کاهش اضطراب موقعیتی، ذاتی و موقعیتی - ذاتی وجود داشت ( $P < 0/050$ ). این در حالی است که ارتباطی بین سن و میزان کاهش فوبیای خون و تزریق در بیماران شرکت کننده در این مطالعه وجود نداشت ( $P = 0/310$  و  $r = 0/180$ ) (شکل ۱).



شکل ۱. ارتباط بین میزان کاهش اضطراب موقعیتی - ذاتی با سن به تفکیک جنس در کودکان مبتلا به فوبیای خون-تزریق

تزریق و نمونه گیری را انجام می داد. در این مرحله، کودک از بین تعدادی وسیله، آنهایی را که مرتبط با خون و تزریق بودند، انتخاب می کرد.

۴) در طی جلسات هفتم و هشتم، بیمار در محیط مجازی قسمت ابتدایی بازی سؤال و جواب را انجام می داد. سؤالات، به صورتی از آسان به سخت و همراه با تصاویر مفهومی مرتبط با درک کودک از خون و تزریق بود و به گونه ای طراحی شده بود که حاوی مفاهیم عادی سازی برخورد با خون و تزریق بود.

۵) در طی جلسات نهم و دهم، بیمار در محیط مجازی به سؤالات پیچیده تر بازی سؤال و جواب، پاسخ می داد.

۶) در طی جلسات یازدهم و دوازدهم، بیمار پس از طی مراحل قبلی در محیط مجازی خودش را حین نمونه گیری مشاهده می کرد. پس از پایان تمامی مراحل درمان بیماران به صورت کامل، بار دیگر پرسش نامه ی Spielberger و نیز پرسش نامه ی علایم اختصاصی فوبیای خون-تزریق را تکمیل نمودند.

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) صورت گرفت. با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov توزیع طبیعی داده ها بررسی شد. بر حسب آن از آزمون های پارامتریک و یا غیر پارامتریک برای آنالیز داده های کمی استفاده می شود. برای بررسی ارتباط بین متغیرهای کمی از آزمون Spearman و Pearson استفاده می شود. توزیع و ارتباط بین متغیرهای کیفی با استفاده از آزمون  $\chi^2$  مورد ارزیابی قرار می گیرد. داده ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار و تعداد (درصد) بیان شد و  $P < 0/050$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

### یافته ها

در این مطالعه، تعداد ۳۱ نوجوان و کودک جهت بررسی میزان تأثیر واقعیت مجازی بر فوبیای خون-تزریق مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سن بیماران  $3/13 \pm 11/61$  سال بود. در بین کودکان شرکت کننده در مطالعه، ۵۸/۱ درصد پسر و ۴۱/۹ درصد دختر بودند. میانگین اضطراب موقعیتی قبل از شروع مطالعه،  $9/69 \pm 47/64$  و بعد از مداخله،  $10/03 \pm 37/32$  بود که به طور معنی داری کاهش

جدول ۱. میانگین نمرات انواع اضطراب قبل از استفاده از نرم افزار و بعد از استفاده از آن

اضطراب	قبل از مداخله	بعد از مداخله	مقدار P
اضطراب موقعیتی	$47/64 \pm 9/69$	$37/32 \pm 10/03$	$< 0/001$
اضطراب ذاتی	$40/67 \pm 7/53$	$33/90 \pm 8/24$	$< 0/001$
اضطراب موقعیتی - ذاتی	$88/32 \pm 12/48$	$71/22 \pm 15/27$	$< 0/001$
فوبیای خون-تزریق	$4/45 \pm 1/15$	$2/93 \pm 1/34$	$< 0/001$

## بحث

مطالعه‌ی حاضر با هدف طراحی و بررسی اثربخشی نرم‌افزار واقعیت مجازی بر بهبودی فوبیای خون- تزریق در کودکان و نوجوانان شهر اصفهان صورت گرفت. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که کار کردن با نرم‌افزار باعث کاهش میزان اضطراب موقعیتی، ذاتی و موقعیتی-ذاتی نسبت به قبل از دریافت مداخله می‌شود. میزان فوبیای خون- تزریق نیز بعد از دریافت مداخله به طور معنی‌داری کمتر میزان آن قبل از کار کردن با نرم‌افزار بود. همچنین، نتایج مطالعه نشان می‌دهد که میزان کاهش اضطراب موقعیتی، ذاتی و موقعیتی-ذاتی در زنان بیشتر از مردان بود. در مطالعه‌ی مشابهی که توسط Oar و همکاران بر روی ۲۴ کودک ۸-۱۸ ساله صورت گرفت، کودکان مبتلا به فوبیای خون- تزریق طی یک جلسه با استفاده از روش‌های مختلف از جمله واقعیت مجازی آموزش داده شدند. نتایج مطالعه‌ی Oar و همکاران نشان می‌دهد که استفاده از واقعیت مجازی می‌تواند به طور معنی‌داری باعث کاهش میزان فوبیای کودکان نسبت به خون- تزریق شود. همچنین، Oar و همکاران نشان دادند که بافاصله پس از درمان ۳۳/۳ درصد، یک ماه بعد ۵۸/۳۳ درصد و سه ماه بعد ۶۲/۵۰ درصد از بیماران به طور کامل از نظر فوبیای خون و تزریق بهبود یافته بودند (۱۲).

در مطالعه‌ی دیگری که توسط Gebara و همکاران بر روی ۲۱ بیمار مبتلا به فوبیای اجتماعی صورت گرفت، بیماران به طور مشابه با مطالعه‌ی حاضر طی ۱۲ جلسه با استفاده از نرم‌افزار طراحی شده به مشاهده‌ی تصاویر مربوط به فوبیای اجتماعی پرداختند. نتایج آن مطالعه نیز نشان داد که تمامی معیارهای اندازه‌گیری شده برای اضطراب در این بیماران به طور معنی‌داری کاهش یافته است (۱۳). یکی از فوبیاهای خاص که با فوبیای خون- تزریق مشابهت زیادی دارد، فوبیای دندان‌پزشکی می‌باشد. مطالعات انجام شده بر روی بیماران مبتلا به فوبیای دندان‌پزشکی نیز نشان می‌دهد که استفاده از درمان واقعیت مجازی در این بیماران نیز منجر به کاهش معنی‌داری در میزان اضطراب و فوبیای آن‌ها می‌شود و طی پی‌گیری این بیماران پس از چند ماه از زمان درمان واقعیت مجازی، درصد زیادی از آن‌ها بر فوبیای دندان‌پزشکی خود غلبه کرده‌اند (۱۴).

با این وجود، به دلیل تفاوت در نوع فوبیای مورد بررسی، نوع نرم‌افزار مورد استفاده، تعداد جلسات و زمان استفاده و نیز متغیرها و پرسش‌نامه‌هایی که به منظور ارزیابی اضطراب در هر مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است، مقایسه‌ی نتایج مطالعات در این زمینه نیازمند مطالعات فراتحلیلی و تطبیق آن‌ها با یکدیگر می‌باشد.

از دیگر نتایج مطالعه‌ی حاضر، ارتباط مستقیم معنی‌دار بین سن بیماران و میزان کاهش اضطراب موقعیتی، ذاتی و موقعیتی-ذاتی

می‌باشد که می‌تواند به دلیل افزایش میزان توانایی یادگیری، ادراک و غلبه بر ترس کودکان با افزایش سن آن‌ها باشد.

امروزه، ایجاد و استفاده از محیط‌های واقعیت مجازی در علوم مختلف دارای کاربردی مؤثر و سودمند می‌باشد. در علوم روان‌شناختی، به دلیل خلق محیط‌های مختلف درمانی و آموزشی در این روش، بسیار مورد علاقه‌ی مراجع نیز خواهد بود و مراجعین بسیار راغب‌تر خواهند بود تا شرایطی امن را جهت مواجهه با ترس‌هایشان انتخاب نمایند؛ به گونه‌ای که انگیزه‌ی افراد جهت درمان هراس‌هایشان بیشتر خواهد شد (۱۵).

شیوه‌ی واقعیت مجازی، روش درمانی جدیدی است و تا کنون در ایران پژوهشی با این عنوان بر روی بیماران مبتلا به فوبیای خون- تزریق انجام نشده بود و از آن جایی که تعامل بین انسان و رایانه گسترش روز افزونی دارد، به طور قطعی به عنوان یک شیوه‌ی درمانی بسیار مفید مورد استقبال قرار می‌گیرد و حتی باعث می‌شود علم روان‌شناسی بتواند راه‌حل‌های مفیدی برای موقعیت‌های بی‌شماری فراهم آورد. افراد مبتلا به فوبیای خون- تزریق، تمایل دارند با موقعیت‌هایی که برای آن‌ها تهدید کننده است، رو به رو شوند و آن را بشناسند، اما برای آن‌ها، مواجهه با دنیای مجازی آسان‌تر از دنیای واقعی است. از جمله دلایل کارآمدی نرم‌افزار واقعیت مجازی در کاهش میزان اضطراب و فوبیای این افراد، این است که باعث می‌شود بیمار خودش را با کفایت، مسلط و کارآمد و بدون اضطراب از موقعیتی که در آینده با آن روبه‌رو می‌شود، حس کند و از این رو، حس بالایی از اعتماد به نفس و شجاعت را به خود القا می‌نماید و منجر به احساس بیشتری از توانایی تعامل با محیط می‌شود (۱۶).

از سوی دیگر، نرم‌افزار طراحی شده‌ی واقعیت مجازی به زنده کردن دوباره‌ی گذشته‌ی فردی یاری می‌رساند و فرد می‌تواند آن چه را که او از آن هراس دارد، مرور کند و خود و هیجان‌اتش را بهتر بشناسد. در واقع، فرد بیمار در حال تجربه و آزمون واقعیت خون و تزریق است تا در این شیوه‌ی درمانی بار دیگر مهارت‌ها، برانگیختگی‌های هیجانی، خودشناسی و مرور جهان واقعی را از طریق تمرین و تکرار زنده کند و با جوانب مهم تجارب خود در خصوص هیجان‌اتش آشنا شود. در واقع، با استفاده از این نرم‌افزار طراحی شده، به افراد آموزش داده می‌شود تا موقعیت‌هایی را که در آن‌ها بیشتر احساس اضطراب می‌کند، شناسایی نماید و با تکرار کردن این موقعیت نسبت به آن حساسیت‌زدایی شود. به عبارتی، فرد با هراس خود از روبه‌رو مواجه می‌شود و نیازی به تصویرسازی ذهنی از صحنه‌ی ترس ندارد و چون هم‌زمان چند حس فرد درگیر می‌شود، فرد مشکلات تصویرسازی ذهنی را ندارد و آن چه را که بیشتر علت نگرانی او می‌باشد، به راحتی می‌شناسد و با آن روبه‌رو می‌شود (۱۷).

مجازی می‌تواند به طور مؤثری برای کاهش اضطراب موقعیتی، ذاتی و موقعیتی- ذاتی و درمان فوبیای خون-تزریق در کودکان و نوجوانان مورد استفاده قرار بگیرد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند کمال تشکر و قدردانی خود را از همکاری شرکت کنندگان در مطالعه و نیز والدین آن‌ها ابراز دارند. این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دکتری حرفه‌ای پزشکی عمومی با کد ۳۹۵۶۰۵ می‌باشد. منابع مالی طرح حاضر توسط دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین گردید.

از جمله محدودیت‌های این مطالعه، می‌توان به حجم کم نمونه‌ی مورد مطالعه و نیز عدم پی‌گیری بیماران طی ماه‌های بعد از استفاده از نرم‌افزار واقعیت مجازی از جهت میزان کاهش اضطراب و فراوانی افراد درمان شده اشاره نمود. همچنین، از دیگر محدودیت‌های این مطالعه، عدم مقایسه‌ی تأثیر نرم‌افزار فوبیای خون-تزریق با گروه شاهد به دلیل مشکلات موجود در یافتن تعداد نمونه‌ی مورد نیاز و همکاری بیماران برای شرکت در مطالعه می‌باشد. با این وجود، پیشینه‌ی استفاده از نرم‌افزار واقعیت مجازی در درمان فوبیای خون و تزریق محدود است و این روش درمانی، مطالعات بیشتری را در آینده می‌طلبد. به طور کلی، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که واقعیت

### References

- Clark GI, Rock AJ. Processes contributing to the maintenance of flying phobia: A narrative review. *Front Psychol* 2016; 7: 754.
- Al-Agroudi MA, Ahmed SA, Morsy TA. Intervention program for nursing staff regarding approach to a patient with spider phobia and/or bite. *J Egypt Soc Parasitol* 2016; 46(1): 167-78.
- Ayala ES, Meuret AE, Ritz T. Treatments for blood-injury-injection phobia: A critical review of current evidence. *J Psychiatr Res* 2009; 43(15): 1235-42.
- Sadahiro T, Tamura Y, Mitamura H, Fukuda K. Blood-injection-injury phobia: Profound sinus arrest. *Int J Cardiol* 2013; 168(2): e74-e75.
- Meuret AE, Simon E, Bhaskara L, Ritz T. Ultra-brief behavioral skills trainings for blood injection injury phobia. *Depress Anxiety* 2017; 34(12): 1096-105.
- Djokovic J, Milovanovic B, Milovanovic JR, Milovanovic O, Stojic I, Mrvic S, et al. Translation of the medical fear survey to serbian: psychometric properties. *Hippokratia* 2016; 20(1): 44-9.
- Simon E, Meuret AE, Ritz T. Sympathetic and parasympathetic cardiac responses to phobia-relevant and disgust-specific emotion provocation in blood-injection-injury phobia with and without fainting history. *Psychophysiology* 2017; 54(10): 1512-27.
- Maples-Keller JL, Yasinski C, Manjin N, Rothbaum BO. Virtual reality-enhanced extinction of phobias and post-traumatic stress. *Neurotherapeutics* 2017; 14(3): 554-63.
- Kampmann IL, Emmelkamp PM, Morina N. Meta-analysis of technology-assisted interventions for social anxiety disorder. *J Anxiety Disord* 2016; 42: 71-84.
- Spielberger CD, Gorsuch RL. *Manual for the State-trait Anxiety Inventory*. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press; 1983.
- Page AC, Bennett K, Carter O, Smith J, Woodmore K. The Blood-Injection Symptom Scale (BISS): Assessing a structure of phobic symptoms elicited by blood and injections. *Behav Res Therapy* 1997; 35(5):457-64.
- Oar EL, Farrell LJ, Waters AM, Conlon EG, Ollendick TH. One session treatment for pediatric blood-injection-injury phobia: A controlled multiple baseline trial. *Behav Res Ther* 2015; 73: 131-42.
- Gebara CM, Barros-Neto TP, Gertsenchtein L, Lotufo-Neto F. Virtual reality exposure using three-dimensional images for the treatment of social phobia. *Rev Bras Psiquiatr* 2016; 38(1): 24-9.
- Raghav K, Van Wijk AJ, Abdullah F, Islam MN, Bernatchez M, De Jongh A. Efficacy of virtual reality exposure therapy for treatment of dental phobia: A randomized control trial. *BMC Oral Health* 2016; 16: 25.
- Botella C, Fernandez-Alvarez J, Guillen V, Garcia-Palacios A, Banos R. Recent progress in virtual reality exposure therapy for phobias: A systematic review. *Curr Psychiatry Rep* 2017; 19(7): 42.
- Choy Y, Fyer AJ, Lipsitz JD. Treatment of specific phobia in adults. *Clin Psychol Rev* 2007; 27(3): 266-86.
- Pallavicini F, Argenton L, Toniuzzi N, Aceti L, Mantovani F. Virtual reality applications for stress management training in the military. *Aerosp Med Hum Perform* 2016; 87(12): 1021-30.

## The Effectiveness of Virtual Reality Software on Improvement of Blood-Injection Phobia in Children and Adolescents

Mostafa Najafi<sup>1</sup>, Seyed Ahmadreza Razian<sup>2</sup>, Hossein Garavand<sup>3</sup>, Shahla Akuchekian<sup>1</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Blood-injection phobia is a chronic and debilitating disorder in children and adolescents which can be associated with anxiety avoidance of many essential treatments. Although there are some current recommended treatments for blood-injection phobia, little evidence is available on the virtual reality therapy. Therefore, in this study we aimed to investigate the effect of virtual reality therapy on blood-injection phobia among children and adolescents.

**Methods:** In this quasi-experimental study, 31 children and adolescents aged 6 to 18 years with the diagnosis of blood-injection phobia were investigated. All children received 12 sessions of working with virtual reality software. The children's anxiety level was assessed using Spielberger and specific symptoms of blood-injection phobia questionnaires. Statistical analysis was performed using SPSS software.

**Findings:** After working with the software, the mean scores of state, trait, and state-trait anxiety and also blood-injection phobia in children were significantly lower than their levels before working with the software ( $P < 0.050$  for all). There was a direct and significant correlation between age and the degree of reduction of situational anxiety ( $r = +0.60$ ,  $P < 0.001$ ).

**Conclusion:** Virtual reality therapy can effectively reduce state, trait, and state-trait anxiety and also blood-injection phobia in children and adolescents. However, further studies are required to determine the best version of virtual reality software for blood-injection phobia.

**Keywords:** Adolescent, Blood, Child, Injections, Phobic disorders, Virtual reality

**Citation:** Najafi M, Razian SA, Garavand H, Akuchekian S. **The Effectiveness of Virtual Reality Software on Improvement of Blood-Injection Phobia in Children and Adolescents.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(468): 111-7.

1- Associate Professor, Department of Psychiatry, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Department of Computer, School of Engineering, University of Isfahan, Isfahan, Iran

3- Student of Medicine, Student Research, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Hossein Garavand, Email: hossein.garavand@gmail.com

## تولید پپتید (3-36) YY در سیستم بیانی Escherichia Coli با استفاده از پروموتور خود القایی

امیرحسین مومن<sup>۱</sup>، بیژن بمبئی<sup>۲</sup>، ناصر هرزندی<sup>۳</sup>، اعظم حدادی<sup>۲</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** استفاده از القاگرهای سمی، مانند Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG)، در تولید زیست‌داروها بر اساس رهنمودهای سازمان‌های نظارتی ممنوع می‌باشد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف ارزیابی و بررسی امکان استفاده از سیستم‌های بیانی خود القایی برای تولید پپتید YY(3-36) به عنوان یک ماده‌ی اولیه‌ی دارویی (Active pharmaceutical ingredient یا API) در سیستم بیانی Escherichia coli انجام شد.

**روش‌ها:** توالی پروموتور خود القایی با استفاده بانک‌های اطلاعاتی به دست آمد. سپس، توالی مورد نظر در وکتور pUC18 سنتز شد. ژن کد کننده‌ی YY(3-36) نیز با سنتز پرایمر در انتهای ۳ پروموتور قرار داده شد. البته، جهت بیان خارج سلولی، یک توالی ۲۲ اسید آمینه‌ای سیگنال ترشحی آنزیم آسپاراژیناز در قسمت بالادستی ژن پپتید مورد نظر قرار داده شد. پس از آماده‌سازی باکتری Escherichia coli از وکتور pUC18 برای انتقال ژن به باکتری استفاده شد. سپس، با مقایسه‌ی بیان ژن پپتید در سیستم بیانی pET22 به عنوان شاهد مثبت، بیان پپتید در دو حالت خودالقایی و استفاده از IPTG با استفاده از ژل الکتروفورز بررسی گردید.

**یافته‌ها:** میزان بیان با پروموتور خود القاگر در مقایسه با شاهد مثبت (IPTG با غلظت ۱ میلی‌مولار) مناسب بود.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های مطالعه‌ی حاضر حاکی از سهولت و اقتصادی بودن کاربرد پروموتور انتخابی در تولید زیست‌داروهای با ارزش افزوده‌ی بالا می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** باکتری Escherichia coli، پپتید YY، پروموتور

**ارجاع:** مومن امیرحسین، بمبئی بیژن، هرزندی ناصر، حدادی اعظم. تولید پپتید YY(3-36) در سیستم بیانی Escherichia Coli با استفاده از

پروموتور خود القایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۸): ۱۲۳-۱۱۸

## مقدمه

تولید محصولات دارویی مهم از منابع طبیعی آن‌ها، اغلب به میزان بسیار اندک و با صرف هزینه‌ی بالایی صورت می‌گیرد. تولید این پروتئین‌ها توسط سلول‌های سالم بسیار کم انجام می‌شود. بنابراین، راه آسان‌تر برای نیل به این هدف، استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک است. در سال‌های اخیر نیز پژوهش‌های گسترده‌ای برای تولید داروهای نوترکیب از طریق میکروارگانیسم‌ها، حیوانات ترانس‌ژنیک، گیاهان و جانداران دریایی مورد توجه قرار گرفته است (۱).

به منظور تولید پروتئین‌های نوترکیب، سیستم‌های بیانی مختلفی توسط دانشمندان استفاده و به طور تجاری بهره‌برداری شده‌اند (۲).

مزیت‌های بسیاری برای استفاده از سیستم بیانی Escherichia coli به اثبات رسیده و آن را یک میکروارگانیسم ارزشمند برای تولید

پروتئین‌های نوترکیب در سطوح بالا باقی گذارده است. ویژگی‌های ژنتیکی و فیزیولوژیکی بسیار شناخته شده‌ی این باکتری، تکثیر در زمان کوتاه، آسان بودن دست‌ورزی آن، دانش اثبات شده‌ی فرماتاسیون و در نهایت، ظرفیت بالا برای تجمع پروتئین‌های نوترکیب (تا بیش از ۲۰ درصد از محتوای پروتئین کل سلولی)، Escherichia coli را یکی از پرکاربردترین میزبان‌ها جهت تولید پروتئین نوترکیب ساخته است (۳-۲). بسیاری از پروتئین‌های یوکاریوتی، فعالیت زیستی کامل خود را در شکل غیر گلیکوزیله حفظ می‌کنند و بنابراین، در Escherichia coli می‌توانند تولید شوند. به علاوه، برخی از پیشرفت‌ها نظیر بیان پریپلاسمی، افزایش میزان پروتئین به شکل محلول و تولید پروتئین با تشکیل باندهای دی‌سولفیدی صحیح را امکان‌پذیر ساخته است (۴-۵).

۱- دانشجوی دکتری، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران

۲- استادیار، گروه زیست‌فن‌آوری سامانه‌ای، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فن‌آوری، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران

II با استفاده از سیستم انتقال SEC پپتید را به محیط کشت باکتری ترشح کند. انتقال پروتئین‌های بیان شده به فضای خارج از سیتوپلاسم، مانع از تجمع پروتئین‌ها در سیتوپلاسم و گیر افتادن پروتئین‌های بیان شده در اجسام توده‌ای می‌شود. سیگنال ANSB II در مطالعات گذشته نیز استفاده شده است و چند پروتئین با استفاده از این سیگنال به محیط ترشح شده‌اند (۱۳-۱۲).

**ب) تهیه‌ی باکتری‌های مستعد برای پذیرش DNA پلاسمیدی خارجی:** برای انتقال DNA به داخل سلول‌های میزبان، به روش زیر که روش فیزیکی مبتنی بر نمک  $CaCl_2$  و سرما است، سلول‌های مستعد تهیه شدند (۱۴). به طور خلاصه، یک کلنی از کشت باکتری *Escherichia coli* سویه‌ی BL21 در ۳ میلی‌لیتر محیط *Luria-Bertani* (LB) مایع بدون آنتی‌بیوتیک کشت داده شد و این کشت به صورت شبانه در انکوباتور دارای *Shaker* با دور هم‌زن ۲۰۰ دور در دقیقه و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. به منظور کنترل تغییر شکل و انتقال DNA به داخل سلول و همچنین، بررسی عدم آلودگی سلول‌های مستعد دو واکنش تراپختی شامل انجام مراحل تغییر شکل بدون افزودن پلاسمید به عنوان شاهد منفی و انجام مراحل تغییر شکل با DNA حامل فاقد ژن YY-36 به عنوان شاهد مثبت انجام شد.

**الف) بیان ژن آنزیم محدود کننده‌ی YY-36 با IPTG و تأیید بیان با تکنیک Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)**

**کشت باکتری *Escherichia coli* و الفی بیان در آن با IPTG** کشت باکتری *Escherichia coli* سویه‌ی بیانی DE3 دارای سازی YY-36-pUC18 (پلاسمید pUC18 که در آن ژن YY-36 کلون شده است)، یک کلونی منفرد از کلونی‌های حاصل از تغییر شکل در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع LB و در صورت لزوم آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین با غلظت ۱۰۰ میکروگرم/میکرولیتر کشت داده شد و برای رشد به صورت شبانه (۱۶ ساعت) در انکوباتور دارای *Shaker* با شتاب ۲۰۰-۱۸۰ دور در دقیقه و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد (۱، ۱۴).

**مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (Polymerase chain reaction) یا PCR:** در این مطالعه، ابتدا در مرحله‌ی اول PCR در دو واکنش PCR مجزا، ژن کد کننده‌ی YY-36 و ژن سیگنال پپتید *AnsB II* به کمک پرایمرهای اختصاصی  $(GGGGGAATTCTGAACTGCCGAAACCG)$  و  $(GGGGCTCGAGCTTACACGCGCCAGCACAC)$  YY-36R5 تکثیر شد و در PCR مرحله‌ی دوم (جدول ۱ و ۲) این دو ژن به هم متصل شدند؛ بدین نحو که با شروع مرحله دوم و سوم قطعات

در فن‌آوری DNA نو ترکیب، ژن هدف به پروموتوری قابل کنترل متصل می‌شود. این پروموتر، با افزودن القاگر فعال می‌شود و فرایند نسخه‌برداری آغاز می‌گردد. در بیشتر موارد، القاگر نظیر IPTG، مالتوز و یا تتراسایکلین توسط سلول جذب می‌شود یا از طریق غشای سیتوپلاسمی به درون سلول نفوذ می‌نماید (۷-۶). القاگرها، همچنین می‌توانند از دسته‌ی تنش‌ها مانند کاهش ناگهانی دمای کشت باشند. در هر سامانه‌ی بیانی، پروموتر باید به شدت تحت کنترل باشد. به عبارت دیگر، لازم است در نبود القاگر میزان بیان بسیار پایین و با افزودن القاگر میزان بیان بسیار بالا باشد تا حدود ۳۰-۱۰ درصد کل پروتئین سلولی حاصل شود (۹-۸).

به طور کلی، سه نوع پروموتر شامل پروموتر با القاگر ویژه، پروموتورهای وابسته به مرحله‌ی رشد و تحت تنش خاص و پروموتورهایی با توانایی خود القایی وجود دارند (۱۱-۱۰).

در این تحقیق، با توجه به اهمیت ژن YY، سعی بر تولید پپتید YY<sub>(3-36)</sub> از طریق سیستم بیانی باکتریایی شد. این پپتید، توسط سلول‌های L و ایلنوم تولید می‌شود که با همکاری پروتئین گرلین (Gerlin)، سبب ایجاد احساس سیری در انسان می‌شود که خود با تأثیر بر بخش هیپوتالاموس مغز، سبب ترشح این پروتئین‌ها می‌شود. طراحی وکتور به نحوی صورت گرفت که با استفاده از پروموتر خود القاگر، نیازی به پروموتر IPTG نباشد.

یکی از مشکلات عمده که در سیستم‌های بیانی نظیر سیستم بیانی *Escherichia coli* وجود دارد، استفاد از القاگرهایی همچون Isopropyl  $\beta$ -D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) می‌باشد. این القا کننده، سمی است و از آن جایی که در تولید پپتیدهای دارویی این مسئله اهمیت ویژه‌ای دارد، مطالعه‌ی حاضر با هدف ارزیابی و بررسی امکان استفاده از سیستم‌های بیانی خود القایی برای تولید پپتید YY<sub>(3-36)</sub> به عنوان یک ماده‌ی اولیه‌ی دارویی (Active pharmaceutical ingredient یا API) انجام شد.

## روش‌ها

**الف) طراحی و ساخت سازواره‌ی pUC18 و بررسی بیان آن در *Escherichia coli*** ژن کد کننده‌ی آنزیم YY-36 کلون شده در سامانه‌ی بیانی PUC18 پس از بیان در باکتری *Escherichia coli* سویه‌ی BL21 به صورت اجسام توده‌ای بیان شد. بنابراین، در مطالعه‌ی حاضر تصمیم بر این شد که ژن کد کننده‌ی سیگنال پپتید پروتئین *AnsB II* به ناحیه‌ی N-ترمینال ژن کد کننده‌ی آنزیم محدود کننده‌ی YY-36 متصل شود و این سازه‌ی ژنی (S-YY-36) پس از ساخت در حامل pUC18 هم‌سان‌سازی شود تا در نهایت سازواره‌ی pUC18-S-YY-36 ساخته شود و سیگنال پپتید *ANSB*

اضافه شد و پس از قرار گرفتن به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش، نمونه‌ها روی ژل پلی‌اکریل‌آمید آماده شد.

جدول ۲. برنامه‌ی استفاده شده جهت تکثیر ژن YY-36

مرحله	دما	زمان	تعداد چرخه
واسرشت‌سازی اولیه	۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد	۵ دقیقه	۱
واسرشت‌سازی	۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد	۱ دقیقه	۳۰
اتصال	۶۳ درجه‌ی سانتی‌گراد	۹۰ ثانیه	
طولیل شدن	۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد	۱ دقیقه	
طولیل شدن نهایی	۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد	۵ دقیقه	۱

### ج) ترشح خارج سلولی پروتئین با استفاده از توالی ترشحی

**آنزیم آسپاراژیناز:** محصولات ترشحی پروتئین‌های نوترکیبی، مزایایی را نسبت به محصولات سیتولیتیک فراهم می‌کنند. به عنوان مثال، انتهای آمینی باقی مانده‌ی پروتئین مترشحه بعد از جدایی توالی نشانه به وسیله‌ی سیگنال پپتیدهای خاص، با محصول طبیعی ژن یکسان باشد. همچنین، فعالیت پروتئازی در فضای پری‌پلاسمی نسبت به فضای سیتوپلاسمی کمتر رخ می‌دهد.

در آخر، بیان پروتئین به روش SDS-PAGE مشخص گردید و میزان بیان در مقایسه با القاگر IPTG مورد ارزیابی قرار گرفت.

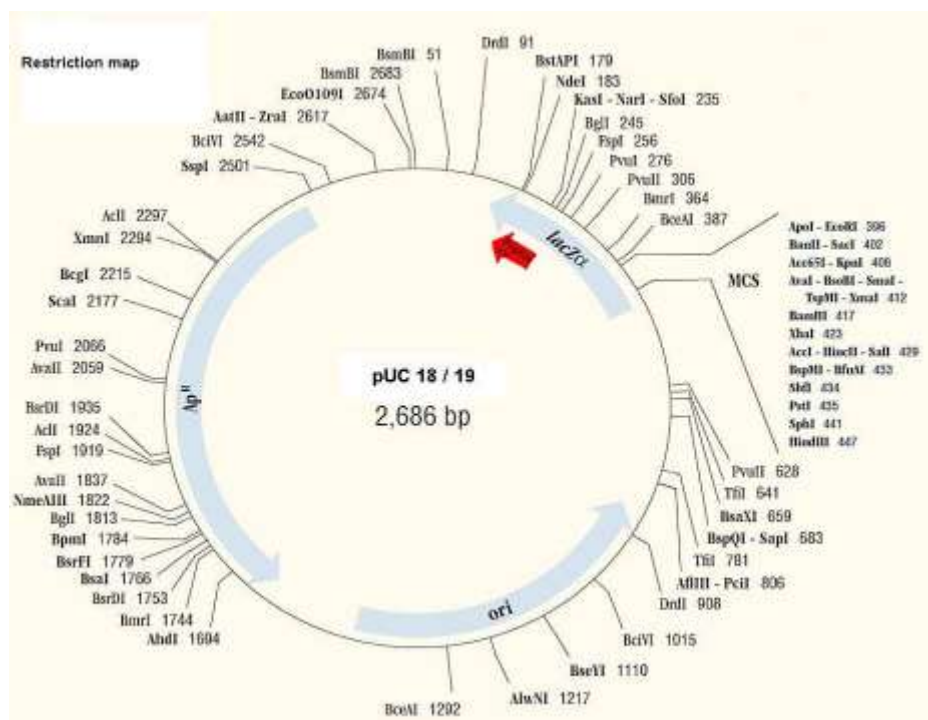
کوچکتر تشکیل شده در مرحله اول به بکدیگر متصل می‌شوند و یک قطعه بزرگتر را تشکیل می‌دهند. مراحل در شکل ۱ آمده است.

جدول ۱. اجزای مورد استفاده در واکنش Polymerase chain reaction

ترکیبات	مقادیر (ماکرولیتر)
Pfu master mix	-
پرایمر Forward (با غلظت ۱۰ ng/μl)	۱
پرایمر Reverse (با غلظت ۱۰ ng/μl)	۱
الگو (pUC18-YY-36) (با غلظت)	۱
H <sub>2</sub> O	بیشتر از ۲۰

### بررسی بیان سازی pCU18-YY-36 در باکتری

*Escherichia coli*: یک کلونی صحیح تراریخت در حضور آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مناسب در محیط LB کشت داده شد و سپس میزان ۵ میلی‌لیتر از آن به ۵۰ میلی‌لیتر محیط LB حاوی آنتی‌بیوتیک مناسب تلقیح شد. وقتی که OD<sub>600nm</sub> محیط کشت به حدود ۰/۴ رسید، با IPTG با غلظت ۱ میلی‌مولار القا شد. از کشت باکتری، نمونه‌های قبل و بعد از القا تهیه شد و پس از سونیکیت کردن محیط کشت و لیز باکتری، سانتریفیوژ با شتاب ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد و از رسوب و سرباره‌ی آن نمونه تهیه گردید. به نمونه‌های تهیه شده به میزان مناسب Sample buffer



شکل ۱. نقشه‌ی ژنی پلاسمید همراه با پپتید متصل شده؛ فلش کوچک، پپتید YY را متصل به پلاسمید نشان می‌دهد.

AGCGGGGCTGGCGTCAGCCAGCTTCCACTTAAGCGAGATCTATATCGGCATCGGTTAGCCATAACCATTTTACCTGTCCG  
GCGGCCTTAATACCTTGATCAGATGGTTCGTGGTGTGTACCTTGCCGAAGGGCACCGGTAAAAATGTTTCGCGTCGGTG  
TTTTTCGCCCCGTGGCCCCGAAAGCTGAAGAAGCTAAAGCTGTGGTGCAGAAGTTGTTCGCGCAGAAAGACCTGATGGAAGCC  
ATTACAGGCGCGCAGCATTGATTTTCGATCGTGATGCCCTTTATACTGAAATTGCCTTGCCTGCGCTGCCATAATGAAGCAGCCTC  
CGGTGTTTTGGCAGATTTAAATACTTGACATATCACTGTGATTACATATAATATGCGGAGGTACCCACCATATGGAG

M E

NheI

TTT TTC AAA AAG ACG GCA CTT GCC GCA CTG GTT ATG GGT TTT AGT GGT GCA GCG CTA GCC GCC  
F F K K T A L A A L V M G F S G A A L A A

AAA CCG GAG GCT CCA GGC GAG GAC GCG AGT CCG GAG GAA CTG TCG CGC TAC TAT GCC AGT CTC  
K P E A P G E D A S P E E L S R Y Y A S L

XhoI

CGT CAC TAT CTG AAT CTG GTG ACG CGT CAA CGC TAC TGA TAG TAG CTCGAG

R H Y L N L V T R Q R Y \* \* \*

شکل ۲. توالی نوکلئوتیدی و ترجمه‌ی اسیدهای آمینه‌ی پروموتور و پپتید YY<sub>(3-36)</sub> به همراه جایگاه‌های برش طراحی شده در سازه‌ی ژنی

متابولیت‌های ثانویه بر عهده دارند. نقش پروموتور در تعیین میزان رونویسی توالی پایین دستی آن، بارز می‌گردد. پروموتور lac یکی از قدیمی‌ترین و پر مصرف‌ترین پروموتورهای موجود در بیولوژی مولکولی و زیست‌فن‌آوری می‌باشد. در این مطالعه، توالی‌های جدید پروموتوری جهت جایگزینی توالی lac بررسی گردید. توالی پروموتور استاندارد lac شامل دو منطقه‌ی اصلی ۱۰- و ۳۵- است. acccaggctttacacattatgctccggctcgtatgtgtggaattgtgagcgg که رنگ سبز منطقه‌ی ۱۰- و رنگ آبی روشن منطقه‌ی ۳۵- را نشان می‌دهد.

البته، مطالعات دیگری نیز در گذشته به بررسی توالی‌های احتمالی دیگری از پروموتورها اقدام کرده بودند. به عنوان مثال، Heiss و همکاران، پروموتورهای القاگر متفاوتی را در باکتری *Lactobacillus plantarum* مورد بررسی قرار دادند و با توجه به نتایج به دست آمده، پیشنهاد دادند که در مقیاس صنعتی، این تحقیقات انجام شود (۱۵).

در همین راستا، پروموتورهای متعددی معرفی شدند که در سیستم بیانی *Escherichia coli* پروموتور T7IPTG که ماده‌ی القاگر این پروموتور است. البته، هنوز برای تولید پروتئین‌های با مصرف انسانی، نیاز به پروموتورهای جدید که نیاز به القاگر نداشته باشند، احساس می‌شود. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان دهنده‌ی این است که می‌توان با تغییرات نوکلئوتیدی در پروموتورهای نه چندان قوی، بیان ژن‌ها توسط این پروموتورها برای پپتیدهای دارویی را القا نمود.

نتیجه‌گیری نهایی این که نتایج به دست آمده از ژل SDS-PAGE بیان به نسبت خوبی از پلاسمید را نشان می‌دهد که نیاز به IPGT را برطرف می‌کند. با توجه به میزان بیان توسط پروموتور T7 که خود القاگر می‌باشد، توالی پروموتور استفاده شده در این مطالعه attcacatataatgctggaggtacc بود که با توجه به شکل

### یافته‌ها

۱- طراحی ژن پپتید YY<sub>(3-36)</sub> سازه‌ی ژنی طراحی شده مطابق شکل در وکتور pUC18 جای‌گذاری شد. مطابق شکل ۲، با تغییر توالی پروموتور که با رنگ آبی در ابتدای جایگاه برش مشخص شده است، پروموتور خود القایی مورد آزمایش قرار گرفت و با پروموتور IPTG به عنوان شاهد مقایسه شد.

۲- بیان پپتید: با تغییر توالی پیش‌گفته در پروموتور، پپتید در سطح مناسبی بیان شد که نتیجه‌ی بیان پپتید در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۳. تصویر الکتروفورز بیان پپتید؛ مقایسه‌ی بیان پپتید در زمان‌های ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت توسط وکتور خود القایی (خطوط ۲، ۴ و ۶) با بیان استاندارد تحت القای Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) (خطوط ۳، ۵ و ۷)، خط یک نیز استاندارد وزن مولکولی می‌باشد.

### بحث

پروموتورها به عنوان توالی از DNA که رونویسی ژن‌ها را کنترل می‌کنند، نقش به‌سزایی در تعیین میزان بیان پروتئین‌ها و حفظ تعادل سلولی و فیزیولوژی سلول از نظر رشد، تقسیم سلولی و تولید

RNAهای سلولی تعیین توالی می‌شوند، به شناسایی پروموتورهای جدید کمک شایانی شده است که می‌توان با کنکاش در بانک‌های اطلاعاتی حاوی اطلاعات خام این دسته از توالی‌ها، اقدام به شناسایی و آزمایش میزان بیان پروموتورهای کمتر شناخته شده نمود. برای مثال، Conway و همکاران، توانستند با استفاده از این تکنیک، ساختار اپرون‌های میکربی را با دقت بالای غیر قابل انتظاری نمایش دهند (۱۶).

### تشکر و قدردانی

از تمامی اعضای هیأت علمی و کارکنان محترم پژوهشگاه ژنتیک و زیست‌فن‌آوری و همچنین، از آقای دکتر لطفاله کریمی که ویرایش چکیده‌ی انگلیسی را قبول زحمت نمودند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید. این مطالعه در راستای دفاع از پایان‌نامه‌ی دکترای تخصصی میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج صورت پذیرفته است.

۲ محل جای‌گذاری این توالی به نحوی بوده است که بهترین بازدهی را داشته باشد.

پیشنهاد می‌شود که با تغییراتی در توالی خود القاگرها، امکان تهیه‌ی پروموتورهای قوی‌تر و کاراتر بررسی شود. مقایسه‌ی این توالی با توالی استاندارد T7 نشان می‌دهد که بازهای موقعیت ۸- تا ۱۱- را می‌توان تغییر داد و در عین آن که نیاز به IPTG به عنوان القاگر برطرف می‌شود، می‌توان به یک بیان پایه‌ای دست یافت که این امر، می‌تواند در مورد مواد اولیه‌ی دارویی مفید باشد. البته، در تحقیقات بعدی می‌توان به نقش بازهای منطقه‌ی ۳۵- پرداخت که هنوز امکان بهینه‌سازی در آن به شدت احساس می‌شود.

در سیستم القایی T7، این منطقه شامل *tttaca* می‌باشد که البته در سیستم بیانی حاضر، از توالی *atactt* استفاده شده است. در تحقیقات بعدی، می‌توان از توالی استاندارد یا از سایر توالی‌های دیگر استفاده نمود. امروزه، با تکنیک‌های تعیین توالی RNA که در آن کلیه‌ی

### References

- Bashyam MD, Tyagi AK. Identification and analysis of "extended -10" promoters from mycobacteria. *J Bacteriol* 1998; 180(9): 2568-73.
- Ojala V, Laitalainen J, Jalasvuori M. Fight evolution with evolution: plasmid-dependent phages with a wide host range prevent the spread of antibiotic resistance. *Evol Appl* 2013; 6(6): 925-32.
- Campbell JL, Richardson CC, Studier FW. Genetic recombination and complementation between bacteriophage T7 and cloned fragments of T7 DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75(5): 2276-80.
- Adham SA, Rodriguez S, Ramos A, Santamaria RI, Gil JA. Improved vectors for transcriptional/translational signal screening in corynebacteria using the *melC* operon from *Streptomyces glaucescens* as reporter. *Arch Microbiol* 2003; 180(1): 53-9.
- Davanloo P, Rosenberg AH, Dunn JJ, Studier FW. Cloning and expression of the gene for bacteriophage T7 RNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81(7): 2035-9.
- Backman K, Ptashne M, Gilbert W. Construction of plasmids carrying the *ci* gene of bacteriophage lambda. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73(11): 4174-8.
- Bolivar F, Rodriguez RL, Greene PJ, Betlach MC, Heyneker HL, Boyer HW, et al. Construction and characterization of new cloning vehicles. II. A multipurpose cloning system. *Gene* 1977; 2(2): 95-113.
- Carter AD, Morris CE, McAllister WT. Revised transcription map of the late region of bacteriophage T7 DNA. *J Virol* 1981; 37(2): 636-42.
- Fazen CH, Kahkoska AR, Doyle RP. Expression and purification of human PYY(3-36) in *Escherichia coli* using a His-tagged small ubiquitin-like modifier fusion. *Protein Expr Purif* 2012; 85(1): 51-9.
- Choi JH, Lee SY. Secretory and extracellular production of recombinant proteins using *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2004; 64(5): 625-35.
- Ehira S, Teramoto H, Inui M, Yukawa H. Regulation of *Corynebacterium glutamicum* heat shock response by the extracytoplasmic-function sigma factor SigH and transcriptional regulators HspR and HrcA. *J Bacteriol* 2009; 191(9): 2964-72.
- Mahboobi M, Sedighian H, Hedayati CH M, Bambai B, Esmaeil Soofian S, et al. Applying bioinformatic tools for modeling and modifying type II *E. coli* l-asparaginase to present a better therapeutic agent/drug for acute lymphoblastic leukemia. *Int J Cancer Manag.* 2017; 10(3): e5785.
- Maxam AM, Gilbert W. Sequencing end-labeled DNA with base-specific chemical cleavages. *Methods Enzymol* 1980; 65(1): 499-560.
- McAllister WT, Morris C, Rosenberg AH, Studier FW. Utilization of bacteriophage T7 late promoters in recombinant plasmids during infection. *J Mol Biol* 1981; 153(3): 527-44.
- Heiss S, Hormann A, Tauer C, Sonnleitner M, Egger E, Grabherr R, et al. Evaluation of novel inducible promoter/repressor systems for recombinant protein expression in *Lactobacillus plantarum*. *Microb Cell Fact* 2016; 15: 50.
- Conway T, Creecy JP, Maddox SM, Grissom JE, Conkle TL, Shadid TM, et al. Unprecedented high-resolution view of bacterial operon architecture revealed by RNA sequencing. *MBio* 2014; 5(4): e01442-14.

## Production of YY Peptides in the Escherichia Coli Expression System Using Self-Induction Promoter

Amirhossein Momen<sup>1</sup>, Bijan Bambai<sup>2</sup>, Naser Harzandi<sup>3</sup>, Azam Hadadi<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Application of toxic inducers, i.e. isopropyl  $\beta$ -D-1-thiogalactopyranoside (IPTG), for production of biopharmaceuticals has been prohibited by regulatory agencies. Here, we sought to evaluate the feasibility of a self-induced expression system for production of YY<sub>(3-36)</sub> peptide as an active pharmaceutical ingredient (API) in the Escherichia coli expression system.

**Methods:** The sequence of self-induced promoter was obtained from Data banks, and synthesized in pUC18 vector. The nucleotide sequence of YY<sub>(3-36)</sub> was inserted downstream of the promoter, after the 22 residue of asparaginase II signal sequence. The expression of the peptide was compared with pET21 harboring the same construct under isopropyl  $\beta$ -D-1-thiogalactopyranoside induction in sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE).

**Findings:** The expression of target peptide was comparable with isopropyl  $\beta$ -D-1-thiogalactopyranoside (1 mM) expressed peptide.

**Conclusion:** Our results demonstrate the ease and economical application of used self-induced promoter as an alternative system in production of high value added biopharmaceuticals.

**Keywords:** Escherichia coli, Peptide YY, Promoter

**Citation:** Momen A, Bambai B, Harzandi N, Hadadi A. **Production of YY Peptides in the Escherichia Coli Expression System Using Self-Induction Promoter.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(468): 118-23.

1- PhD Student, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

2- Assistant Professor, Department of System Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

**Corresponding Author:** Bijan Bambai, Email: bambai@nigeb.ac.ir

## بررسی نقش پایش طولانی مدت در تصحیح الگوهای دارویی و درمان بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان

محمد زارع<sup>۱</sup>، جعفر مهوری<sup>۲</sup>، نسرين اوجی فرد<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** مطالعات نشان داده است در تعداد قابل توجهی از بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان، منشأ بیماری روان‌شناختی است و با پایش طولانی مدت بیماری، می‌توان موارد صرع کاذب را از صرع واقعی تفکیک کرد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین نقش پایش طولانی مدت در تصحیح الگوهای دارویی و درمان بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان انجام شد.

**روش‌ها:** این مطالعه، یک مطالعه‌ی مقطعی بود که بر روی بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان مراجعه کننده به بیمارستان آیتاله کاشانی اصفهان در سال‌های ۹۵-۱۳۹۳ انجام شد. با استفاده از برنامه‌ی مراقبت طولانی مدت و با توجه به معیارهای این برنامه، موارد صرع کاذب از صرع واقعی جدا شد و الگوی دارویی در بیماران تصحیح گردید.

**یافته‌ها:** در این مطالعه، ۲۴۹ بیمار مبتلا به صرع مقاوم به درمان مورد بررسی قرار گرفتند که طبق برنامه‌ی مراقبت طولانی مدت، ۶۵ نفر (۲۶/۱ درصد) تحت درمان طبی قرار گرفتند. ۷۵ نفر (۳۰/۱ درصد) به علت مشخص بودن کانون تشنج جهت جراحی آماده شدند. ۵۹ نفر (۲۳/۷ درصد) جهت اقدامات تشخیصی تکمیلی به مراکز Single-photon emission computed tomography (SPECT) معرفی شدند و ۵۰ نفر (۲۰/۱ درصد) نیز به علت ابتلا به صرع کاذب، به روان‌پزشک ارجاع داده شدند.

**نتیجه‌گیری:** پایش طولانی مدت در بیماران با تشخیص صرع مقاوم به درمان، در افتراق بیماران مبتلا به صرع کاذب بسیار سودمند است و کارایی این روش در تشخیص واقعی بیماری و بهبود بیماران غیر صرعی و حذف هزینه‌های اضافی درمان و پیش‌گیری از عوارض دارویی بسیار قابل توجه می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** صرع مقاوم به درمان، پایش طولانی مدت، تشنج

**ارجاع:** زارع محمد، مهوری جعفر، اوجی فرد نسرين. بررسی نقش پایش طولانی مدت در تصحیح الگوهای دارویی و درمان بیماران مبتلا به صرع

مقاوم به درمان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۸): ۱۳۰-۱۲۴

عصبی دیگر دیده شده است. بنابراین، تشخیص صرع بالینی است و بر اساس ارزیابی‌های نشانه‌های بالینی، نوار مغز و تاریخچه است (۳). پایش طولانی مدت، روش مناسبی برای دیدن همبستگی بین نشانه‌های بالینی و امواج نوار مغز و روش استاندارد طلایی برای تمایز بین تشنج‌های صرعی و غیر صرعی است. اگر نوار مغز معمول و نوار مغز بعد از محرومیت خواب هنوز اختلالاتی را نشان ندهد، ممکن است از نوارهای مغز پیش طولانی مدت استفاده شود تا میزان تشخیص حوادث بین تشنج‌ها و در موقع تشنج را افزایش دهد (۴-۸).

### مقدمه

هر چند که نوار مغز روش حساسی برای تشخیص تخلیه‌ی ناگهانی الکتریکی (پاروکسیسمال) سیستم عصبی در طول تشنج است، اما گاهی اوقات در تشخیص اختلالات دچار اشتباه می‌شود، که این امر، بیشتر در طول تشنج‌های فوکال ساده و گاهی در تشخیص تشنج‌های ترکیبی آهیانه‌ای رخ می‌دهد (۱)؛ به ویژه اگر تمرکز روی لب‌های جلویی باشد. فعالیت‌های پاروکسیسمال در بیماران مبتلا به صرع، به طور مکرر بین تشنج‌ها تشخیص داده می‌شود (۲)، اما حدود ۰/۵ درصد از افراد جوان سالم و حتی با تکرار بیشتر در بیماران با شرایط

۱- استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

۳- دستیار، گروه داخلی اعصاب، دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤو: نسرين اوجی فرد

بین‌المللی علیه صرع (International League against Epilepsy) یا ILAE) استفاده از LTM را در شرایط پیش‌گفته سفارش می‌کند. در مدیریت بیماران با ترومای سر، ضربه، Subarachnoid hemorrhage و دیگر اختلالات مغزی-عروقی، استفاده از پایش پیوسته‌ی EEG (LTM) سودمند خواهد بود (۱۰). در واقع، LTM به ثبت EEG در یک دوره‌ی مبسوط گفته می‌شود.

در مواردی که EEG استاندارد به همراه روش‌های فعال، دلایل روشنی از فعالیت صرع Interictal را نشان ندهد، در نتیجه زمان ثبت طولانی مدت امکان تشخیص حوادث Ictal و Interictal را افزایش می‌دهد. زمان ثبت طولانی مدت، بسته به سؤالات بالینی، می‌تواند از چند ساعت تا چند روز باشد (۵). صرع از طریق تشنج‌های عودکننده‌ی خود به خودی که نتیجه‌ی Cerebral neuronal hypersynchronization بخش Cerebral cortex است، مشخص می‌شود.

این مطالعه، به شیوه‌ی سرشماری انجام گرفت. کلیه‌ی بیماران دارای معیارهای ورود از ابتدای سال ۱۳۹۳ تا پایان سال ۱۳۹۵ مورد مطالعه قرار گرفتند.

روش کار بدین صورت بود که بعد از تصویب طرح و انجام هماهنگی‌های لازم، بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان که در بخش پایش طولانی مدت بیمارستان آیت‌اله کاشانی اصفهان بستری شده بودند، مورد مطالعه قرار گرفتند. منظور از صرع مقاوم به درمان، مواردی است که تشنج بیمار با وجود دریافت حداقل دو داروی ضد صرع با دواژ کافی، تحت کنترل نیست و در هر ماه یک بار تشنج رخ می‌دهد.

با مراجعه‌ی پژوهشگر به بخش LMT بیمارستان آیت‌اله کاشانی، پرونده‌های بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان مورد بررسی قرار گرفت و یافته‌های نوار مغز بیماران، علائم بالینی، نوع تشنج، یافته‌های بین تشنج و در زمان تشنج بررسی شد و بیمارانی که طبق یافته‌های پایش طولانی مدت، مبتلا به صرع کاذب بودند، فراخوان شدند و جهت درمان‌های روان‌پزشکی ارجاع گردیدند. همچنین، بیمارانی ابتلا‌ی آنان به صرع، مشکوک بود، جهت تأیید تشخیص به مراکز MRI Magnetic resonance imaging (MRI) و PET scan Positron-emission tomography scan (PET scan) و SPECT Single-photon emission computed tomography (SPECT) و غیره معرفی شدند.

داده‌های به دست آمده، در نهایت وارد رایانه شد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۴ (version 24, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌های توصیفی با تعداد، درصد، میانگین و انحراف معیار در قالب نمودار و جدول ارائه شد و تحلیل داده‌ها با آزمون‌های آماری  $t$  و  $\chi^2$  انجام شد.

به طور کلی، نقش نوار مغز در پایش طولانی مدت جهت تعیین نوع تشنج، کانون تشنج، انطباق آن با علائم بالینی جهت تصمیم‌گیری درمانی بسیار حایز اهمیت است؛ به طوری که یکی از پایه‌های اصلی پایش طولانی مدت، تغییرات نوار مغز می‌باشد (۹).

تحقیقات دیگر درصد بالایی (بین ۳۰-۶۰ درصد) از Nonconvulsive status epilepticus (NCSE) را در میان همه‌ی حالات بیماران صرعی نشان داده است. در عین حال، تا زمان انجام این مطالعه، پژوهشی داخلی که با استفاده از روش پایش طولانی مدت، موارد تشخیص داده شده به عنوان صرع مقاوم به درمان را بررسی کرده باشد، وجود نداشت و از آن جایی که ممکن است تعدادی از بیماران با توجه به یافته‌های بالینی، با تشخیص صرع تحت درمان قرار گرفته باشند، این مطالعه با هدف تعیین نقش پایش طولانی مدت در تصحیح الگوهای دارویی در بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان انجام شد.

### روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه‌ی مقطعی است که در بیمارستان آیت‌اله کاشانی اصفهان انجام شد. جمعیت هدف مطالعه، بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان مراجعه‌کننده به این مرکز در سال‌های ۱۳۹۳-۹۵ بودند.

معیار ورود به مطالعه، شامل بیماران با تشخیص صرع مقاوم به درمان مراجعه‌کننده به بیمارستان آیت‌اله کاشانی در سال‌های ۱۳۹۳-۹۵، وجود اطلاعات کافی در پرونده‌ی بیمار، امکان دسترسی به بیمار و مستندات پزشکی جهت تکمیل اطلاعات و رضایت بیمار برای شرکت در برنامه‌ی پایش طولانی مدت بود. همچنین، بیماران بستری شده که از ادامه‌ی حضور در مطالعه منصرف و با رضایت شخصی قبل از انجام پایش طولانی مدت ترخیص شدند، از مطالعه خارج گردیدند. قابل ذکر است بیماران خارج شده از مطالعه از نظر شدت و مدت بیماری اختلاقی با بیماران دیگر نداشتند و علت خروج آن‌ها از مطالعه، بیشتر به علت عدم امکان مراجعات مکرر به علت بعد مسافت بود.

Long term monitoring (LTM) در تشخیص و درمان صرع در مراکز جراحی صرع و مراقبت‌های ویژه (Intensive care unit) یا ICU الزامی و مفید می‌باشد. این روش برای افتراق بین تشنج‌های صرعی و غیر صرعی، ارزیابی نوع تشنج و تکرار آن، تشخیص و درمان صرع و همچنین، بررسی‌های Video-Electroencephalography (Video-EEG) تهاجمی یا غیر تهاجمی جهت اعمال جراحی صرع استفاده می‌شود. انجمن

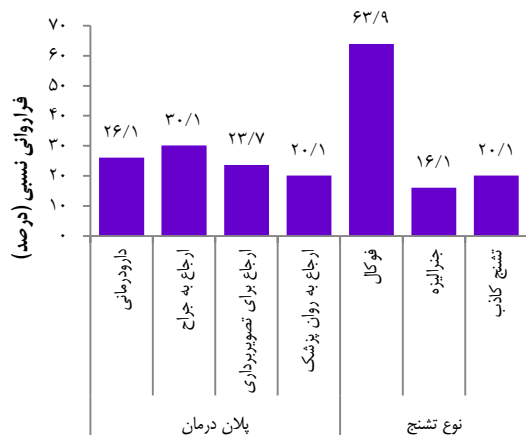
## یافته‌ها

در این مطالعه، پرونده‌ی ۳۰۴ بیمار که در آن‌ها صرع مقاوم به درمان تشخیص داده شده بود، مورد مطالعه قرار گرفت که ۵۵ نفر آن‌ها به علت نقص در پرونده و عدم همکاری بیمار در تکمیل و ثبت اطلاعات، از مطالعه خارج شدند و ۲۴۹ بیمار، تحت پایش طولانی مدت قرار گرفتند. میانگین سن این بیماران  $11/3 \pm 26/4$  سال با دامنه‌ی ۵-۶۸ سال بود، ۱۵۵ نفر (۶۲/۲ درصد) مرد و ۹۴ نفر (۳۷/۸ درصد) زن بودند. میانگین سن مردان و زنان به ترتیب  $11/6 \pm 26/8$  و  $10/9 \pm 25/7$  سال بود و اختلاف معنی‌دار بین دو جنس وجود نداشت ( $P = 0/430$ ).

با اجرای برنامه‌ی مراقبت طولانی مدت، ۶۵ نفر (۲۶/۱ درصد) تحت درمان طبی قرار گرفتند، ۷۵ نفر (۳۰/۱ درصد) به علت مشخص بودن کانون تشنج، جهت جراحی ارجاع شدند، ۵۹ نفر (۲۳/۷ درصد) جهت اقدامات تشخیصی تکمیلی به مراکز تشخیصی تکمیلی معرفی شدند و ۵۰ نفر (۲۰/۱ درصد) نیز به علت ابتلا به صرع کاذب، به روان پزشکی ارجاع داده شدند. همچنین، از ۲۴۹ بیمار که به عنوان صرع مقاوم به درمان، تحت درمان قرار گرفته بودند، ۱۵۹ نفر (۶۳/۹ درصد) مبتلا به تشنج فوکال، ۴۰ نفر (۱۶/۱ درصد) مبتلا به تشنج جنرالیزه و ۵۰ نفر (۲۰/۱ درصد) مبتلا به تشنج کاذب بودند (شکل ۱).

میانگین تعداد اقلام دارویی مصرفی  $1/1 \pm 2/7$  قلم بود. ۳۲ بیمار (۱۲/۹ درصد) یک قلم، ۶۱ نفر (۲۴/۵ درصد) دو قلم، ۷۹ نفر (۳۱/۷ درصد) سه قلم، ۳۷ نفر (۱۴/۹ درصد) چهار قلم، ۷ نفر (۲/۸ درصد) پنج قلم و ۲ بیمار (۰/۸ درصد) شش قلم داروی ضد صرع دریافت می‌کردند. میانگین تعداد اقلام دارویی مصرفی در بیماران مبتلا به صرع فوکال، جنرالیزه و صرع کاذب به ترتیب  $1/04 \pm 2/93$ ،  $0/92 \pm 2/32$  و  $1/05 \pm 2/08$  قلم بود و میانگین تعداد اقلام دارویی مصرفی در بیماران مبتلا به صرع فوکال به طور

معنی‌داری بیشتر بود.



شکل ۱. درصد فراوانی نوع تشنج و طرح درمان در افراد مورد مطالعه

بررسی تاریخچه‌ی پزشکی بیماران مورد مطالعه نشان داد که ۲۲ نفر (۸/۸ درصد) دارای سابقه‌ی عوارض حین نوزادی، ۳۴ نفر (۱۳/۷ درصد) دارای تأخیر تکاملی، ۳۱ نفر (۱۲/۴ درصد) دارای سابقه‌ی تشنج در کودکی، ۶۰ نفر (۲۴/۱ درصد) دارای سابقه‌ی ضربه به سر، ۳ نفر (۱/۲ درصد) دارای سابقه‌ی کما بعد ضربه‌ی مغزی و ۴۳ نفر (۱۷/۳ درصد) دارای سابقه‌ی فامیلی تشنج بودند.

بر حسب نتایج پیش گفته، عوارض موقع تولد، تشنج در کودکی و کما پس از ضربه مغزی بر حسب نوع تشنج اختلاف معنی‌دار داشت؛ به طوری که شیوع این عارضه در افراد مبتلا به تشنج جنرالیزه نسبت به تشنج فوکال و تشنج کاذب کمتر بود. همچنین، شیوع تشنج در کودکی در بیماران مبتلا به صرع فوکال، بیشتر از دو گروه دیگر بود. همچنین، هر سه بیمار دارای سابقه‌ی کما بعد از ضربه‌ی مغزی، در گروه مبتلا به صرع جنرالیزه قرار داشتند (جدول ۱).

جدول ۱. توزیع فراوانی سوابق فامیلی و دموگرافیک بیماران بر حسب نوع صرع

مقدار P	نوع تشنج			کل بیماران	متغیر
	کاذب (۵۰ نفر)	جنرالیزه (۴۰ نفر)	فوکال (۱۵۹ نفر)		
۰/۰۵۴	$29/8 \pm 11/6$	$24/5 \pm 8/7$	$25/8 \pm 11/7$	$26/4 \pm 11/3$	میانگین سن (سال)
۰/۱۸۰	۲۹ (۵۸/۰)	۳۰ (۷۵/۰)	۹۶ (۶۰/۴)	۱۹۰ (۶۲/۵)	جنس
	۲۱ (۴۲/۰)	۱۰ (۲۵/۰)	۶۳ (۳۹/۶)	۱۱۴ (۳۷/۵)	مرد
					زن
۰/۰۴۷	۵ (۱۰/۰)	۱ (۲/۵)	۱۶ (۱۰/۱)	۲۲ (۸/۸)	عوارض موقع تولد
۰/۰۷۰	۱ (۲/۰)	۶ (۱۵/۰)	۲۷ (۱۷/۰)	۳۴ (۱۳/۷)	تأخیر تکاملی
۰/۰۰۱	۱ (۲/۰)	۳ (۷/۵)	۲۷ (۱۷/۰)	۳۱ (۱۲/۴)	تشنج در کودکی
۰/۲۲۰	۱۱ (۲۲/۰)	۹ (۲۲/۵)	۴۰ (۲۵/۲)	۶۰ (۲۴/۱)	سابقه‌ی ضربه‌ی مغزی
۰/۰۰۳	۰ (۰)	۳ (۷/۵)	۰ (۰)	۳ (۱/۲)	کما بعد از ضربه‌ی مغزی
۰/۱۸۰	۱۹ (۳۸/۰)	۲۳ (۵۷/۵)	۷۷ (۴۸/۷)	۱۱۹ (۴۸/۰)	سابقه‌ی فامیلی تشنج

داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار و تعداد (درصد) ارائه شده است.

جدول ۲. توزیع فراوانی یافته‌های نوار مغز در حین و فواصل بین تشنج بر حسب نوع صرع

متغیر	ایکتال			اینتر ایکتال			
	فوکال	جنرالیزه	مقدار P	فوکال	جنرالیزه	مقدار P	
محل	راست	۷۳ (۴۵/۹)	۰ (۰)	< ۰/۰۰۱	۵۰ (۳۴/۵)	۰ (۰)	< ۰/۰۰۱
	چپ	۶۵ (۴۰/۹)	۵ (۱۲/۵)		۵۲ (۳۵/۹)	۵ (۱۳/۹)	
	دو طرفه	۲۱ (۱۳/۲)	۳۵ (۸۷/۵)		۴۳ (۲۹/۷)	۳۱ (۸۶/۱)	
قسمت آغازگر تشنج	راست	۸۱ (۵۰/۹)	۶ (۱۵/۰)	< ۰/۰۰۱	۶۳ (۴۳/۸)	۱۳ (۳۶/۱)	۰/۰۰۲
	چپ	۶۸ (۴۲/۸)	۱۰ (۲۵/۰)		۶۹ (۴۷/۹)	۱۱ (۳۰/۶)	
	دو طرفه	۱۰ (۶/۳)	۲۴ (۶۰/۰)		۱۳ (۹/۰)	۱۲ (۳۳/۳)	
کانون	فرونال	۷۵ (۴۷/۵)	۹ (۲۲/۵)	< ۰/۰۰۱	۷۸ (۵۳/۸)	۸ (۲۲/۲)	< ۰/۰۰۱
	تمپورال	۶۱ (۳۸/۶)	۱۳ (۳۲/۵)		۵۱ (۳۵/۲)	۱۰ (۲۷/۸)	
	اکسیپیتال	۱۳ (۸/۲)	۱۸ (۴۵/۰)		۸ (۵/۵)	۱۶ (۴۴/۴)	
	همیسفر	۴ (۲/۵)	۰ (۰)		۳ (۲/۱)	۰ (۰)	
	پرینال	۵ (۳/۲)	۰ (۰)		۳ (۲/۱)	۰ (۰)	
	Rhythmic S & W	۱۲۴ (۷۸)	۳۶ (۹/۰)	۰/۰۷۰	۱۰۶ (۷۳/۱)	۳۰ (۸۳/۳)	۰/۵۸۰
	Rhythmic theta	۱۸ (۱۱/۳)	۰ (۰)		۰ (۰/۷)	۰ (۰)	
الگوی تشنج	Rhythmic spiker.sharp	۳ (۱/۹)	۲ (۵/۰)		۳۱ (۲۱/۴)	۶ (۱۶/۷)	
	فعالیت سریع	۷ (۴/۴)	۱ (۲/۵)		۲ (۱/۴)	۰ (۰)	
	سایر	۷ (۴/۴)	۱ (۲/۵)		۶ (۴/۱)	۰ (۰)	

داده‌ها به صورت تعداد (درصد) ارائه شده است.

بررسی پرونده‌های پزشکی بیماران با روش پایش طولانی مدت نشان داد که ۲۶/۱ درصد بیماران، نیازمند درمان طبی بودند، ۳۰/۱ درصد به علت مشخص بودن کانون تشنج، جهت جراحی ارجاع شده، ۲۳/۷ درصد به علت شک به تشخیص قطعی، جهت اقدامات تشخیصی تکمیلی به مراکز MRI، PET scan و یا SPECT معرفی شدند و ۲۰/۱ درصد به علت ابتلا به صرع کاذب، به روان‌پزشک ارجاع داده شدند. به عبارت دیگر، حدود یک پنجم بیماران که با تشخیص صرع، تحت درمان دارویی قرار گرفته‌اند، بیماری آن‌ها منشأ روان‌شناختی دارد که این یافته با نتایج مطالعات قبلی که شیوع صرع کاذب را بین ۲۵-۲۰ درصد بیان داشته‌اند، هم‌خوانی دارد (۸).

در مطالعه‌ی Benbadis و همکاران، از ۲۵۱ بیمار تحت بررسی با روش پایش طولانی مدت، ۷۵ بیمار (۳۰ درصد) حملات غیر صرعی داشته‌اند (۲). همچنین، Knake و همکاران، نسبت بالاتری از NCSE را در جمعیت بالغین گزارش کردند (۷). Shorvon بروز سالیانه‌ی NCSE را بین ۱۱-۵ در ۱۰۰۰۰۰ گزارش کرده است (۱۱) که احتمال می‌رود ارقام بالای آن، به خاطر چالش در تشخیص NCSE و همچنین، نیاز به پایش پیوسته‌ی EEG باشد. برابر نتایج مطالعه‌ی حاضر، از ۲۴۹ بیمار مورد مطالعه، ۵۰ بیمار (۲۰/۱ درصد)، دارای نوار مغز طبیعی بودند و با وجود حملات تشنجی

در بررسی نواز مغز بیماران، ۵۰ نفر (۲۰/۱ درصد) دارای EEG طبیعی بودند که هر ۵۰ نفر مبتلا به صرع کاذب بودند و ۱۹۹ نفر دارای نوار مغز غیر طبیعی در زمان تشنج بودند. همچنین، ۱۸ بیمار (۷/۲ درصد) که در موقع تشنج دارای نوار مغزی غیر طبیعی بودند، در فواصل تشنج دارای نوار مغز طبیعی بودند. در جدول ۲، توزیع فراوانی یافته‌های نوار مغز در حین تشنج و در فواصل تشنج در کل و به تفکیک صرع فوکال و جنرالیزه آمده است. بر حسب جدول ۲، سمت ضایعه، قسمت آغازگر و کانون تشنج هم در زمان تشنج و هم در فواصل بین تشنج در دو نوع صرع فوکال و جنرالیزه اختلاف معنی داری داشت، اما الگوی نوار مغز در دو نوع صرع، تفاوت معنی داری نداشت.

### بحث

این مطالعه، با هدف تعیین نقش پایش طولانی مدت در تصحیح الگوهای دارویی در بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان به انجام رسید. برابر نتایج مطالعه‌ی حاضر، از ۳۰۴ بیمار دارای معیارهای ورود، ۵۵ بیمار به علل مختلف از جمله نقص پرونده و عدم امکان تکمیل آن، عدم دسترسی به بیمار و یا خانواده‌ی وی، مهاجرت و فوت بیمار، امکان بررسی آنان طبق برنامه‌ی پایش طولانی مدت وجود نداشت و در نهایت، ۲۴۹ بیمار مورد مطالعه قرار گرفتند.

مدیریت می‌کند (۹). Flink و همکاران نیز یک راهنما جهت استفاده از روش‌های نوار مغزی در تشخیص صرع ارائه داده‌اند (۵). برابر نتایج مطالعه‌ی حاضر، استفاده از ابزار پایش طولانی مدت، حداقل باعث تغییر پلان درمان در ۲۰/۱ درصد بیماران شده، ضمن این که با استفاده از این روش، ۳۰/۱ درصد بیماران به علت مشخص بودن کانون تشنج، کاندیدای عمل جراحی بودند و جهت عمل ارجاع گردیدند و از طرف دیگر، ۲۳/۷ درصد بیماران تحت اقدامات تشخیصی تکمیلی قرار گرفتند که از این طریق نیز در درصد بالایی از آنان، تغییر خواهد کرد. از این رو، می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که استفاده از پایش طولانی مدت در بیمارانی که با تشخیص صرع مقاوم به درمان، تحت دارودرمانی‌های طولانی مدت قرار گرفته‌اند، منجر به قطع درمان‌های غیر ضروری در درصد بالایی از این بیماران می‌شود و با اتخاذ تدابیر درمانی صحیح، از چنگال بیماری‌های رهایی خواهند یافت. ضمن این که میزان بروز عوارض دارویی نیز کاهش می‌یابد و از نظر هزینه‌های اقتصادی نیز کمک شایانی به خانواده‌ی بیماران و سیستم درمانی کشور خواهد نمود. در این راستا، Normark و همکاران، تمایز پایش طولانی مدت برای تشنج‌های صرعی و غیر صرعی را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که پایش طولانی مدت باعث تشخیص صحیح، بهینه‌سازی فرایند درمان در بیماران مبتلا به صرع و جلوگیری از درمان‌های غیر ضروری در بیماران غیر مبتلا به صرع می‌شود (۱۳).

آقای حاک و همکاران، نقش LTM را بر روی حملات سایکوژنیک غیر صرعی (Psychogenic Non-Epileptic Attack یا PAEN) بررسی کردند و نتیجه گرفتند که با تشخیص صحیح ای حملات، از تجویز غیر ضروری دارو پرهیز می‌شود (۱). از طرف دیگر، پایش طولانی مدت، تنها مخصوص بزرگسالان نیست و Shellhaas و همکاران، راهنمای پایش EEG پیوسته را در کودکان ارائه داده‌اند (۱۴).

نتیجه‌گیری نهایی این که پایش طولانی مدت در بیماران با تشخیص صرع مقاوم به درمان، در افتراق بیماران مبتلا به صرع کاذب بسیار سودمند است و کارایی این روش در تشخیص واقعی بیماری و بهبود بیماران غیر مبتلا به صرع و حذف هزینه‌های اضافی درمان و پیش‌گیری از عوارض دارویی بسیار قابل توجه می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر، حاصل پایان‌نامه‌ی دکتری تخصصی در رشته‌ی داخلی اعصاب است که با شماره‌ی ۳۹۵۰۰۶ در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب و با حمایت‌های این معاونت انجام شده است. از این رو، نویسندگان مقاله از زحمات ایشان تقدیر و تشکر می‌نمایند.

و بروز علائم صرع، یافته‌ی بالینی غیر طبیعی در نوار مغزی آنان اعم از نوارهای گرفته شده در هنگام تشنج و یا فواصل بین تشنج به دست نیامد. Hui و همکاران، ارزش تشخیصی پایش طولانی مدت نوار مغز را بیش از ۸۰ درصد بیان کردند و نتیجه‌گیری نمودند که نوار مغز بیماران، اطلاعات مفید بالینی را برای تشخیص صرع فراهم می‌کند (۶). میانگین تعداد ارقام دارویی مصرفی  $1/1 \pm 2/7$  قلم بوده است. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که هر یک از بیماران مورد مطالعه، به طور متوسط  $1/1 \pm 2/7$  قلم داروی ضد صرع دریافت می‌کردند و هر چند که تعداد ارقام دارویی مصرفی بر حسب نوع صرع اختلاف معنی‌داری داشت و بیماران مبتلا به صرع فوکال، تعداد داروی بیشتری مصرف می‌کردند، اما در عین حال، مصرف داروی ضد صرع در بیماران مبتلا به صرع کاذب نیز به طور قابل توجهی بالا بود؛ به طوری که حدود ۴۰ درصد این بیماران، بیش از دو قلم داروی ضد صرع دریافت می‌کردند؛ بدون این که نتیجه‌ی مفیدی از مصرف دارو در آنان حاصل شده باشد.

نکته‌ی قابل ذکر در مورد بیماران مبتلا به صرع کاذب این است که تشخیص نادرست این بیماران را نبایستی به حساب عدم مهارت متخصصین در تشخیص بیماری گذاشت؛ بلکه وجود علائم بالینی غیر معمول در تعداد زیادی از مبتلایان به صرع، تمارض از طرف بیماران، توأم بودن صرع حقیقی با صرع کاذب در تعدادی از بیماران، مراجعه‌ی بیماران به پزشکان متعدد و عدم تمرکز و تداوم درمان در یک مرکز درمانی مشخص، عدم تبعیت از رژیم دارویی، خودداری بیماران از مراجعه به روان‌پزشک، عدم اقدام بیماران برای انجام آزمایش‌های پیرابالینی، در دسترس نبودن امکانات تشخیصی تکمیلی نظیر PET scan، رعایت جنبه‌ی احتیاط در درمان از طرف پزشک و عدم دقت کافی در یافته‌های قلبی و غیره، از عواملی هستند که در فرایند تشخیص بیماری تأثیرگذار می‌باشند.

برابر نتایج مطالعه‌ی حاضر، ۶۳/۹ درصد بیماران، مبتلا به صرع فوکال و ۱۶/۱ درصد مبتلا به صرع جنرالیزه بودند که بررسی نوارهای مغزی بیماران در زمان تشنج و در فواصل بین تشنج‌ها نشان داد که ویژگی‌های نوار مغز بیماران از نظر سمت درگیری، قسمت آغازگر تشنج و کانون تشنج اختلاف معنی‌داری داشت، اما الگوی تشنج در دو نوع صرع اختلاف معنی‌داری نداشت. ضمن این که تمامی بیماران مبتلا به صرع کاذب، دارای نوار مغز طبیعی بودند.

در مطالعه‌ی Yogarajah و همکاران، پایش طولانی مدت، روشی سالم با قدرت تشخیصی بالا برای حملات صرعی و مدیریت درمان آن‌ها بوده است (۱۲). Lee و همکاران نیز در مطالعه‌ی پایش طولانی مدت را یک ابزار تشخیصی سالم و با بازده تشخیصی بالا معرفی کرده‌اند که به طور مستقیم بیماران با حوادث پاروکسیسمال را

## References

1. Aghaee Hakak M, Amiri H, Mohammadpour M, Vosough I, Razavi B, et al. Diagnostic and therapeutic role of long term video-EEG monitoring in patients with psychogenic non-epileptic attacks. *Razavi Int J Med* 2013; 1(1):17-21.
2. Benbadis SR, O'Neill E, Tatum WO, Heriaud L. Outcome of prolonged video-EEG monitoring at a typical referral epilepsy center. *Epilepsia* 2004; 45(9): 1150-3.
3. Cascino GD. Clinical indications and diagnostic yield of video-electroencephalographic monitoring in patients with seizures and spells. *Mayo Clin Proc* 2002; 77(10): 1111-20.
4. Erdal J, Hogenhaven H. Pitfalls in the diagnosis of epilepsy. *Ugeskr Laeger* 2004; 166(44): 3915-8. [In Danish].
5. Flink R, Pedersen B, Guekht AB, Malmgren K, Michelucci R, Neville B, et al. Guidelines for the use of EEG methodology in the diagnosis of epilepsy. International League Against Epilepsy: Commission report. Commission on European Affairs: Subcommission on European Guidelines. *Acta Neurol Scand* 2002; 106(1): 1-7.
6. Hui AC, Kwan P, Leung TW, Soo Y, Mok VC, Wong LK. Diagnostic value and safety of long-term video-EEG monitoring. *Hong Kong Med J* 2007; 13(3): 228-30.
7. Knake S, Rosenow F, Vescovi M, Oertel WH, Mueller HH, Wirbatz A, et al. Incidence of status epilepticus in adults in Germany: A prospective, population-based study. *Epilepsia* 2001; 42(6): 714-8.
8. Krebs PP. Psychogenic nonepileptic seizures. *Am J Electroneurodiagnostic Technol* 2007; 47(1): 20-8.
9. Lee YY, Lee MY, Chen IA, Tsai YT, Sung CY, Hsieh HY, et al. Long-term video-EEG monitoring for paroxysmal events. *Chang Gung Med J* 2009; 32(3): 305-12.
10. Mesraoua B, Deleu D, Wieser HG. Long-term monitoring: An overview. In: Stevanovic D, editor. *Epilepsy: histological, electroencephalographic and psychological aspects*. Rijeka, Croatia: IntechOpen; 2012. p. 145-72.
11. Shorvon S. The classification of status epilepticus. *Epileptic Disord* 2005; 7(1): 1-3.
12. Yogarajah M, Powell HW, Heaney D, Smith SJ, Duncan JS, Sisodiya SM. Long term monitoring in refractory epilepsy: the Gowers Unit experience. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; 80(3): 305-10.
13. Normark MB, Erdal J, Kjaer TW. Video electroencephalography monitoring differentiates between epileptic and non-epileptic seizures. *Dan Med Bull* 2011; 58(9): A4305.
14. Shellhaas RA, Chang T, Tsuchida T, Scher MS, Riviello JJ, Abend NS, et al. The American Clinical Neurophysiology Society's guideline on continuous electroencephalography monitoring in neonates. *J Clin Neurophysiol* 2011; 28(6): 611-7.

## The Effect of Long-Term Monitoring on the Correction of Medication and Treatment among Patients with Intractable Epilepsy

Mohammad Zarea<sup>1</sup>, Jafar Mehvari<sup>2</sup>, Nasrin Oujifard<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Studies show that a considerable part of intractable epilepsy have psychological cause, and long-term monitoring can separate pseudoseizure from epilepsy. So, this study aimed to detect the effect of long-term monitoring on correction of medication among patients with intractable epilepsy.

**Methods:** In a cross-sectional study, patients treated as intractable epilepsy in Ayatollah Kashani hospital, Isfahan, Iran, during the years 2016-2016 were enrolled. Using long-term monitoring, and according to criteria of this program, pseudoseizure cases were separated from true epilepsy, and medication pattern was corrected in these patients.

**Findings:** 249 patients with intractable epilepsy were studied. According to long-term monitoring, in 65 patients (26.1%), the medication was changed, 75 (30.1%) referred for surgery, 59 (23.7%) referred for further assessment with magnetic resonance imaging (MRL), positron-emission tomography (PET) scan, and single-photon emission computed tomography (SPECT), and 50 (20.1) referred to psychologist due to pseudoseizure.

**Conclusion:** Long-term monitoring in patients with intractable epilepsy can help to separate of pseudoseizure from true epilepsy. The efficacy of this method was proved in better diagnosis and improvement of patients with non-epileptic seizure, decreasing treatment costs, and prevention of drug side effects.

**Keywords:** Intractable epilepsy, Patient monitoring, Seizure

**Citation:** Zarea M, Mehvari J, Oujifard N. **The Effect of Long-Term Monitoring on the Correction of Medication and Treatment among Patients with Intractable Epilepsy.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(468): 124-30.

1- Professor, Isfahan Neurosciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Isfahan Neurosciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Resident, Department of Neurology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Nasrin Oujifard, Email: nasrinoujifard@gmail.com

## پاراپروبیوتیک‌ها: راه حلی برای خروج از مشکلات تولید و مصرف پروبیوتیک‌ها

آتنا سادات سمبلستانی<sup>۱</sup>، رسول شفیعی<sup>۲</sup>، محمد ربانی خوراسگانی<sup>۳</sup>

## مقاله مروری

## چکیده

پروبیوتیک‌ها یکی از روش‌های نوین، مؤثر و پذیرفته شده به منظور تخفیف حدت و کمک به درمان برخی از بیماری‌ها در عصر حاضر می‌باشند. با این وجود، محدودیت‌هایی پیش روی تولید، عرضه و مصرف باکتری‌های زنده قرار دارد. از جمله روش‌های جدید که تا حد بسیار زیادی می‌تواند این محدودیت‌ها را برطرف کند، استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها است. پاراپروبیوتیک‌ها، فرم‌های غیر زنده‌ی باکتری‌های پروبیوتیک هستند که به صورت دست نخورده یا سلول شکسته شده و یا عصاره‌ی سلول قابل استفاده هستند. بهبود برخی از بیماری‌ها در انسان و حیوانات در صورت مصرف خوراکی یا موضعی پاراپروبیوتیک‌ها اثبات شده است. در این مقاله، پس از معرفی پاراپروبیوتیک‌ها، سعی شده است روش‌های تولید و نیز تأثیر آن‌ها بر سلامتی انسان بر اساس پژوهش‌های انجام شده در دو دهه‌ی گذشته (با تأکید بر مطالعات اخیر) ارائه شود.

واژگان کلیدی: پاراپروبیوتیک، پروبیوتیک، سیستم ایمنی

ارجاع: سمبلستانی آتنا سادات، شفیعی رسول، ربانی خوراسگانی محمد. پاراپروبیوتیک‌ها: راه حلی برای خروج از مشکلات تولید و مصرف پروبیوتیک‌ها.

مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۸): ۱۴۱-۱۳۱

## مقدمه

طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی و سازمان غذا و داروی آمریکا، پروبیوتیک‌ها باکتری‌های زنده‌ای هستند که در صورت تجویز به میزان کافی، می‌توانند اثرات مثبتی بر روی سلامت انسان القا کنند. امروزه، باکتری‌های پروبیوتیک را به عنوان یک راه‌کار مؤثر در پیش‌گیری یا درمان برخی بیماری‌ها، نظیر اختلالات گوارشی و بیماری‌های آلرژیک یا التهابی می‌شناسند. لازمه‌ی بروز این ویژگی‌ها، زنده بودن باکتری است. انواعی از میکروارگانیسم‌ها به خصوص باکتری‌ها و مخمرها جهت پژوهش و تولید محصولات پروبیوتیک مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱). علاوه بر تهیه و مصرف باکتری‌های پروبیوتیک به صورت مکمل، آن‌ها را می‌توان به مواد غذایی سنتی، تخمیری و غیر تخمیری نظیر ماست، انواع نوشیدنی‌ها، شیرینی‌ها، تنقلات و غیره اضافه نمود (۱). به تازگی، امکان دست‌کاری ژنتیکی و ایجاد باکتری‌های پروبیوتیک نوترکیب با خواص بهبود یافته مطرح شده است (۲). این باکتری‌ها، می‌توانند خواص بسیار مفیدی مانند مهار بیوفیلم باکتری‌های بیماری‌زا را داشته باشند (۳-۴). همچنین، این دسته از باکتری‌ها می‌توانند به

منظور بهبود زخم نیز استفاده شوند (۵).

مکانیسمی که اغلب منجر به تأثیر مثبت باکتری‌های پروبیوتیک می‌شود، مبتنی بر واکنش آن‌ها با میکروب‌ها (میکروب‌های بیماری‌زا و یا فلور میکروبی دستگاه گوارش) و یا ارتباط متقابل (Cross-talk) میان باکتری‌های پروبیوتیک با سلول‌های میزبان است. تأثیر اول به طور معمول به زنده بودن باکتری‌های پروبیوتیک وابسته است؛ چرا که رقابت (بر سر مواد غذایی یا اتصال)، مهار رشد میکروب‌ها (به واسطه‌ی تولید ترکیبات ضد میکروبی) یا تشدید رشد فلور میکروبی میزبان به واسطه‌ی همیاری (Proto-cooperation) تغذیه‌ای یا محیطی، در حالتی امکان‌پذیر است که سلول‌های پروبیوتیک زنده باشند (۶-۷). در مقابل، ارتباط با سلول‌های میزبان می‌تواند توسط سلول‌های غیر زنده هم رخ دهد؛ چرا که اساس آن، شناسایی برخی از اجزای سلول میکروبی یا محصولات آن‌ها توسط سلول میزبان است که در نهایت، می‌تواند به یک پاسخ ایمنی منجر شود (۶). بر مبنای تحقیقات بالینی، باکتری‌های پروبیوتیک ارتباط مؤثری با سیستم گوارشی موجودات زنده برقرار می‌کنند. همچنین، از طریق سیستم

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: رسول شفیعی

ساختاری سلول را از پروبیوتیک‌های معروف، جدا و خالص‌سازی کرد. پپتیدوگلیکان در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی وجود دارد. گیرنده‌های شناسایی کننده‌ی الگوهای حفاظت شده (Pattern recognition receptors یا PRRs) نظیر گیرنده‌های شبه Toll (Toll-like receptors) و پروتئین‌های متصل شونده به نوکلئوتیدها (Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors) اولین حسگرهای سیستم ایمنی ذاتی هستند که الگوهای مولکولی مرتبط با میکروب‌ها (Microbe-associated molecular patterns) نظیر پپتیدوگلیکان یا لیپوپلی ساکارید را شناسایی می‌نمایند. در اصل، پپتیدوگلیکان‌ها و لیپوپلی ساکاریدها دارای اثرات نامطلوبی هستند. با این حال، حتی کوچک‌ترین تغییرات شیمیایی در ساختار آن‌ها می‌تواند تأثیرات ایمنولوژیک متفاوتی ایجاد کند. به عنوان مثال، باکتری *Escherichia coli* Nissle 1917 که تنها باکتری پروبیوتیک گرم منفی تأیید شده در اروپا می‌باشد و دارای جهشی در یکی از ژن‌های پلیمریزه کننده‌ی آنتی‌ژن O است که بیماری‌زایی این باکتری را به شدت کاهش می‌دهد؛ به طوری که از زمان‌های گذشته تا کنون به عنوان یک پروبیوتیک خوراکی مورد استفاده قرار گرفته است (۶).

تیکوئیک اسید، جزء دیگری از دیواره‌ی سلولی است که شامل واحدهای تکراری پلی‌ریبیتول فسفات یا پلی‌گلیسرول فسفات است. از دو نوع تیکوئیک اسید موجود در دیواره‌ی سلول، فقط لیپوتیکوئیک اسید دارای خاصیت ایمنولوژیک بوده است و به عنوان عامل اصلی جهت القای ایترلوکین-۱۰ شناخته می‌شود. مشخص شده است که باکتری‌های پروبیوتیک گرم مثبت و نیز کومنسال موجود در دستگاه گوارش از طریق تیکوئیک اسید باعث تعدیل واکنش ایمنی نسبت به میکروارگانیسم‌ها می‌شوند و بنابراین، از ایجاد واکنش‌های التهابی افراطی جلوگیری می‌نمایند (۶).

برخی پروتئین‌های سلولی نیز می‌توانند موجب القای واکنش‌های سیستم ایمنی شوند. *Lactobacillus*‌ها می‌توانند از طریق لایه‌ی سطحی موسوم به لایه‌ی S (S-Layer) که از جنس پروتئین یا گلیکوپروتئین است، با سلول‌های میزبان ارتباط برقرار کنند و موجب القای پاسخ‌های مناسب در برابر میکروب‌های بیماری‌زا شوند (۱۱). در نوعی محصول پروبیوتیک تجاری که حاوی *Lactobacillus acidophilus* است، لایه‌ی سطحی به طور اساسی از یک پروتئین موسوم به SlpA ساخته شده است که توسط ماکروفاژها و سلول‌های دندریتی شناسایی می‌شود. ثابت شده است که این پروتئین، برای فعال شدن لنفوسیت‌های T تولید کننده‌ی ایترلوکین-۴، بسیار ضروری است (۱۱).

موتیف‌های ایمنولوژیک DNA نیز می‌توانند موجب القای ترشح ایمنولوگوبولین‌ها و تکثیر سلول‌های نوع B شوند. به علاوه،

درک حد نصاب (Quorum sensing)، می‌توانند جمعیت میکروارگانیسم‌های موجود در دستگاه گوارش را تنظیم و تعدیل کنند. از آن جایی که باکتری‌های ساکن دستگاه گوارش و نیز باکتری‌های پروبیوتیک نقش‌های متعددی نظیر تنظیم سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی، تنظیم فعالیت دستگاه گوارش، بقا و رشد سلول‌های اپیتلیالی و تولید برخی متابولیت‌ها از همه مهم‌تر رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا را بازی می‌کنند. از این رو، لازم است میزان و نوع فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک مصرفی به طور کامل مشخص و تنظیم شده باشد (۸).

محصولات تخمیری مانند ماست، یکی از مهم‌ترین منابع باکتری‌های پروبیوتیک شامل گونه‌های *Lactobacillus* و *Leuconostoc* و غیره می‌باشد (۹). با این حال، روند تولید و عرضه‌ی پروبیوتیک‌ها در مواد غذایی و به شکل سلول‌های زنده که بتوانند پس از مصرف به حالت فعال درآیند، همیشه با مشکلاتی روبه‌رو بوده است؛ به صورتی که پروبیوتیک مصرف شده، تأثیر مورد نظر را نخواهد داشت. تحقیقات بسیار زیادی جهت ابداع یا بهینه‌سازی روش‌هایی برای حفظ بقای باکتری‌های پروبیوتیک انجام شده است. در طی سال‌های اخیر (و به طور عمده از سال ۲۰۱۰) توجه زیادی به استفاده از اشکال غیر زنده‌ی باکتری‌ها به عنوان جایگزین پروبیوتیک‌ها شده است. با توجه به این که اشکال غیر زنده‌ی باکتری‌ها در تعریف پروبیوتیک‌ها نمی‌گنجد، در سال ۲۰۱۱ برای اولین بار واژه‌ی «پاراپروبیوتیک» مطرح شد (۶).

پیشوند «پارا» با دو معنای «در کنار» و «غیر معمول» نشان دهنده‌ی شباهت عملکردی و در عین حال تفاوت در بقای پاراپروبیوتیک‌ها با پروبیوتیک‌ها است (۱۰). پاراپروبیوتیک‌ها سلول‌های کامل یا شکسته شده‌ی پروبیوتیک‌ها و یا عصاره‌ی خام سلولی است که هر گاه به صورت خوراکی یا موضعی در دوز مناسب استفاده شوند، تأثیر مطلوبی بر انسان یا حیوان خواهند داشت. بر این اساس، مولکول‌های خالص شده از میکروب‌ها جزء پاراپروبیوتیک‌ها محسوب نمی‌شوند (۱۰). برای این اجزای سلول با خواص فیزیولوژیکی خاص، واژه‌ی «اجزای سلول‌های پروبیوتیکی» (Probiotic cell fragments یا PCFs) نیز استفاده شده است (۱۰).

در این مقاله‌ی مروری، سعی خواهد شد ضمن معرفی پاراپروبیوتیک‌ها و اجزای آن‌ها، تأثیر آن‌ها بر سلامتی انسان و روش‌های تولید آن‌ها نیز بر اساس آخرین یافته‌ها مورد بررسی قرار گیرد.

### اجزای سلول‌های پروبیوتیکی و نقش آن‌ها در القای

#### سیستم ایمنی

با استفاده از تکنیک جزء به جزء کردن سلول، می‌توان اجزای

ماهیت زنده بودن آن‌ها می‌باشد. تجویز باکتری‌های پروبیوتیک زنده برای افراد با شرایط سنی و جسمی گوناگون، همیشه و به طور یکسان با اثرات مثبت همراه نیست. باکتری‌های زنده در بیمارانی با سیستم ایمنی ضعیف شده، نقشی بسیار متضاد ایفا می‌نمایند و می‌توانند خطراًفرین باشند. از جمله‌ی این موارد، می‌توان به افراد مبتلا به بیماری Crohn اشاره نمود (۱۲). تأثیر معکوس پروبیوتیک‌ها در افراد سالخورده و نوزادانی که هنوز سیستم ایمنی تکامل یافته‌ای ندارند نیز مشاهده شده است (۱۶-۱۳).

از دیگر مسائلی مطرح شده در مورد پروبیوتیک‌های زنده، بروز مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و امکان انتقال ژن‌های مقاومت به باکتری‌های بیماری‌زای وارد شده به روده‌ی انسان است. از آن جایی که در میکروبیوم روده‌ی انسان، باکتری‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب نیز وجود دارند، کسب مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری‌ها، می‌تواند مشکل‌آفرین باشد (۱۷). شواهدی وجود دارد که باکتری‌های دخیل در فرایند تولید مواد غذایی نیز می‌توانند منشأ مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها شوند (۱۸). Bifidobacterium‌ها به عنوان یک دسته‌ی مهم از پروبیوتیک‌ها شناخته می‌شوند که به طور ذاتی به طیفی از آنتی‌بیوتیک‌ها مانند استرپتومایسین مقاوم هستند (۱۹). مطالعه‌ی پروفایل مقاومت این باکتری نشان داده است که این باکتری‌ها در نوزادان حساسیت بیشتری به آنتی‌بیوتیک در مقایسه با گروه‌های سنی بالاتر دارند (۲۰).

۲. مشکل مهم دیگر، مربوط به فرایند تولید و نگهداری باکتری‌های زنده (Viable) و دارای عملکرد (Vital) است (۱). عمده‌ی پروبیوتیک‌های استفاده شده از خانواده‌ی Lactobacillaceae هستند که غیر اسپورزا می‌باشند و در شرایط نامساعد محیطی، آسیب می‌بینند و به مرور زمان و طی نگهداری، کارایی خود را از دست می‌دهند (۲۱). از طرف دیگر، امکان فراهم کردن زنجیره‌ی سرما در طی مسیر حمل و نقل، اغلب نیاز به صرف هزینه‌های زیاد دارد (۲۲). استفاده از برخی غذاها (نظیر محصولات لبنی یا نوشیدنی‌ها) به عنوان یک حامل پروبیوتیک و همچنین، استفاده از روش‌های مختلف به منظور پایدارسازی این باکتری‌ها (۲۳) برای حفظ بقای سلول‌ها رایج است (۲۴، ۱). با این حال، به دلیل برهم‌کنش میکروارگانیسم‌های زنده و محیط، این راه حل نیز با مشکلاتی روبه‌رو است (۲۵، ۱). به عنوان مثال، اکسیژن موجود در محیط موجب تنش اکسیداتیو برای سلول‌ها می‌گردد (۲۶) و همچنین، باکتری‌های پروبیوتیک زنده و فعال با تولید متابولیت‌هایی نظیر اسید لاکتیک در محصولات لبنی می‌تواند اثراتی منفی بر ساختار محصول و حتی سلول‌های پروبیوتیک بگذارد (۲۷).

با توجه به مطالب گفته شده، راه‌کارهای متفاوتی در طی سال‌های

موتیف‌های DNA ژنومی باکتری‌های لاکتیک اسید، خواص ایمنوبیوتیک دارند؛ یعنی موجب القای واکنش‌های سیستم ایمنی در بافت‌های لنفوئیدی دستگاه گوارش (Gut-associated lymphoid tissue یا GALT) می‌شوند. تحریک لنفوسیت‌های B توسط دی‌نوکلئوتید سیتوزین-گوانوزین (CpG یا Cytosine-phosphate-guanine) غیر متیله شده مشتق شده از باکتری‌ها، اثبات شده است. ژنوم Bifidobacterium‌ها تأثیرات ایمنولوژیک وسیعی بر روی میزبان دارد. دلیل این امر، به احتمال زیاد درصد بسیار بالای GC (حدود ۵۸-۶۱ درصد) و در نتیجه، وجود تعداد زیادی موتیف CpG است. نکته‌ی جالب توجه در این مورد، واکنش‌های ایمنولوژیک متفاوتی است که ژنوم سویه‌های مختلف Bifidobacterium ایجاد می‌نماید. دلیل این امر، به احتمال زیاد وجود سیستم‌های متنوع پردازش DNA است که بر پروفایل متیله شدن ژنوم تأثیر می‌گذارد و در نهایت، درصد CpG غیر متیله متفاوت خواهد بود. موتیف‌های DNA که محرک سیستم ایمنی هستند، موجب القای Interferon alpha و Interferon gamma (INF- $\gamma$ ) می‌شوند و فعال‌کننده‌ی قوی برای سلول‌های کشنده‌ی طبیعی می‌باشند (۶).

از بین پلی‌ساکاریدهای سلولی یعنی اگزوپلی‌ساکاریدها، پلی‌ساکاریدهای کپسولی و پلی‌ساکاریدهای دیواره‌ی سلول، تنها پلی‌ساکاریدهای دیواره و اگزوپلی‌ساکاریدها، ایمونوژن می‌باشند (۶). بر اساس آن چه توضیح داده شد، از بین اجزای سلول، مورامیل پپتید، مورامیل دی‌پپتید، مورامیل تری‌پپتید، لیپوتیکوئیک اسید، پلی‌ساکاریدهای دیواره‌ی سلول و اگزوپلی‌ساکاریدها ایمونوژن می‌باشند و می‌توانند از طریق تعامل با پذیرنده‌های شناسایی الگوی مربوط به سلول‌های اپیتلیالی و نیز سلول‌های ایمنی موکوسی موجب تعدیل و تنظیم سیستم ایمنی موکوسی شوند (۶، ۱). با وجود آن چه تا به حال در زمینه‌ی مکانیسم عملکردی پاراپروبیوتیک‌ها کشف شده است، هنوز بسیاری از مسیرهای القای سیستم ایمنی توسط آن‌ها ناشناخته باقی مانده است. از دیگر مشکلات در زمینه‌ی مطالعه‌ی پاراپروبیوتیک‌ها، عدم اطلاع پژوهشگر از وجود ناخالصی در اجزای سلولی مورد مطالعه و ارتباط واکنش‌های سیستم ایمنی به اجزای خالص است. از این رو، اطمینان کامل از خالص بودن اجزا برای تفسیر نتایج الزامی است (۶).

### مشکلات مربوط به استفاده از باکتری‌های زنده

امروزه، استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک نظیر روش‌های حفظ سلامت به حساب می‌آید. با این حال، به دو دلیل عمده، استفاده از آن‌ها دارای محدودیت‌هایی است:

۱. از جمله مشکلات مربوط به استفاده از پروبیوتیک‌ها،

اخیر به منظور مرتفع کردن مشکلات پیش گفته پیشنهاد شده است که از مؤثرترین آن‌ها، استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها می‌باشد (۱).

### روش‌های غیر فعال کردن پروبیوتیک‌ها

روش‌های مختلفی جهت غیر فعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها و تولید پاراپروبیوتیک‌ها استفاده می‌شود؛ اما در این مقاله، روش‌های به کار گرفته شده در زمینه‌ی فرمولاسیون محصولات غذایی مبنای عمل است.

**استفاده از حرارت:** استفاده از حرارت، رایج‌ترین روش برای غیر فعال کردن میکروارگانیسم‌ها است. در این بین، پاستوریزه و استریل کردن از اهمیت بیشتری برخوردار هستند. تأثیر تیمار حرارتی بر میکروارگانیسم‌ها به عوامل متعددی نظیر نوع سلول، فرم رویشی یا اسپور، شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط کشت، مرحله‌ی رشد، مواجهه‌ی قبلی با تنش، فعالیت آب و روش حرارت دادن و غیره بستگی دارد. محدوده‌ی دمایی استفاده شده برای تولید پاراپروبیوتیک‌ها متنوع بوده است (جدول ۱) (۲۸-۳۰).

جدول ۱. روش‌های مختلف غیر فعال کردن میکروارگانیسم‌ها و کاربرد آن‌ها در زمینه‌ی تولید پاراپروبیوتیک‌ها

روش غیر فعال سازی	مکانیسم اثر	نمونه‌ی پژوهش‌های انجام شده و اثر آن‌ها	ملاحظات
استفاده از حرارت	دنا توره شدن پروتئین‌ها، آسیب به غشاهای سلول، تغییر تعادل یونی و غذایی سلول، تجزیه شدن RNA	<i>Bacillus pumilus</i> غیر فعال شده در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۶۰ دقیقه؛ موجب مهار باکتری‌های بیماری‌زای روده‌ی ماهی می‌شود (۳۰). <i>Leuconostoc mesenteroides</i> غیر فعال شده در ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه؛ موجب جلوگیری از تهاجم <i>Listeria monocytogenes</i> و عفونت دستگاه گوارش در موش می‌شود (۳۱). شیر تخمیر شده حاوی <i>Lactobacillus gasseri</i> که در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه حرارت داده شد، موجب تنظیم فعالیت روده در افرادی شد که از مشکلات یبوست رنج می‌بردند (۲۲). مصرف روزانه‌ی نوشیدنی <i>Lactobacillus gasseri</i> غیر فعال شده و خشک شده، موجب بهبود عملکرد روده، افزایش تعداد <i>Bifidobacterium</i> های روده‌ای و کاهش <i>Clostridium</i> نوع IV شد (۳۲). مصرف روزانه‌ی نوشیدنی حاوی <i>Lactobacillus gasseri</i> غیر فعال شده (پاستوریزه شده) در دمای ۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد باعث بهبود کیفیت خواب، کاهش استرس، بهبود عملکرد اعصاب پاراسمپاتیک و کاهش میزان کورتیزول ترشحی در بزاق دانشجویان پزشکی که تحت فشار کاری بودند، گردید (۳۳-۳۴).	به توضیحات متن مراجعه شود.
استفاده از پرتوهای یونیزان و غیر یونیزان	دنا توره شدن پروتئین‌ها آسیب به اسیدهای نوکلئیک	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> غیر فعال شده با پرتوهای فرابنفش، موجب جلوگیری از آنتروکولیت نکروز کننده در موش‌های تازه متولد شده می‌گردد (۳۵). <i>Lactobacillus rhamnosus</i> غیر فعال شده با پرتوهای فرابنفش موجب جلوگیری از آنتروکولیت نکروز دهنده در نوزادان می‌شود (۳۶). تولید اینترلوکین-۸ در پاسخ به فلاژلین در تیمار <i>Lactobacillus rhamnosus</i> تیمار شده با اشعه‌ی فرابنفش، کاهش می‌یابد (۳۷).	به توضیحات متن مراجعه شود.
استفاده از امواج فراصوت	آسیب به DNA، آسیب به دیواره‌ی سلولی و غشای سلول	<i>Bifidobacterium longum</i> در غلظت $10^9$ - $10^8$ سلول در هر میلی‌لیتر و غیر فعال شده با امواج فراصوت، موجب کاهش کلسترول در موش‌ها می‌شود (۳۸).	این روش به طور معمول یکی از روش‌های آزمایشگاهی به منظور غیر فعال‌سازی باکتری‌ها به شمار می‌رود.
استفاده از ترکیبات شیمیایی	تأثیر بر شکل فضایی پروتئین‌ها	سویه‌های <i>Lactobacillus rhamnosus</i> و <i>Streptococcus thermophilus</i> غیر فعال شده با گرما و فرمالین موجب افزایش ترشح اینترلوکین-۶ و کاهش ترشح اینترلوکین-۸ می‌شود که این امر می‌تواند نکته‌ی مثبتی برای استفاده در افرادی با سیستم ایمنی ضعیف باشد (۳۹). تیمار <i>Lactobacillus rhamnosus</i> با عوامل تثبیت کننده می‌تواند منجر به افزایش اتصال این باکتری به سطوح روده شود (۴۰).	

و همچنین، میزان پراکسیداز لکوسیت‌ها شوند که در نهایت، می‌تواند باعث حذف میکروب‌های بیماری‌زا شود (۴۴). پاراپروبیوتیک حاصل از *Lactobacillus plantarum* غیر فعال شده با حرارت، می‌تواند میزان را در برابر عفونت سیستمی توسط *Salmonella enterica* محافظت نماید. به نظر می‌رسد پاراپروبیوتیک‌ها قادر به مهار تهاجم و اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به سلول‌های اپیتلیال می‌باشند (۱).

در پژوهش دیگری، جهت بررسی اثر پاراپروبیوتیک‌ها بر مهار رشد ویروس‌ها، مشاهده شد که مصرف خوراکی *Lactobacillus* غیر فعال شده، با افزایش پاسخ‌های ایمنی در روده و دستگاه تنفسی و نیز افزایش تیترا ایتترفرون- $\beta$  خون، موجب کاهش خطر ابتلای موش‌ها به ویروس آنفلوانزای H1N1 می‌شود (۴۵، ۴۶). علاوه بر این، خوراندن *Lactobacillus acidophilus* زنده و نیز فرم غیر فعال شده‌ی آن به موش‌های مبتلا شده با ویروس H1N1، در نتیجه‌ی فعالیت سلول‌های Natural killer (NK)، حذف ویروس را به طور محسوسی افزایش می‌دهد (۴۶).

همچنین، به تازگی مشاهده شده است که مصرف خوراکی پاراپروبیوتیک حاصل از *Lactococcus lactis* غیر فعال شده با حرارت، می‌تواند در افراد سالم واکنش‌های ضد ویروسی علیه ویروس آنفلوانزا (A/H3N2 و A/H1N1) ایجاد نماید (۴۷).

استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها برای مبارزه با بیماری‌های موجودات دیگر نظیر آبزیان نیز استفاده شده است. در یک مطالعه، تأثیر *Lactobacillus plantarum* کشته شده با حرارت بر پارامترهای ایمنی گونه‌ای از میگوی آب شیرین بررسی شد. بر این اساس، مشخص شد که باکتری‌های کشته شده، می‌توانند توسط گیرنده‌های شناسایی کننده‌ی الگوی پاتوژن (Pathogen associated molecular pattern یا PAMPs) هموسیت‌ها (سلول‌های جایگزین سلول‌های عادی سیستم ایمنی در سخت پوستان) شناسایی شوند و در نتیجه، میزان مرگ و میر میگوها ناشی از باکتری بیماری‌زای *Aeromonas hydrophila* کاهش محسوسی می‌یابد (۲۱).

#### کاهش عوارض پیری: در طی دهه‌های اخیر، به دلایل مختلف،

بیماری‌های مرتبط با پیری افزایش یافته است. از جمله عوارض ناشی از فرایند پیری، اختلال در حافظه، کاهش پاسخ‌های ایمنی، افزایش پراکسیداسیون و کاهش تراکم استخوان است (۱). گزارش‌های محدود، اما رضایت‌بخشی در مورد تأثیر پاراپروبیوتیک‌ها بر تظاهرات پیری وجود دارد (۴۸-۵۰). به عنوان مثال، نشان داده شده است که مصرف پاراپروبیوتیک‌ها با تأثیر بر جمعیت استتوکلاست‌ها، بر بازسازی استخوان‌ها تأثیر می‌گذارد (۵۱). همچنین، مصرف خوراکی پاراپروبیوتیک‌ها، می‌تواند موجب تقویت سیستم ایمنی وابسته به سلول در موش‌ها شود. این امر، در نهایت باعث تغییر فرایند پیری

شواهدی مبنی بر کاهش ظرفیت اتصال پاراپروبیوتیک‌های تحت تیمار حرارتی به سلول‌های میزبان وجود دارد (۱). موارد مطرح شده، در فرایند تولید پاراپروبیوتیک‌ها اهمیت دارند؛ چرا که در مواردی استفاده از دمای بالا برای تولید پاراپروبیوتیک‌ها، تأثیر به مراتب مثبت‌تری نسبت به دمای پایین‌تر داشته است (۴۱).

**استفاده از پرتوها:** از پرتوهای یونیزان نظیر پرتوهای گاما یا غیر یونیزان مانند پرتوهای فرابنفش، می‌توان جهت غیر فعال کردن سلول‌ها و تولید پاراپروبیوتیک‌ها استفاده نمود. تولید پاراپروبیوتیک‌ها با استفاده از پرتوهای یونیزان، با محدودیت‌هایی روبه‌رو است و مطالعاتی که بر مبنای آن باشد نیز محدود است. با این حال، نشان داده شده است که پاراپروبیوتیک‌های تولید شده با استفاده از پرتوهای گاما، حداقل دارای تأثیرات مشابه با پاراپروبیوتیک‌های تولید شده با تیمار حرارتی می‌باشند (۴۲، ۱). به عنوان مثال، استفاده از پرتوهای گاما، باعث کاهش اتصال گونه‌های مختلف *Lactobacillus acidophilus* و همچنین، افزایش قدرت اتصال *Lactobacillus casei* شده است. مزیت استفاده از پرتوهای فرابنفش نسبت به تیمار حرارتی یا استفاده از پرتوهای یونیزان، عدم تولید ترکیبات سمی و نیز عدم تأثیر بر خواص تغذیه‌ای و حسی (Sensory) ماده‌ی مورد نظر است (۱). به علاوه، استفاده از سلول‌های پروبیوتیک کشته شده با اشعه، می‌تواند منجر به کاهش پاسخ بیش از حد سیستم ایمنی به برخی آنتی‌ژن‌ها و نیز تعدیل سیستم ایمنی از طریق تعدیل فنوتیپ سلول‌های T کمک کننده شود (۳۷، ۴۳).

علاوه بر روش‌های پیش‌گفته، روش‌های مختلف دیگری نظیر استفاده از غلظت بحرانی دی‌اکسید کربن، فشار زیاد، میدان الکتریکی ضربانی و غیره نیز جهت غیر فعال نمودن سلول‌ها وجود دارد (۱). با این حال، همه‌ی این روش‌ها جهت تولید پاراپروبیوتیک‌ها استفاده نشده‌اند. در جدول ۱، روش‌های استفاده شده جهت تولید پاراپروبیوتیک‌ها خلاصه شده‌اند.

#### تأثیرات مثبت استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها بر سلامت

پژوهش‌های متعددی در رابطه با تأثیر مثبت پاراپروبیوتیک‌ها بر سلامتی وجود دارد (۱). در این قسمت، مهم‌ترین موضوعات مورد مطالعه، بررسی و مرور می‌شود:

**مهار میکروب‌های بیماری‌زا:** پاراپروبیوتیک‌ها نیز شبیه پروبیوتیک‌ها قادرند از میزبان خود در برابر عفونت‌های حاصل از میکروب‌های بیماری‌زا محافظت نمایند. طی پژوهشی، نشان داده شد که *Bacillus subtilis* و *Lactobacillus delbrueckii* تیمار شده با گرما، می‌توانند منجر به افزایش انفجار تنفسی (Respiratory burst)

می‌گردد (۵۳).

در یک مطالعه بر روی افراد سالمند، مشخص شد که استفاده از پاراپروبیوتیک‌های حاصل از *Lactobacillus pentosus* همراه با فعالیت بدنی مطلوب، موجب افزایش IgA ترشحاتی در بزاق می‌شود (۵۴). همچنین، این امر می‌تواند جهت بهبود مقاومت سیستم ایمنی سالمندان نسبت به عفونت‌ها و در نتیجه، کاهش معنی‌دار ابتلا به سرماخوردگی مؤثر باشد (۵۵).

**کاهش کلسترول:** طبق گزارش انستیتوی قلب، ریه و خون، سکتی قلبی یکی از علل اصلی مرگ در آمریکا به شمار می‌رود. عوامل متعددی موجب ایجاد این مشکل می‌شود؛ اما از مهم‌ترین آن‌ها، افزایش میزان کلسترول خون می‌باشد. *Lactobacillus acidophilus* زنده، می‌تواند کلسترول را در پوشش سلولی خود رسوب دهد (۵۶). این پدیده در باکتری‌های غیر فعال شده با گرما نیز مانند *Lactococcus lactis* مشاهده شده است. این امر به دلیل جذب کلسترول توسط پیکره‌ی سلول (به خصوص دیواره‌ی سلول) است. با این وجود، به علت آن که باکتری زنده مقداری از کلسترول را نیز در داخل سلول به دام می‌اندازد، میزان برداشت کلسترول در مواردی که از باکتری‌های زنده استفاده می‌شود، تا سه برابر بیشتر گزارش شده است (۵۷).

وابسته به سن در سیستم ایمنی می‌شود (۵۰). به علاوه، استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها با بهبود تعادل بین *T helper1* (Th1) و *Th2* می‌تواند موجب جلوگیری از بیماری‌های وابسته به سن شود (۱).

**تأثیر بر عملکرد دستگاه گوارش:** جمعیت میکروبی ساکن روده، نقش اساسی در فرایندهای متابولیک، تغذیه‌ای، فیزیولوژیک و ایمنولوژیک بدن انسان دارند (۵۲). در جدول ۲، نقش مثبت پاراپروبیوتیک‌ها در تعدیل جمعیت میکروبی روده، بهبود جراحات و آسیب‌های روده‌ای، حفظ سد روده‌ای، درمان اسهال و کاهش عدم تحمل به لاکتوز خلاصه شده است.

**تأثیر بر دستگاه تنفس:** پاراپروبیوتیک‌ها، می‌توانند بر درمان علائم و نشانه‌های بیماری‌های دستگاه تنفس نظیر التهاب آلرژیک مخاط بینی، سرما خوردگی، آسم و ذات‌الریه مؤثر باشند. مصرف خوراکی قطره‌ی پاراپروبیوتیک حاصل از *Enterococcus faecalis* غیر فعال شده با تعدیل پاسخ‌های ایمنی در خوکچه‌ی هندی مبتلا به التهاب آلرژیک مخاط بینی، موجب کاهش مؤثر عطسه و خارش بینی می‌شود. استفاده از این پاراپروبیوتیک‌ها، منجر به افزایش سلول‌های T تنظیمی ( $CD4^+$  و  $CD25^+$ ) در طحال و کاهش ورود ائوزینوفیل‌ها به مخاط می‌شود که این امر، در نهایت باعث سرکوب تولید *IgE* Immunoglobulin E و کاهش فعالیت ائوزینوفیل‌ها

جدول ۲. تأثیر پاراپروبیوتیک‌ها بر اختلالات و بیماری‌های دستگاه گوارش

نحوه‌ی عملکرد پاراپروبیوتیک	علل و عوارض بیماری	مزیت استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها
تعدیل و کاهش تغییرات جمعیت میکروبی روده	جمعیت میکروبی روده می‌تواند در اثر مصرف بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک و همچنین، عفونت‌ها تغییر کند که این امر با تأثیر بر سایر اندام‌ها منجر به بیماری‌های مختلف می‌شود.	باکتری‌های پروبیوتیک می‌توانند جمعیت میکروبیوم روده را تعدیل و با میان‌کنش با آن‌ها، تولید برخی متابولیت‌ها را تسهیل کنند. <i>Lactobacillus gasseri</i> غیر فعال شده، موجب افزایش متابولیت‌های <i>Clostridium</i> نوع IV می‌شود. این باکتری می‌تواند اسیدهای چرب کوتاه زنجیره نظیر یون‌های استات تولید نماید (۵۸).
بهبود زخم‌های روده	التهاب و آسیب به بافت‌های روده در اثر عفونت یا استفاده از داروها و غیره رخ می‌دهد. کرون و کولیت زخمی، از جمله بیماری‌های التهابی روده می‌باشند.	مصرف پاراپروبیوتیک‌ها با القای پروتئین‌های شوک گرما و تنظیم ترشح ( $TNF-\alpha$ ) و برخی اینترلوکین‌ها، می‌تواند به روند بهبود کولیت کمک نماید (۶۰-۵۹، ۵۳).
سندرم روده‌ی تحریک‌پذیر درمان اسهال	نوعی بیماری مزمن که با دردهای شکمی، احساس ناراحتی، نفخ، اسهال و یا یبوست و غیره همراه است. عفونت‌های باکتریایی و ویروسی، مصرف آنتی‌بیوتیک و غیره باعث خروج بیش از حد مایعات به فرم اسهال از بدن می‌شود.	<i>Lactobacillus gasseri</i> غیر فعال شده منجر به تخفیف التهاب در بیماری‌هایی مانند بیماری روده‌ی تحریک‌پذیر می‌شود (۶۲-۶۱).
کاهش عدم تحمل لاکتوز	کمبود آنزیم لاکتاز موجب اختلال در هضم و جذب لاکتوز می‌شود. به دنبال آن، تخمیر لاکتوز توسط فلور روده، موجب تولید مقدار زیادی گاز و اسید و در نهایت بروز عوارض گوارشی می‌شود.	<i>Lactobacillus casei</i> غیر فعال شده توسط حرارت، منجر به کاهش زمان اسهال در نوزادان می‌شود؛ با این حال، استفاده از باکتری‌های زنده به علت تأثیر بیشتر، ترجیح داده می‌شود (۶۳).
		مصرف پاراپروبیوتیک موجب کاهش علائم عدم تحمل لاکتوز در کودکان شده است (۶۴).

که پیرامون تأثیر باکتری *Lactobacillus paracasei* غیر فعال شده با حرارت، بر روی افراد دارای رینیت آلرژیک (Allergic rhinitis) انجام شد، مشخص گردید که تأثیر این تیمار روی بهبود علائم بیماری مشابه موارد تیمار شده با باکتری زنده است. در نتیجه، به دلیل آسان بودن حمل و نقل و همچنین، هزینه‌ی کمتر تولید، استفاده از آن‌ها به عنوان تعدیل‌کننده‌ی آلرژی، امری منطقی است (۷۴).

### نمونه‌های تجاری پاراپروبیوتیک‌ها

بسیاری از تیمارهایی که در متن این مقاله به آن‌ها اشاره شد و جهت غیر فعال نمودن میکروب‌ها استفاده شده‌اند، تنها در آزمایشگاه بررسی شده‌اند و انجام اغلب آن‌ها در مقیاس صنعتی با محدودیت‌هایی روبه‌رو است. در این میان، برخی از شرکت‌ها به صورت تجاری اقدام به ساخت محصولات پاراپروبیوتیک با باکتری‌های غیر فعال شده کرده‌اند. مثال بارز این نمونه شرکت‌ها، شرکت فرانسوی *Lacteol* است که نوعی کپسول به نام تجاری *Lacteol Fort* تولید نموده است که در درمان نشانه‌های اسهال مزمن مؤثر بوده است (۱). تأثیر مثبت محصول همچنین در درمان اسهال‌های ویروسی و باکتریایی و کاهش طول مدت بیماری به اثبات رسیده است (۷۵).

### نتیجه‌گیری

امروزه، استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک جهت درمان یا پیش‌گیری از بیماری‌ها، رشد قابل توجهی داشته است. با این حال، استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها در مواد غذایی نسبت به پروبیوتیک‌ها دارای مزایایی است از جمله این که استفاده از فرم غیر فعال شده‌ی میکروارگانیسم‌ها، زمینه را برای استفاده از باکتری‌های متعددی نظیر باکتری‌هایی که به طور ذاتی در دسته‌ی پروبیوتیک‌ها قرار نمی‌گیرند، فراهم می‌کند. همچنین، واکنش بین اجزای ماده‌ی غذایی و پاراپروبیوتیک‌ها نسبت به پروبیوتیک‌ها ناچیز یا بسیار کم است که تأثیر بسیار زیادی در افزایش ماندگاری ماده‌ی غذایی دارد (۱). از طرف دیگر، پاراپروبیوتیک‌ها نسبت به دما حساسیت کمتری دارند. بنابراین، بدون نگرانی از کاهش فعالیت، می‌توان آن‌ها را در طی مراحل تولید یک ماده‌ی غذایی استفاده نمود و نیز انبارداری و حمل آن‌ها بسیار راحت‌تر است (۷۶، ۱).

با این حال، هنوز ابهامات و سؤالات زیادی پیرامون استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها وجود دارد. از جمله این که در بسیاری از پژوهش‌ها، تنها تأثیر پاراپروبیوتیک‌ها بر کشت سلولی، حیوانات یا انسان سنجیده شده است. در حالی که برای تأیید و مقایسه‌ی تأثیر مثبت، لازم است میکروارگانیسم زنده (پروبیوتیک) نیز در همان سیستم، مورد آزمایش قرار گیرد (۱). همچنین، روش‌های متعددی

**مهار رشد سلول‌های سرطانی:** خاصیت ضد تومور یکی از ویژگی‌های مهم باکتری‌های پروبیوتیک است که توجه بسیاری را به خود جلب کرده است (۶۵). از جمله مزایای استفاده از پروبیوتیک‌ها نسبت به درمان‌های رایج سرطان، کاهش اثرات جانبی بر روی سیستم عمومی بدن می‌باشد (۶۶). بیشتر مطالعات انجام شده، بر روی پروبیوتیک‌ها متمرکز شده‌اند. با این حال، به تازگی تأثیر فرم غیر فعال شده‌ی این باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. پروبیوتیک‌ها، می‌توانند با تأثیر بر تنظیم سیتوکاین‌های ترشحی، برخی بیماری‌ها نظیر سرطان را کنترل نمایند. اینترلوکین-۸ از سیتوکاین‌های کلیدی است که افزایش آن از راه‌های مختلف، می‌تواند مشکلاتی را برای بدن ایجاد کند (۶۸-۶۷).

در مطالعه‌ی Zhang و همکاران، اثرات استفاده از *Lactobacillus rhamnosus* غیر فعال شده با حرارت و هم‌تای زنده‌ی آن بر رده‌ی سلولی Caco-2 (رده‌ی سلولی مورد استفاده برای مطالعه‌ی شرایط روده‌ای انسان و همین‌طور سد فیزیکی مخاطی روده)، مورد بررسی قرار گرفت. مشخص شد که کاهش و یا افزایش تولید اینترلوکین-۸ به عنوان یکی از واسطه‌های التهابی، وابسته به تعداد باکتری‌های زنده است، اما باکتری‌های غیر فعال شده بدون توجه به تعداد، باعث افزایش ناچیز اینترلوکین-۸ می‌شوند. بر این اساس، استفاده از باکتری زنده، می‌تواند برای درمان التهاب مشکل‌ساز شود. از این رو، بیماران می‌توانند با اطمینان بیشتری از باکتری‌های غیر زنده به عنوان درمان کمکی استفاده نمایند (۶۹).

به تازگی نیز از چهار سویه‌ی *Lactobacillus* غیر فعال شده با حرارت، جهت بررسی میزان تغییرات مربوط به تومور القا شده در موش استفاده شد. در نهایت شگفتی، باکتری‌های کشته شده نسبت به باکتری‌های زنده، میزان سرکوب تومور بیشتری از خود نشان دادند (۷۰).

**تأثیر بر آلرژی:** تأثیر پروبیوتیک‌ها روی آلرژی، از سال‌ها پیش به اثبات رسیده است. این باکتری‌ها، با تغییر پاسخ سلول‌های T کمکی به سمت Th-2 این عمل را انجام می‌دهند (۷۲-۷۱). با این وجود، شواهد پیرامون استفاده از فرم‌های غیر فعال شده‌ی این باکتری‌ها بسیار محدود است. در مطالعه‌ای که بر روی باکتری‌های *Lactobacillus paracasei* و *Lactobacillus casei* انجام شد، مشخص گردید که پارامترهای مربوط به سلول‌های Th-1 مانند (TGF- $\beta$ ) و (IFN- $\gamma$ ) افزایش یافته است؛ در حالی که تغییر سیتوکاین مرتبط با پاسخ‌های Th-2 مانند اینترلوکین-۵ در این بررسی محسوس نبود. به عبارت دیگر، افزایش TGF- $\beta_1$  می‌تواند به عنوان تنظیم‌کننده‌ی تعادل بین جمعیت سلول‌های Th-1 و Th-2 عمل کند. این راه‌کار، از این جهت که می‌توان از باکتری‌های غیر فعال شده، بدون تشدید آلرژی استفاده کرد، مورد توجه است (۷۳). در تحقیقی

دستگاه گوارش نیز بررسی شود (۱).

جهت تعیین ماندگاری پروبیوتیک‌ها وجود دارد. بنابراین، لازم است که روش‌های استاندارد جهت تعیین میزان فعالیت و ماندگاری پاراپروبیوتیک‌ها تدوین شود (۱). در تحقیقات موجود، تأثیر پاراپروبیوتیک‌ها بر روی بافت روده‌ای انسان مطالعه نشده است. لازم است تأثیر تیمارهای غیر فعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها بر بافت‌های

### تشکر و قدردانی

این مقاله بدون هیچ‌گونه حمایت مالی و با هزینه‌ی نویسندگان انجام شده است.

### References

- de Almada CN, Almada CN, Martinez RCR, Sant'Ana AS. Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends Food Sci Technol* 2016; 58: 96-114.
- Rabbani Khorasgani M, Mansouri Tehrani H. Overview of recombinant probiotics. *Genetics in the 3<sup>rd</sup> Millennium* 2013; 11(4): 3326-37. [In Persian].
- Shokri D, Khorasgani MR, Mohkam M, Fatemi SM, Ghasemi Y, Taheri-Kafrani A. The inhibition effect of lactobacilli against growth and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Probiotics Antimicrob Proteins* 2018; 10(1): 34-42.
- Golnari Maranni M, Rabbani Khorasgani M, Asadollahi M A, Shafiei R. Evaluation of Antimicrobial activity of bacillus strains isolated from various resources. *J Arak Univ Med Sci* 2017; 19(11): 68-78. [In Persian].
- Ahmadi Majd S, Khorasgani M, Emami SH, Talebi A, Mohammadi Gholami A. Study of diabetic cutaneous wound healing in rats treated with *Lactobacillus casei* and its exopolysaccharide. *Int J Adv Biotechnol Res* 2016; 7(3): 2083-92.
- Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes Nutr* 2011; 6(3): 261-74.
- Bermudez-Brito M, Plaza-Diaz J, Munoz-Quezada S, Gomez-Llorente C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab* 2012; 61(2): 160-74.
- Bienenstock J, Gibson G, Klaenhammer TR, Walker WA, Neish AS. New insights into probiotic mechanisms: a harvest from functional and metagenomic studies. *Gut Microbes* 2013; 4(2): 94-100.
- Rabbani Khorasgani M, Shafiei R. Traditional yogurt as a source of lactobacilli and other lactic acid bacteria in Iran. In: Shah NP, editor. *Yogurt in health and disease prevention*. Cambridge, MA: Academic Press; 2017. p. 285-94.
- Shigwedha N, Sichel L, Jia L, Zhang L. Probiotic cell fragments (PCFs) as "Novel Nutraceutical Ingredients". *J Biosci Med* 2014; 2(3): 43-55.
- Taverniti V, Stuknyte M, Minuzzo M, Arioli S, De Noni I, Scabiosi C, et al. S-layer protein mediates the stimulatory effect of *Lactobacillus helveticus* MIMLh5 on innate immunity. *Appl Environ Microbiol* 2013; 79(4): 1221-31.
- Sartor RB. Review article: the potential mechanisms of action of rifaximin in the management of inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2016; 43(Suppl 1): 27-36.
- Doern CD, Nguyen ST, Afolabi F, Burnham CA. Probiotic-associated aspiration pneumonia due to *Lactobacillus rhamnosus*. *J Clin Microbiol* 2014; 52(8): 3124-6.
- Sadowska-Krawczenko I, Paprzycka M, Korbal P, Wiatrzyk A, Krysztopa-Grzybowska K, Polak M, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG suspected infection in a newborn with intrauterine growth restriction. *Benef Microbes* 2014; 5(4): 397-402.
- Oggioni MR, Pozzi G, Valensin PE, Galieni P, Bigazzi C. Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of *Bacillus subtilis*. *J Clin Microbiol* 1998; 36(1): 325-6.
- Resnik R. Intrauterine growth restriction. *Obstet Gynecol* 2002; 99(3): 490-6.
- Ogier JC, Serror P. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Enterococcus* genus. *Int J Food Microbiol* 2008; 126(3): 291-301.
- Mathur S, Singh R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria--a review. *Int J Food Microbiol* 2005; 105(3): 281-95.
- Gueimonde M, Sanchez B, Los Reyes-Gavilan Gd, Margolles A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Front Microbiol* 2013; 4: 202.
- Duranti S, Lugli GA, Mancabelli L, Turroni F, Milani C, Mangifesta M, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes among human gut-derived bifidobacteria. *Appl Environ Microbiol* 2017; 83(3): e02894-16.
- Dash G, Raman RP, Pani PK, Makesh M, Pradeep MA, Sen S. Evaluation of paraprobiotic applicability of *Lactobacillus plantarum* in improving the immune response and disease protection in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Fish Shellfish Immunol* 2015; 43(1): 167-74.
- Sawada D, Sugawara T, Ishida Y, Aihara K, Aoki Y, Takehara I, et al. Effect of continuous ingestion of a beverage prepared with *Lactobacillus gasseri* CP2305 inactivated by heat treatment on the regulation of intestinal function. *Food Research International* 2016; 79: 33-9.
- Sombolestani AS. Stabilization of lactic acid bacteria isolated from traditional Iranian dairy products and the study of the antimicrobial effects of milk peptides produced by them [MSc Thesis]. Isfahan, Iran: School of Sciences, University of Isfahan; 2017. [In Persian].
- Shafiei R, Delvigne F, Babanezhad M, Thonart P. Evaluation of viability and growth of *Acetobacter senegalensis* under different stress conditions. *Int J Food Microbiol* 2013; 163(2-3): 204-13.

25. Shafiei R, Delvigne F, Thonart P. Flow-cytometric assessment of damages to *Acetobacter senegalensis* during freeze-drying process and storage. *Acetic Acid Bacteria* 2013; 2(1s): e10.
26. Shafiei R, Zarmehrkhorshid R, Bentaib A, Babanezhad M, Leprince P, Delvigne F, et al. The role of protein modifications in senescence of freeze-dried *Acetobacter senegalensis* during storage. *Microb Cell Fact* 2014; 13(1): 26.
27. Cruz AG, Castro WF, Faria JAF, Bolini HMA, Celeghini RMS, Raices RSL, et al. Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage. *Food Research International* 2013; 51(2): 723-8.
28. Kim JY, Park BK, Park HJ, Park YH, Kim BO, Pyo S. Atopic dermatitis-mitigating effects of new *Lactobacillus* strain, *Lactobacillus sakei* probio 65 isolated from Kimchi. *J Appl Microbiol* 2013; 115(2): 517-26.
29. Zeng J, Jiang J, Zhu W, Chu Y. Heat-killed yogurt-containing lactic acid bacteria prevent cytokine-induced barrier disruption in human intestinal Caco-2 cells. *Ann Microbiol* 2016; 66(1): 171-8.
30. Yang HL, Xia HQ, Ye YD, Zou WC, Sun YZ. Probiotic *Bacillus pumilus* SE5 shapes the intestinal microbiota and mucosal immunity in grouper *Epinephelus coioides*. *Dis Aquat Organ* 2014; 111(2): 119-27.
31. Nakamura S, Kuda T, An C, Kanno T, Takahashi H, Kimura B. Inhibitory effects of *Leuconostoc mesenteroides* IRM3 isolated from narezushi, a fermented fish with rice, on *Listeria monocytogenes* infection to Caco-2 cells and A/J mice. *Anaerobe* 2012; 18(1): 19-24.
32. Sugawara T, Sawada D, Ishida Y, Aihara K, Aoki Y, Takehara I, et al. Regulatory effect of paraprobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 on gut environment and function. *Microb Ecol Health Dis* 2016; 27: 30259.
33. Nishida K, Sawada D, Kuwano Y, Tanaka H, Sugawara T, Aoki Y, et al. Daily administration of paraprobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 ameliorates chronic stress-associated symptoms in Japanese medical students. *J Funct Foods* 2017; 36: 112-21.
34. Sawada D, Kawai T, Nishida K, Kuwano Y, Fujiwara S, Rokutan K. Daily intake of *Lactobacillus gasseri* CP2305 improves mental, physical, and sleep quality among Japanese medical students enrolled in a cadaver dissection course. *J Funct Foods* 2017; 31: 188-97.
35. Good M, Sodhi CP, Ozolek JA, Buck RH, Goehring KC, Thomas DL, et al. *Lactobacillus rhamnosus* HN001 decreases the severity of necrotizing enterocolitis in neonatal mice and preterm piglets: Evidence in mice for a role of TLR9. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2014; 306(11): G1021-G1032.
36. Awad H, Mokhtar H, Imam SS, Gad GI, Hafez H, Aboushady N. Comparison between killed and living probiotic usage versus placebo for the prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in neonates. *Pak J Biol Sci* 2010; 13(6): 253-62.
37. Lopez M, Li N, Kataria J, Russell M, Neu J. Live and ultraviolet-inactivated *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease flagellin-induced interleukin-8 production in Caco-2 cells. *J Nutr* 2008; 138(11): 2264-8.
38. Shin HS, Park SY, Lee DK, Kim SA, An HM, Kim JR, et al. Hypocholesterolemic effect of sonication-killed *Bifidobacterium longum* isolated from healthy adult Koreans in high cholesterol fed rats. *Arch Pharm Res* 2010; 33(9): 1425-31.
39. Dehlink E, Domig KJ, Loibichler C, Kampl E, Eirwegger T, Georgopoulos A, et al. Heat- and formalin-inactivated probiotic bacteria induce comparable cytokine patterns in intestinal epithelial cell-leucocyte cocultures. *J Food Prot* 2007; 70(10): 2417-21.
40. Markowicz C, Kubiak P, Grajek W, Schmidt MT. Inactivation of *Lactobacillus rhamnosus* GG by fixation modifies its probiotic properties. *Can J Microbiol* 2016; 62(1): 72-82.
41. Kawase M, He F, Kubota A, Yoda K, Miyazawa K, Hiramatsu M. Heat-killed *Lactobacillus gasseri* TMC0356 protects mice against influenza virus infection by stimulating gut and respiratory immune responses. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012; 64(2): 280-8.
42. Kamiya T, Wang L, Forsythe P, Goettsche G, Mao Y, Wang Y, et al. Inhibitory effects of *Lactobacillus reuteri* on visceral pain induced by colorectal distension in Sprague-Dawley rats. *Gut* 2006; 55(2): 191-6.
43. van Hoffen E, Korthagen NM, de Kivit S, Schouten B, Bardoel B, Duivelshof A, et al. Exposure of intestinal epithelial cells to UV-killed *Lactobacillus* GG but not *Bifidobacterium breve* enhances the effector immune response in vitro. *Int Arch Allergy Immunol* 2010; 152(2): 159-68.
44. Salinas I, Diaz-Rosales P, Cuesta A, Meseguer J, Chabrilion M, Morinigo MA, et al. Effect of heat-inactivated fish and non-fish derived probiotics on the innate immune parameters of a teleost fish (*Sparus aurata* L.). *Vet Immunol Immunopathol* 2006; 111(3-4): 279-86.
45. Maeda N, Nakamura R, Hirose Y, Murosaki S, Yamamoto Y, Kase T, et al. Oral administration of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 enhances protection against influenza virus infection by stimulation of type I interferon production in mice. *Int Immunopharmacol* 2009; 9(9): 1122-5.
46. Goto H, Sagitani A, Ashida N, Kato S, Hirota T, Shinoda T, et al. Anti-influenza virus effects of both live and non-live *Lactobacillus acidophilus* L-92 accompanied by the activation of innate immunity. *Br J Nutr* 2013; 110(10): 1810-8.
47. Fujii T, Jounai K, Horie A, Takahashi H, Suzuki H, Ohshio K, et al. Effects of heat-killed *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* JCM 5805 on mucosal and systemic immune parameters, and antiviral reactions to influenza virus in healthy adults; a randomized controlled double-blind study. *J Funct Foods* 2017; 35: 513-21.
48. Kawase M, He F, Miyazawa K, Kubota A, Yoda K, Hiramatsu M. Orally administered heat-killed *Lactobacillus gasseri* TMC0356 can upregulate cell-mediated immunity in senescence-accelerated mice. *FEMS Microbiol Lett* 2012; 326(2): 125-30.
49. Kimoto-Nira H, Mizumachi K, Okamoto T, Sasaki K, Kurisaki J. Influence of long-term consumption of a *Lactococcus lactis* strain on the intestinal immunity and intestinal flora of the senescence-accelerated

- mouse. *Br J Nutr* 2009; 102(2): 181-5.
50. Miyazawa K, Kawase M, Kubota A, Yoda K, Harata G, Hosoda M, et al. Heat-killed *Lactobacillus gasseri* can enhance immunity in the elderly in a double-blind, placebo-controlled clinical study. *Benef Microbes* 2015; 6(4): 441-9.
  51. Kimoto-Nira H, Suzuki C, Kobayashi M, Sasaki K, Kurisaki J, Mizumachi K. Anti-ageing effect of a lactococcal strain: Analysis using senescence-accelerated mice. *Br J Nutr* 2007; 98(6): 1178-86.
  52. Shreiner AB, Kao JY, Young VB. The gut microbiome in health and in disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2015; 31(1): 69-75.
  53. Imaoka A, Shima T, Kato K, Mizuno S, Uehara T, Matsumoto S, et al. Anti-inflammatory activity of probiotic *Bifidobacterium*: enhancement of IL-10 production in peripheral blood mononuclear cells from ulcerative colitis patients and inhibition of IL-8 secretion in HT-29 cells. *World J Gastroenterol* 2008; 14(16): 2511-6.
  54. Shimizu K, Sato H, Suga Y, Yamahira S, Toba M, Hamuro K, et al. The effects of *Lactobacillus pentosus* strain b240 and appropriate physical training on salivary secretory IgA levels in elderly adults with low physical fitness: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Biochem Nutr* 2014; 54(1): 61-6.
  55. Shinkai S, Toba M, Saito T, Sato I, Tsubouchi M, Taira K, et al. Immunoprotective effects of oral intake of heat-killed *Lactobacillus pentosus* strain b240 in elderly adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Nutr* 2013; 109(10): 1856-65.
  56. Noh DO, Kim SH, Gilliland SE. Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *J Dairy Sci* 1997; 80(12): 3107-13.
  57. Kimoto H, Ohmomo S, Okamoto T. Cholesterol removal from media by lactococci. *J Dairy Sci* 2002; 85(12): 3182-8.
  58. Rios-Covian D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Gueimonde M, de Los Reyes-Gavilan CG, Salazar N. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Front Microbiol* 2016; 7: 185.
  59. Ueno N, Fujiya M, Segawa S, Nata T, Moriichi K, Tanabe H, et al. Heat-killed body of *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates intestinal injury in a murine model of colitis by enhancing the intestinal barrier function. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17(11): 2235-50.
  60. Thakur BK, Saha P, Banik G, Saha DR, Grover S, Batish VK, et al. Live and heat-killed probiotic *Lactobacillus casei* Lbs2 protects from experimental colitis through Toll-like receptor 2-dependent induction of T-regulatory response. *Int Immunopharmacol* 2016; 36: 39-50.
  61. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermudez-Humaran LG, Gratadoux JJ, et al. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(43): 16731-6.
  62. Louis P, Scott KP, Duncan SH, Flint HJ. Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine. *J Appl Microbiol* 2007; 102(5): 1197-208.
  63. Kaila M, Isolauri E, Saxelin M, Arvilommi H, Vesikari T. Viable versus inactivated *Lactobacillus* strain GG in acute rotavirus diarrhoea. *Arch Dis Child* 1995; 72(1): 51-3.
  64. Rampengan NH, Manoppo J, Warouw SM. Comparison of efficacies between live and killed probiotics in children with lactose malabsorption. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2010; 41(2): 474-81.
  65. Rafta J. The effects of probiotics on colon cancer development. *Nutr Res Rev* 2004; 17(2): 277-84.
  66. Mansouri-Tehrani HA, Rabbani-Khorasgani M, Hosseini SM, Mokarian F, Mahdavi H, Roayaei M. Effect of supplements: Probiotics and probiotic plus honey on blood cell counts and serum IgA in patients receiving pelvic radiotherapy. *J Res Med Sci* 2015; 20(7): 679-83.
  67. Smith KR, Veranth JM, Hu AA, Lighty JS, Aust AE. Interleukin-8 levels in human lung epithelial cells are increased in response to coal fly ash and vary with the bioavailability of iron, as a function of particle size and source of coal. *Chem Res Toxicol* 2000; 13(2): 118-25.
  68. Volpin G, Cohen M, Assaf M, Meir T, Katz R, Pollack S. Cytokine levels (IL-4, IL-6, IL-8 and TGFbeta) as potential biomarkers of systemic inflammatory response in trauma patients. *Int Orthop* 2014; 38(6): 1303-9.
  69. Zhang L, Li N, Caicedo R, Neu J. Live and dead *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 production in Caco-2 cells. *J Nutr* 2005; 135(7): 1752-6.
  70. Shin R, Itoh Y, Kataoka M, Iino-Miura S, Miura R, Mizutani T, et al. Anti-tumor activity of heat-killed *Lactobacillus plantarum* BF-LP284 on Meth-A tumor cells in BALB/c mice. *Int J Food Sci Nutr* 2016; 67(6): 641-9.
  71. Isolauri E. Probiotics in human disease. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(6): 1142S-6S.
  72. Cukrowska B, Motyl I, Kozakova H, Schwarzer M, Gorecki RK, Klewicka E, et al. Probiotic *Lactobacillus* strains: In vitro and in vivo studies. *Folia Microbiol (Praha)* 2009; 54(6): 533-7.
  73. Cukrowska B, Rosiak I, Klewicka E, Motyl I, Schwarzer M, Libudzisz Z, et al. Impact of heat-inactivated *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus paracasei* strains on cytokine responses in whole blood cell cultures of children with atopic dermatitis. *Folia Microbiol (Praha)* 2010; 55(3): 277-80.
  74. Peng GC, Hsu CH. The efficacy and safety of heat-killed *Lactobacillus paracasei* for treatment of perennial allergic rhinitis induced by house-dust mite. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16(5): 433-8.
  75. Lievin-Le Moal V, Sarrazin-Davila LE, Servin AL. An experimental study and a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial to evaluate the antisecretory activity of *Lactobacillus acidophilus* strain LB against nonrotavirus diarrhea. *Pediatrics* 2007; 120(4): e795-e803.
  76. Ou CC, Lin SL, Tsai JJ, Lin MY. Heat-killed lactic acid bacteria enhance immunomodulatory potential by skewing the immune response toward Th1 polarization. *J Food Sci* 2011; 76(5): M260-M267.

## Paraprobiotics: A Solution to Leave Problems of the Production and Consumption of Probiotics

Atena Sadat Sombolestani<sup>1</sup>, Rasoul Shafiei<sup>2</sup>, Mohammad Rabbani-Khorasgani<sup>3</sup>

### Review Article

#### Abstract

Probiotics are one of the innovative, effective and accepted ways to mitigate acuteness, and to help cure some diseases at the present era. However, there are some limitations in manufacturing and using live bacteria. Paraprobiotics are of the new methods that can handle these problems at the large scale. They are defined as non-viable form of probiotics that can be utilized as intact or broken cells, and also as cell extract. Treatment of some diseases in human and animals has been demonstrated in case of using edible or topical application of paraprobiotics. In this review, after introducing paraprobiotics and their production techniques, their effects on human health is presented based on researches conducted during the past two decades, especially recent studies.

**Keywords:** Paraprobiotics, Probiotics, Immune system, Health

**Citation:** Sombolestani AS, Shafiei R, Rabbani-Khorasgani M. **Paraprobiotics: A Solution to Leave Problems of the Production and Consumption of Probiotics.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(468): 131-41.

1- Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Rasoul Shafiei, Email: ra.shafiei@gmail.com

## *Editorial Board (In alphabetical order)*

1. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada; khosrow.adeli@sickkids.ca
2. **Ali Akhavan** MD, Assistant Professor of Radiation Oncology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran ali52akhavan@yahoo.com
3. **Mohammadreza Akhlaghi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; akhlaghi@med.mui.ac.ir
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran; aminr@sums.ac.ir
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran amra@med.mui.ac.ir
6. **Saeed A. Jortani** PhD, Professor of Pathology, University of Louisville, Louisville, KY, USA; sajort01@louisville.edu
7. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; bagherian@med.mui.ac.ir
8. **Majid Barekatin** MD, Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran barekatin@med.mui.ac.ir
9. **Ken Bassett** MD, PhD, Professor of Therapeutics Initiative, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada; bassett@chspr.ubc.ca
10. **Ahmad Chitsaz** MD, Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; chitsaz@med.mui.ac.ir
11. **Afsoon Emami-Naini** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; af\_emami@med.mui.ac.ir
12. **Shahin Emami** Department of Biochemistry, Saint Antoine Hospital, Paris, France; shahin.emami@cgc.edu
13. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; esfandiari@med.mui.ac.ir
14. **Ahmad Esmailzadeh** PhD, Professor of Nutrition, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; esmaillzadeh@hlth.mui.ac.ir
15. **Ziba Farajzadegan** MD, Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; farajzadegan@med.mui.ac.ir
16. **Aziz Gahari** MD, Professor Plastic Surgery, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada; aziz.ghahary@ubc.ca
17. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; golshahi@med.mui.ac.ir
18. **Mostafa Hashemi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mostafahashemi60@gmail.com
19. **Saied Morteza Heidari** MD, Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m\_heidari@med.mui.ac.ir
20. **Ali Hekmatnia** MD, Professor of Radiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; hekmatnia@med.mui.ac.ir
21. **Fariba Iraj** MD, Professor of Dermatology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; iraji@med.mui.ac.ir
22. **Faramarz Ismail-Beigi** MD, PhD, Professor of Endocrinology, University Hospitals Cleveland Medical Center, Cleveland, OH, USA; faramarz.ismail-beigi@case.edu
23. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; kelishadi@med.mui.ac.ir
24. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics and Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; khani@med.mui.ac.ir
25. **Majid Kheirollahi** PhD, Associate Professor of Genetics and Molecular Biology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mkheirollahi@med.mui.ac.ir
26. **Parvin Mahzouni** MD, Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mahzouni@med.mui.ac.ir
27. **Marjan Mansourian** PhD, Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; j\_mansourian@hlth.mui.ac.ir
28. **Mohammad Mardani** MD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mardani@med.mui.ac.ir
29. **Mehdi Modarres-Zadeh** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; mmodarres51@yahoo.com
30. **Etie Moghisi** MD, Associate Professor of Endocrinology, Marina Diabetes and Endocrinology Center, Marina del Rey, CA, USA; emoghissi@gmail.com
31. **Mohammadreza Nourbakhsh** PhD, Professor of Physiotherapy, North Georgia College, Dahlonega, GA, USA; reza.nourbakhsh@ung.edu
32. **Farzin Pourfarzad** PhD, Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands; f.pourfarzad@erasmusmc.nl
33. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m\_pourmoghadas@med.mui.ac.ir
34. **Maryam Radahmadi** PhD, Assistant Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m\_radahmadi@med.mui.ac.ir
35. **Hassan Razmjou** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; razmjou@med.mui.ac.ir
36. **Reza Rouzbahani** MD, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; rouzbahani@med.mui.ac.ir
37. **Masih Saboori** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; saboori@edc.mui.ac.ir
38. **Mohammad Reza Safavi** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; safavi@med.mui.ac.ir
39. **Rasoul Salehi** PhD, Assistant Professor of Genetics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; r\_salehi@med.mui.ac.ir
40. **Mansour Sholevar** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; sholevar@med.mui.ac.ir
41. **Mohammadreza Sharifi** MD, PhD, Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; sharifi@med.mui.ac.ir
42. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran; masoud\_soheilian@yahoo.com



## JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 36, No. 468, 4<sup>th</sup> Week April 2018

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman: **Mansour Sholehvar MD**

Emerita Editor-in-Chief: **Roya Kelishadi MD**

Editor-in-Chief: **Majid Berekatain MD**

Associate Editor: **Maryam Radahmadi PhD**

---

### Owner:

Isfahan University of Medical Sciences  
Email: [publications@mui.ac.ir](mailto:publications@mui.ac.ir)

### Office:

P.O. Box 81744-176, Isfahan, Iran  
Tel/fax: +98 31 37922291  
Email: [jims@med.mui.ac.ir](mailto:jims@med.mui.ac.ir)  
Website: <http://jims.mui.ac.ir>

Executive Manager: Ali Moradi, Office Secretary: Golnaz Rajabi

### Publisher:

Vesnu Publications

Email: [farapublications@gmail.com](mailto:farapublications@gmail.com)  
<http://farapub.com>

Tel/fax: +98 31 32224382  
Circulation: 500

---

### This journal is indexed in the following international indexers

- Scopus
- Chemical Abstracts
- Islamic World Science Citation Center (ISC)
- Academic Search Complete EBSCO Publishing databases
- WHO/EMRO/Index Medicus
- Google Scholar
- Index Copernicus
- Directory of Open Access Journal (DOAJ)
- Index Academicus
- Scientific Information Database ([www.sid.ir](http://www.sid.ir))
- [www.iranmedex.com](http://www.iranmedex.com)

---

The online version is available in; IUMS website ([www.journals.mui.ac.ir/jims](http://www.journals.mui.ac.ir/jims)), Iran Publications database ([www.magiran.com](http://www.magiran.com)), Scientific Information Database website ([www.sid.ir](http://www.sid.ir)) and in Health Researchers website ([www.iranmedex.com](http://www.iranmedex.com)).

Copyright: All rights reserved, no part may be reproduced without the prior permission of the publisher.