دارای رتبه علمی-پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

شماره استاندارد بین المللی: ۱۰۲۷-۷۵۹۵
شماره استاندارد آن لاین: ۱۷۳۵-۸۵۴x

هفته‌نامه

سال سی و دوم/شماره ۲۷۳/ هفته دوم فروردین ۱۳۹۳

Print ISSN: 1027-7595
Online ISSN: 1735-854x

Weekly Vol. 32, No. 273, 2nd Week, April 2014

مقاله‌های پژوهشی

بررسی بیان چندین ژن سرطانی بیضه‌ای در چندین رده‌ی سلولی سرطان پستان.....۵۰
شمس‌الدین یوسف آملی، دکتر لیلا کوکبی، دکتر کیوان مجیدزاده اردبیلی، رضوان اسماعیلی، دکتر حمزه رحیمی ، فهیمه مریمی، دکتر مرتضی کریمی‌پور

سطح سرمی کروم در افراد پره‌دیابت.....۵۹
دکتر زهرا ترابی، دکتر رحمت‌اله رفیعی، دکتر زهرا حبیبی، دکتر لطف‌اله فولادی، دکتر سمیه نجفی، دکتر صدیقه عسگری

شناسایی مولکولی و مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین اشریشیاکلی در کودکان زیر ۵ سال شهر یاسوج.....۶۷
دکتر محمد کارگر، وحید آیین، دکتر عباس دوستی، محسن غلامی، مریم همایون

جداسازی Sarcocystis hirsuta از همبرگر سنتی تولیدی در ایران.....۷۹
دکتر بهادر حاجی محمدی، دکتر علی دهقانی، مهسا مقدم احمدی، دکتر گیلدا اسلامی، دکتر احمد عریان، دکتر سید علی یاسینی اردکانی، امین ظهورتبار، فرزانه میرزایی

نامه به سردبیر

زنجبیل و نفروپاتی دیابتی.....۸۶
دکتر محمود رفیعیان کوپایی، دکتر فاطمه قائد امینی، دکتر حمید نصری

Original Articles

Expression of Multiple Cancer/Testis Genes in Several Breast Cancer Cell Lines.....58
Shamseddin Yousef-Amoli MSc, Leila Kokabee PhD, Keyvan Majidzadeh-Ardebili PhD, Rezvan Esmaeili MSc, Hamzeh Rahimi PhD, Fahimeh Maryami, Morteza Karimipour PhD

Assessment of Chromium Levels in Patients with Prediabetes.....66
Zahra Torabi MD, Rahmatollah Rafiei MD, Zahra Habibi MD, Lootfollah Fouladi MD, Somayeh Najafi MD, Sedigheh Asgary PhD

Molecular Identification and Antibiotic Resistance of Shigatoxigenic Escherichia Coli Strains in Children of the Age of Under 5-Years with Diarrhea in Yasuj, Iran.....78
Mohammad Kargar PhD, Vahid Aein MSc, Abbas Doosti PhD, Mohsen Gholami MSc, Maryam Homayoon MSc

Isolation of Sarcocystis Hirsuta from Traditional Hamburger of Iran.....85
Bahador Hajimohammadi PhD, Ali Dehghani PhD, Mahsa Moghaddam-Ahmadi MSc, Gilda Eslami PhD, Ahmad Oryan PhD, Seyed Ali Yasini-Ardakani PhD, Amin Zohourtabar MSc, Farzaneh Mirzaei MSc

Letter to Editor

Ginger and Diabetic Nephropathy: A Letter to the Editor.....89
Mahmoud Rafieian-Kopaei PhD, Fatemeh Ghaed-Amini MD, Hamid Nasri MD

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۲۷۳)، هفته دوم فروردین ۱۳۹۳

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 رضا روزبهانی

ناشر:
انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
E-mail: publications@mui.ac.ir
دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶
مسؤول دفتر: گلناز رجبی
تلفن: ۶۶۹۴۷۳۷-۰۳۱۱ **دورنگار:** ۷۹۲۲۲۹۱-۰۳۱۱
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
وب سایت مجله: http://www.journals.mui.ac.ir/jims

امور نشر:
(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)
شرکت فرزانگان راداندیش
اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵
تلفن و دورنگار: ۶۶۸۶۳۰۲-۰۳۱۱

f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
تیراژ: ۵۰۰ نسخه

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 مجتبی ابطحی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، متخصص علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر محمد اسماعیل اکبری	استاد، فوق تخصص جراحی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، متخصص داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، آمریکا
۵- دکتر افسون امامی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۶- شاهین امامی	گروه بیوشیمی و غدد داخلی، بیمارستان سن آنتونیو، فرانسه
۷- دکتر علیرضا امامی	دانشیار، متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص اطفال، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر کن باست	استاد، متخصص بیماری‌های پوستی، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۱۱- دکتر رضا باقریان سرارودی	استادیار، متخصص روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۲- دکتر مجید برکتین	دانشیار، متخصص روانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- فرزین پور فرزاد	گروه زیست شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند
۱۴- دکتر مسعود پورمقدس	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۵- دکتر احمد چیت‌ساز	دانشیار، متخصص داخلی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر مینا حسن رضایی	متخصص نورو ایمونولوی، دانشکده‌ی داروسازی، آمریکا
۱۷- دکتر سید مرتضی حیدری	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۸- دکتر بهناز خانی	دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۹- دکتر مجید خزاعی	دانشیار، متخصص فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۳- دکتر منصور شعله‌ور	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۴- دکتر محمدرضا صفوی	استادیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۵- دکتر خسرو عادلی	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۲۶- دکتر سعید عندلیب	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لویس ویل، آمریکا
۲۷- دکتر غلامرضا عسکری	متخصص بیماری‌های پوستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر زیبا فرج‌زادگان	دانشیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر حمید فشارکی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۰- دکتر مرجانه فولادی	دکترای پرستاری، دانشگاه فلوریدا، آمریکا
۳۱- دکتر علی قیصری	استاد، فوق تخصص جراحی قلب، کالیفرنیا، امریکا
۳۲- دکتر منصور کارآموز	استاد، متخصص اورولوژی، کالیفرنیا، امریکا
۳۳- دکتر رویا کلیشادی	استاد، متخصص اطفال، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، فوق تخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۵- دکتر عزیز گهری	استاد، متخصص بیماری‌های پوستی، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۳۶- دکتر پروین محزونی	دانشیار، فوق تخصص آسیب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۷- دکتر سید مهدی مدرس	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۸- دکتر محمد مردانی	دانشیار، متخصص علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۹- دکتر هوشنگ معین	استاد، متخصص جراحی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۰- دکتر اتیه مغیثی	استاد، متخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، امریکا
۴۱- دکتر مجید ملکی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴۲- دکتر محمدرضا نوربخش	دانشیار، متخصص فیزیوتراپی، آمریکا
۴۳- دکتر فریدون نوحی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
۴۴- دکتر علی محمد هنجنی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

۱- **اهداف و چشم انداز:** مجله دانشکده پزشکی اصفهان به صورت هفته‌نامه و تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد.

۲- این مجله مقالات اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را منتشر می‌نماید و همچنین فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین را بر روی وب سایت مجله قرار می‌دهد.

۳- **پذیرش دست‌نوشته:** پذیرش دست نوشته‌ها و پیگیری‌های بعدی در این مجله فقط از طریق وب سایت اختصاصی آن به آدرس http://www.journals.mui.ac.ir/jims و پس از ثبت نام (Registration) در آن ممکن می‌باشد. همراه دست نوشته باید یک نامه تایپ شده (Covering letter) به سردبیر، شامل عنوان و اسامی نویسنده یا نویسندگان و اعلام این که این دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است و یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد، ارسال گردد.

۴- دست‌نوشته باید توسط نرم‌افزار MS Word در سایز A_4 و فاصله خطوط دو برابر (Double Spaced) با حاشیه‌های ۲/۵ سانتی‌متری تهیه شوند. جداول بدون حاشیه خارجی و تصاویر در فرمت GIF و JPEG و در تعداد محدود باشند. ارسال مدارک با فرمت PDF به هیچ عنوان پذیرفته نیست.

۵- دست نوشته باید شامل صفحه عنوان، چکیده، مقدمه ، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع باشد.
صفحه عنوان: این صفحه بایدشامل عنوان کامل،عنوان مکرری، اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان و همچنین آدرس، تلفن، فاکس و پست الکترونیکی نویسنده مسؤول باشد. ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی در این صفحه ضروری است.

۶- **چکیده:** تمام مقالات اصلی باید دارای چکیده مقاله به دو زبان فارسی و انگلیسی با حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد. چکیده باید شامل بخش‌های سابقه علمی موضوع، روش‌ها، یافته‌ها و بحث باشد. در پایان چکیده مقاله ۵-۳ کلمه کلیدی قرار می‌گیرد که تنها با استفاده از راهنمای MESH در آدرس (http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html) استخراج گردند.

۷- **مقدمه و معرفی:** در این بخش اهداف و علل انجام مطالعه آورده می‌شود؛ بنابراین نیازی به ارائه گسترده مطالب موجود در متون علمی نیست. در این بخش باید از ارائه اطلاعات، یافته‌های و نتایج مطالعه خودداری گردد.

۸- **روش‌ها:** این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط منبع آن ذکر گردد اما اگر روشی نوین است، باید به صورتی توضیح داده شود که برای سایر محققان قابل درک و به طور عینی قابل انجام و تکرار باشد. در صورت استفاده از دستگاه و تجهیزات خاص باید نام، نام کارخانه سازنده و آدرس آن در پرانتز ذکر گردد. اگر از دارو در مطالعه استفاده شده است باید نام ژنریک، دوز و روش مصرف آن آورده شود. در مورد افراد و بیماران تحت مطالعه باید جنس و سن (همراه انحراف معیار) آورده شود. در مورد نرم‌افزارها و سیستم‌های کامپیوتری باید سال و ویرایش آن در پرانتز و پس از نام آن ذکر گردد. در صورتی که مطالعه دارای پرسش‌نامه یا چک لیست است، ضمیمه کردن آن لازم است؛ در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

۹- **یافته‌ها:** این بخش به صورت متن همراه با جدول‌ها، شکل‌ها و نمودارها ارائه می‌گردد. محتوای جداول نباید به صورت کامل در متن ارائه شوند، بلکه کافی است با ذکر شماره جدول، شکل و یا نمودار به آنها اشاره شود. جدول‌ها، نمودارها و شکل‌ها هر کدام باید در یک صفحه جداگانه و پس از منابع، در پایان دست‌نوشته آورده شوند. در این بخش فقط یافته‌ها ارائه می‌شود و باید از ذکر دلایل و استدلال‌های مرتبط با آن خودداری گردد.

۱۰- **بحث:** در این بخش در ابتدا به یافته‌های مهم اساسی مطالعه و سپس تشابه و تفاوت‌های آن با یافته‌های سایر پژوهشگران در مطالعات مشابه اشاره می‌گردد. ذکر جزئیات کامل یافته‌ها در این بخش لازم نیست. تأکید بر یافته‌های جدید و با اهمیت مطالعه حاضر و دستاوردهای آن در این قسمت ضروری است. ذکر این که فرضیه ارائه شده در مطالعه صحیح یا نادرست بوده، یا این که دلایل کافی برای رد یا قبول آن به دست نیامده است، ضروری می‌باشد. هدف این بخش، ذکر دلیل اصلی انجام تحقیق، تحلیل و تفسیر یافته‌ها و همچنین نتیجه‌گیری کلی (Conclusion) است.

۱۱- **تقدیر و تشکر:** تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند باید در این بخش مورد تقدیر قرار گیرند؛ از جمله کسانی که کمک‌های فنی، نوشتاری و مالی داده و همچنین سرپرستان و مدیران بخش‌های محل انجام مطالعه که در امر پشتیبانی‌های عمومی در اجرای تحقیق فعالیت داشته‌اند.

۱۲- **جدول‌ها:** تعداد محدود جدول با توجه به حجم مطالعه و مقاله، همراه با ذکر عنوان آن در بالای جدول مورد قبول خواهد بود. ارسال جداول فقط تحت نرم‌افزار MSWord مورد قبول است. توضیحات اضافی در خصوص محتوای جداول باید به صورت پی‌نوشته و در پایین جدول باشد. جدول‌ها باید در صفحات جداگانه و در پایان دست نوشته (پس از منابع) قرار داده شوند.

۱۳- **شکل‌ها:** تعداد محدود شکل همراه ذکر عنوان آن در زیر شکل یا نمودار و با فرمت GIF و JPEG قابل قبول است. اطلاعات موجود در شکل‌ها یا نمودارها نباید به طور کاملاً مشابه در جدول‌ها و یا متن مقاله ذکر شده باشند.

۱۴- **منابع:** نویسنده باید از صحت اشاره منابع ذکر شده به مطالب مورد استناد مطمئن باشد. ساختار منابع در این مجله بر اساس Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Bio Medical Journals (ICMJE) و معاهده ونکوور (Vancouver) می‌باشد. تمامی منابع باید به زبان انگلیسی باشد، ترجمه متن منابع فارسی به عهده نویسنده است و در پایان آن عبارت [Persian] خواهد آمد. موارد ذیل برای نمونه ذکر می‌گردد:

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

نام خانوادگی نویسنده، حرف اول نام کوچک نویسنده، عنوان مقاله، مخفف نام مجله (بر اساس Medline)، سال انتشار، شماره‌ی انتشار، شماره‌ی مجله، شماره‌ی صفحات. مثال:

(EN): Inser N. Treatment of calcific aortic stenosis. Am J Cardiol 1987; 59(6): 314-7.

(FA): Zini F, Basiri Jahromo Sh. Study of fungal infections in patients with leukemia. Iranian journal of public health 1994; 1(4):89-103.[Persian].

(چنانچه تعداد نویسندگان ۶ نفر یا کم‌تر باشد، ذکر اسامی آن‌ها ضروری است. اگر تعداد آن‌ها ۷ نفر یا بیشتر باشد، پس از ۶ نفر، عبارت "et al." استفاده شود.)

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

نام خانوادگی و حرف اول نام کوچک نویسنده (نویسندگان). عنوان کتاب. نوبت چاپ. محل نشر: ناشر؛ سال انتشار. p. شماره صفحات (نام نویسندگان با علامت کاما از هم جدا شود). مثال:

(EN): Romenes GJ. Cunningham’s manual. 15th ed. New York: Oxford Univ Press; 1987.p.43-5.

(FA): Azizi F, Janghorbani M, Hatami H. Epidemiology and control of common disorders in Iran. 2nd ed. Tehran: Eshtiagh Publication; 2000.p.558.[Persian].

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

نام خانوادگی و حرف اول نام کوچک نویسنده (نویسندگان) آن فصل. عنوان فصل مورد نظر. در: نام خانوادگی و حرف اول نام تدوین کننده‌ی کتاب. عنوان کتاب. نوبت چاپ. محل نشر: نام ناشر؛ سال انتشار. p. صفحات. مثال:

(EN): Bodly L, Bailey Jr. Urinary tract infection. In: Tailor R, editor. Family medicine. 6th ed. New York: Springer; 2003.p. 807-13.

۱۵- **نمونه‌خوانی (Proofreading):** یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤول ارسال می‌گردد که لازم است در کوتاه‌ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وب‌سایت مجله ارسال نماید.

۱۶- **اختصارات و نشانه‌ها:** تنها از اختصارات و نشانه‌های استاندارد استفاده شود و از ذکر عبارت های مخفف در عنوان و خلاصه مقاله خودداری گردد.

۱۷- توضیح کامل در مورد هر کدام از عبارت‌های اختصاری برای اولین بار در متن آورده شود، مگر این که مربوط به مقیاس‌ها و مقادیر استاندارد شناخته شده باشد.

۱۸- پس از چاپ، یک نسخه از مجله برای نویسنده مسؤول ارسال خواهد شد.

۱۹- **ملاحظات اخلاقی:** این ملاحظات باید در بخش روش‌ها اشاره گردند. اخذ رضایت‌نامه از کلیه‌ی افراد بالغ شرکت کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأیید کننده‌ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.

۲۰- **تداخل منافع (Conflict of Interest):** نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق‌الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه‌ها، سازمان‌ها، نهادها، شرکت‌ها و سایر منابع که انتشار یافته‌های مطالعه می‌تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.

۲۱- **هزینه چاپ:** هیچ گونه هزینه‌ای برای چاپ مقالات در این مجله دریافت نمی‌شود.

۲۲- **حق نسخه‌برداری (Copyright):** تمامی محتویات مجله دانشکده پزشکی اصفهان تحت قانون حق نسخه‌برداری بین‌المللی قرار دارد. این مجله برای استفاده غیر تجاری در اختیار افراد قرار می‌گیرد. اصلاح، انتشار، انتقال و نمایش هر گونه محتویات مجله بدون ذکر نام این مجله ممنوع است.

۲۳- **فرآیند مرور دقیق (Peer Review):** تمام دست‌نوشته‌ها توسط حداقل ۳ نفر از داوران منتخب شورای نویسندگان مجله مورد بررسی دقیق قرار می‌گیرد. نویسنده‌ی مسؤول در کوتاه‌ترین زمان در جریان تصمیم سردبیر در مورد رد، قبول یا اصلاحات مورد نظر داوران و هیأت تحریریه قرار خواهد گرفت. در صورت پذیرش مقاله برای چاپ، نامه پذیرش به همراه ایمیل برای نویسنده‌ی مسؤول ارسال می‌شود و مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت.

۲۴- هیأت تحریریه در رد، اصلاح، ویرایش و خلاصه کردن مقاله آزاد است.

۲۵- مسؤولیت صحت یا سقم مطالب ارائه شده در مقاله بر عهده‌ی نویسنده یا نویسندگان است.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

بررسی بیان چندین ژن سرطانی بیضه‌ای در چندین رده‌ی سلولی سرطان پستان..... ۵۰
شمس‌الدین یوسف آملی، دکتر لیلا کوکبی، دکتر کیوان مجیدزاده اردبیلی، رضوان اسماعیلی، دکتر حمزه رحیمی ، فهیمه مریمی، دکتر مرتضی کریمی‌پور

سطح سرمی کروم در افراد پره‌دیابت..... ۵۹
دکتر زهرا ترابی، دکتر رحمت‌اله رفیعی، دکتر زهرا حبیبی، دکتر لطف‌اله فولادی، دکتر سمیه نجفی، دکتر صدیقه عسگری

شناسایی مولکولی و مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین اشریشیاکلی در کودکان زیر ۵ سال شهر یاسوج..... ۶۷
دکتر محمد کارگر، وحید آیین، دکتر عباس دوستی، محسن غلامی، مریم همایون

جداسازی Sarcocystis hirsuta از همبرگر سنتی تولیدی در ایران..... ۷۹
دکتر بهادر حاجی محمدی، دکتر علی دهقانی، مهسا مقدم احمدی، دکتر گیلدا اسلامی، دکتر احمد عریان، دکتر سید علی یاسینی اردکانی، امین ظهورتبار، فرزانه میرزایی

نامه به سردبیر

زنجبیل و نفروپاتی دیابتی..... ۸۶
دکتر محمود رفیعیان کوپایی، دکتر فاطمه قائد امینی، دکتر حمید نصری

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۷۳/هفته دوم فروردین ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۱۱

بررسی بیان چندین ژن سرطانی بیضه‌ای در چندین رده‌ی سلولی سرطان پستان

شمس‌الدین یوسف آملی[۱]، دکتر لیلا کوکبی[۲]، دکتر کیوان مجیدزاده اردبیلی[۳]، رضوان اسماعیلی[۴]، دکتر حمزه رحیمی[۲]، فهیمه مریمی[۵]، دکتر مرتضی کریمی‌پور[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ژن‌های سرطانی- بیضه‌ای (Cancer-testis genes) فقط در بافت طبیعی بیضه بیان می‌شوند؛ اما برخی از آن‌ها در بعضی از انواع سرطان‌ها بیان می‌شوند. این ژن‌ها می‌توانند کاندیدای امید بخشی برای درمان سرطان پستان باشند. این پژوهش برای بررسی فراوانی بیان این ژن‌ها در رده‌های سلولی سرطان پستان و مقایسه‌ی بیان آن‌ها در نمونه‌های سرطان پستان انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تحلیلی- توصیفی، پس از تهیه‌ی سه رده‌ی سلولی سرطان پستان (MCF-۷، BT-۲۰ و MDA-MB-۲۳۱) و کشت آن‌ها در محیط‌های مناسب، استخراج RNA و ساخت cDNA (Complementary DNA) انجام شد و با روش Multiplex RT-PCR (Multiplex real time-polymerase chain reaction)، بیان رونوشت‌های NY-ESO-۱ ۱a، NY-ESO-۱ ۱b، MAGE۳، SSX۲ و SCP۱ مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: هیچ کدام از رده‌های سلولی مورد مطالعه، ژن‌های سرطانی- بیضه‌ای مورد بررسی را بیان نکردند. در حالی که تمام رده‌های سلولی مورد بررسی، ژن شاهد داخلی (GAPDH یا Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) را بیان نمودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نقش این ژن‌ها در گامتوژنز، می‌توان بیان این ژن‌ها را در سلول‌های سرطانی مبنی بر تمایززدایی دانست. البته تفاوتی که در فراوانی بیان این ژن‌ها در رده‌ی سلولی سرطان پستان و نمونه‌های توموری مشاهده شد، می‌تواند به پاسخ‌های متعددی که برای تهیه‌ی رده‌های سلولی انجام می‌شود، مربوط باشد و همچنین با بررسی تعداد بیشتری از رده‌های سلولی سرطان پستان برای این ژن‌ها، می‌توان به نتایج دقیق‌تری دست یافت.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، ژن‌های سرطانی- بیضه‌ای، نشانگر زیستی، رده‌ی سلولی

ارجاع: یوسف آملی شمس‌الدین، کوکبی لیلا، مجیدزاده اردبیلی کیوان، اسماعیلی رضوان، رحیمی حمزه، مریمی فهیمه، کریمی‌پور مرتضی. **بررسی بیان چندین ژن سرطانی بیضه‌ای در چندین رده‌ی سلولی سرطان پستان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۳): ۵۸-۵۰

مقدمه

ژن‌های سرطانی- بیضه‌ای گروه هتروژنی از پروتئین‌های ایمونوژنیک (آنتی ژن‌های سرطانی- بیضه‌ای) را کد می‌کنند که اغلب به طور انحصاری در

۱- کارشناس ارشد، بخش پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران و گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران، تهران، ایران
۲- بخش پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۳- استادیار، گروه پژوهشی ژنتیک سرطان، پژوهشکده‌ی سرطان پستان، جهاد دانشگاهی تهران، تهران، ایران
۴- دانشجوی دکتری، گروه پژوهشی ژنتیک سرطان، پژوهشکده‌ی سرطان پستان، جهاد دانشگاهی تهران، تهران، ایران
۵- کارشناس، بخش پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۶- استادیار، گروه پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مرتضی کریمی‌پور
Email: mortezakarimi@yahoo.com

بافت طبیعی بیضه و درصدی از انواع تومورهای متفاوت بیان می‌شوند (۲-۱). البته برخی از آن‌ها در تخمدان و تروفوبلاست جنس ماده نیز بیان می‌شوند (۳). بر اساس اختصاصیت بافتی و ایمونوژنیسته‌ی آن‌ها، می‌توان از آنتی ژن‌های سرطانی- بیضه‌ای به عنوان مولکول‌های هدف برای درمان سرطان استفاده نمود (۶-۴).

بر طبق اطلاعاتی که در پایگاه اطلاعاتی ژن‌های سرطانی- بیضه‌ای (www.cta.lncc.br) وجود دارد، تا کنون بیش از ۱۰۰ عضو از این خانواده‌ی ژنی شناسایی شده‌اند که تعداد زیادی از این ژن‌ها بر روی کروموزوم X قرار دارند که به آن‌ها آنتی ژن‌های CT-X (Cancer-testis-x chromosome) می‌گویند (۶). از آن جایی که آنتی ژن‌های سرطانی- بیضه‌ای در بافت‌های طبیعی (به غیر از بیضه) بیان نمی‌شوند، بنابراین در صورت بیان احتمالی آن‌ها در بافت توموری، می‌توان از آن‌ها به عنوان کاندیدای مناسبی برای ایمونوتراپی سرطان و تهیه‌ی واکسن بر اساس این آنتی ژن‌ها استفاده کرد (۷-۶).

پاسخ هومورال به آنتی ژن‌های سرطانی- بیضه‌ای در چندین تومور مشاهده شده است. برای مثال، آنتی بادی‌هایی بر علیه SCP۱ (Synaptonemal complex protein۱) در سرطان پانکراس (۸)، NY-ESO-۱، SCP۱، SSX۲ (Synovial sarcoma, X breakpoint۲) در سرطان پستان (۱۰-۹)، CTSP-۱ در سرطان پروستات، تیروئید و پستان و آنتی بادی‌های بر علیه MAGEA۳، SSX۲ و NY-ESO-۱ در مالتیپل میلوما شناسایی گردیده است (۱۱).

طبق پایگاه اطلاعاتی ژن‌های سرطانی- بیضه‌ای، هیچ یک از بافت‌های طبیعی انسان (ماهیچه‌های اسکلتی، طحال، رحم، تیموس، کولون، کبد، ریه، تخمدان، پانکراس، روده‌ی کوچک، کلیه، جفت، مغز، پستان، قلب، گلبول‌های سفید، تیروئید، پروستات، مثانه و معده) ژن‌های NY-ESO-۱، SSX و SCP۱ را بیان نمی‌کنند و فقط بیضه آن‌ها را بیان می‌کند. ژن MAGE۳ نیز به غیر از جفت و بیضه در هیچ یک از بافت‌های طبیعی دیگر بیان نمی‌شود (۱۲).

سؤال اساسی دیگر در مورد آنتی ژن‌های سرطانی- بیضه‌ای این است که بیان آن‌ها، نقش اساسی در تومورزایی دارد یا از عواقب توموری شدن سلول‌ها می‌باشد. البته شواهد قوی برای برخی از آن‌ها وجود دارد که نقش پایه‌ای بعضی از این ژن‌ها را در تومورزایی نشان می‌دهد. برای مثال، Bertram و همکاران نشان دادند که بیان ژن MAGE در سلول‌های سرطانی با فنوتیپ بدخیمی و پاسخ به درمان رابطه دارد (۱۳).

رده‌های سلولی که حداقل یکی از سه ژن MAGE را بیان می‌کنند، بیشتر به سمیت وابسته به TNF (Tumor necrosis factors) مقاوم هستند (۱۴). ترانسفکشن سلول‌ها با ژن‌های MAGEA۲ یا MAGEA۶ به آن‌ها خواص تقسیم شونده می‌دهد؛ اگر چه مکانیسم مولکولی آن شناسایی نشده است (۱۳).

در آزمایش دیگری پیشنهاد شده است که ژن SSX یک نقش عملکردی در مهاجرت سلول و پتانسیلی شبیه متاستاز سلول سرطانی دارد. مشخص شده است هنگامی که در رده‌های سلولی ملانوما تنظیم بیان ژن SSX کاهش می‌یابد، مهاجرت سلول‌ها نیز کاهش می‌یابد (۱۵). از آن جایی که

بسیاری از خصوصیات سلول سرطانی مثل مهاجرت، تهاجم، براندازی ایمنی، مقاومت به مرگ برنامه‌ریزی شده و رگ‌زایی در گامت‌زایی نیز مشاهده می‌شود، احتمال شباهت مشخصات آنتی ژن‌های سرطانی– بیضه‌ای کنترل کننده‌ی گامتوژنز با سلول‌های سرطانی وجود دارد (۱۶).

سرطان پستان در عصر حاضر، شایع‌ترین سرطان زنان در اکثر کشورهای دنیا است؛ به طوری که یک سوم از همه‌ی سرطان‌ها را در زنان تشکیل می‌دهد (۱۷). از آن جایی که یک تومور نشانگر ایده‌آل، بیان mRNA (Messenger RNA) در سلول‌های سرطانی و عدم بیان آن در سلول‌های غیر سرطانی است، در این تحقیق به بررسی بیان ۴ ژن از این خانواده NY–ESO–۱ ۱a (Cancer/testis antigen 1A)، NY–ESO–۱ ۱b (Cancer/testis antigen 1B)، MAGE۳ (Melanoma-associated antigen۳)، SSX۲ (Synovial sarcoma, X breakpoint۲) و SCP۱ (Synaptonemal complex protein ۱) در سه رده‌ی سلولی سرطان پستان (MCF–۷، BT–۲۰ و MDA-MB–۲۳۱) پرداخته شد تا بین فراوانی بیان این ژن‌ها در رده‌های سلولی سرطان پستان و نمونه‌های توموری سرطان پستان در تحقیقات پیشین مقایسه‌ای انجام شود (۱۸).

روش‌ها

تهیه‌ی رده‌های سلولی سرطانی

سه رده‌ی سلولی سرطان پستان به همراه چهار رده‌ی سلولی دیگر برای شاهد مثبت و منفی (جدول ۱) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شد. پس از تحویل رده‌های سلولی، به طور سریع در محیط کشت و شرایط بهینه‌ی خودشان در حضور آنتی بیوتیک، کشت داده شدند و پس از انکوبه کردن در دمای ۳۷ °C و ۵ درصد دی اکسید کربن به مدت ۴۸ ساعت، بررسی و شمارش سلول‌ها توسط میکروسکوپ معکوس انجام شد. نمونه‌ها در صورت لزوم پاساژ داده شد تا این که سلول‌ها به تعداد تقریبی ده میلیون عدد برسند و آماده‌ی استخراج RNA گردند.

جدول ۱. رده‌های سلولی تهیه شده به همراه مشخصات آن‌ها

رده‌های سلولی	بافت	ریخت‌شناسی	محیط کشت
A-۳۷۵	پوست	اپیتلیوم	DMEM + FBS ٪۱۰
MCF-۷	پستان	اپیتلیوم	EMEM + FBS ٪۱۰
BT-۲۰	پستان	اپیتلیوم	RPMI۱۶۴۰ + FBS ٪۱۰
SW۷۴۲	روده‌ی بزرگ	اپیتلیوم	L-۱۵ + BCS ٪۱۰
K۵۶۲	مایع بین جنب	شبه لنفوبلاست	RPMI ۱۶۴۰ + FBS ٪۱۰
GC-۱spg	بیضه	اپیتلیوم	DMEM + FBS ٪۱۰
BT-۲۰	پستان	اپیتلیوم	RPMI۱۶۴۰ + FBS ٪۱۰

FBS: Fetal bovine serum; DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium
EMEM: Eagle's Minimum Essential Medium; RPMI: Roswell Park Memorial Institute
BCS: Bovine Calf serum; L-15: Leibovitz's L-15 medium

استخراج RNA از رده‌های سلولی

پس از آن که تعداد سلول‌ها در فلاسک به ۱۰ میلیون رسید، استخراج RNA صورت گرفت. در صورت چسبنده بودن سلول‌ها با اضافه کردن ۱/۵ ml تریپسین و (Ethylenediaminetetraacetic acid) EDTA (۰/۰۲ درصد EDTA و تریپسین ۰/۲۵درصد مولار) به فلاسک با حجم ۲۵ ml، به صورت معلق در آمدند. سپس برای شستشوی سلول‌ها و جمع‌آوری آن‌ها، محیط کشت حاوی سلول‌های معلق، داخل یک فالکن حاوی ۷ ml PBS ریخته شد و به مدت ۷ دقیقه در دمای ۴ °C با دور ۱۵۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شد و پس از دور ریختن مایع رویی، استخراج RNA از پلت سلول‌ها توسط کیت RNeasy Mini Kit (Germany, Qiagen) انجام شد. سپس غلظت RNA با اندازه‌گیری جذب در ۲۶۰ nm با استفاده از دستگاه Nanophotometer (Germany, IMPLEN) سنجیده شد.

ساختن cDNA از روی RNA

کلیه‌ی مراحل ساخت (Complementary DNA) cDNA از RNAهای استخراج شده از رده‌های سلولی با استفاده از کیت Quantitect reverse transcription (Germany, Qiagen) و روی یخ انجام گرفت.

انجام PCR بر روی cDNAهای به دست آمده

در این تحقیق، بیان ۶ رونوشت mRNA با پرایمرهای سفارش داده شده (جدول ۲) و با شرایط PCR یک مرحله‌ی ۹۴ °C به مدت ۵ دقیقه به عنوان واسرشت، ۳۲ چرخه‌ی ۹۴ °C به مدت ۱ دقیقه، ۶۰ °C به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه و سپس یک مرحله‌ی ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه) توسط دستگاه ترمال سایکلر (Bio-Rad, California) مورد بررسی قرار گرفت. رونوشت GAPDH (-3-phosphate dehydrogenaseGlyceraldehyde) به عنوان شاهد داخلی، مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۲. لیست پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه

اندازه‌ی محصول PCR	توالی پرایمرها و موقعیت بازهای آن‌ها در mRNA مربوط	acc. No.	mRNA
۵۴۰ جفت باز	(۱۲۴-۱۴۴) ´۳-GTC AAC GGA TTT GGT CGT ATT-۵F (۶۴۳-۶۶۳) ´۳-AGT CTT CTG GGT GGC AGT GAT-۵R	NM-۰۰۲۰۴۶	GAPDH
۳۸۶ جفت باز	(۳۱۹-۳۳۸) ´۳-AGT TCT ACC TCG CCA TGC CT-۵F (۶۸۴-۷۰۴) ´۳-TCC TCC TCC AGC GAC AAA CAA-۵R	NM-۰۰۱۳۲۷/۲	NY-ESO-۱ ۱a
۳۲۸ جفت باز	(۲۷۱-۲۸۹) ´۳- ATG GAT GCT GCA GAT GCG G-۵F (۵۸۰-۵۹۸) ´۳-GCT TAG CGC CTC TGC CCT G-۵R	NM-۰۰۱۳۲۷/۲	NY-ESO-۱ ۱b
۵۶۵ جفت باز	(۱۳۸۳-۱۴۰۹) ´۳-GTA CAG CAG AAA GCA AGC AAC TGA ATG-۵F (۸۴۵-۸۷۲) ´۳-GAA GGA ACT GCT TTA GAA TCC AAT TTC C-۵R	NM-۰۰۳۱۷۶/۲	SCP۱
۴۲۳ جفت باز	(۴۵-۵۶) ´۳-GAA GCC GGC CCA GGC TCG-۵F (۴۵۰-۴۷۰) ´۳-GGA GTC CTC ATA GGA TTG GCT-۵R	NM-۰۰۵۳۶۲/۳	۳MAGE
۴۳۵ جفت باز	(۱۴۹-۱۷۱) ´۳-GTG CTC AAA TAC CAG AGA AGA TC-۵F (۵۶۲-۵۸۳) ´۳-TTT TGG GTC CAG ATC TCT CGT G-۵R	NM-۱۷۵۶۹۸/۱	۲SSX

GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; SSX۲: Synovial sarcoma, X breakpoint
SCP۱: Synaptonemal complex protein ۱; acc. No: Accession Number (NCBI Reference Number)
F: Forward; R: Reverse

در هر واکنش از ۲۲ µl (حاوی ۱X PCR Buffer، ۱/۵ mmol $MgCl_2$، dNTP MIX (Deoxynucleoside-۵'-triphosphates) ۰/۲ mol و اسپرمیدین ۱ mol)، ۱۰ pmol از پرایمرهای رفتی و برگشتی، ۲۰۰ ng از cDNA و ۰/۵ واحد آنزیم Taq DNA polymerase (Germany, Qiagen) استفاده شد.

از آن جایی که هدف، بررسی همزمان شاهد داخلی و ژن مورد بود تا کمترین منفی کاذب در نتایج وجود داشته باشد، بهینه‌سازی شرایط برای بررسی همزمان دو رونوشت صورت گرفت. بهینه‌سازی شامل شیب دمایی، تغییر در میزان آنزیم، پرایمرها، مدت زمان مراحل PCR، مقدار cDNA اولیه بوده است.

انجام Multiplex RT-PCR با شرایط بهینه‌سازی شده

رونوشت mRNA مورد بررسی به همراه GAPDH به صورت مولتی‌پلکس در رده‌های سلولی سرطان پستان بررسی شدند. البته نمونه‌ها به همراه یک شاهد مثبت (یکی از رده‌های سلولی که ژن مورد بررسی را به همراه GAPDH بیان می‌کرد)، شاهد منفی (رده‌های سلول که فقط GAPDH را بیان می‌کرد) و یک شاهد خنثی (بدون cDNA تا از احتمال مثبت کاذب کاسته شود)، بررسی شدند.

انجام الکتروفورز

به منظور تأیید صحت آزمایش‌ها پس از انجام PCR، محصول به دست آمده روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در کنار نشانگرهای ۱۰۰ جفت بازی و یک کیلو بازی الکتروفورز شد. برای تهیه‌ی آگارز ۱/۵ درصد، ۰/۹ گرم پودر آگارز در ۶۰ ml TBE ۰/۵X مخلوط شد و سپس به جوش آورده شد تا خوب حل گردد. پس از کمی خنک‌تر شدن، به آن اتیدیوم بروماید اضافه گردید و داخل کاست ریخته شد و شانه در محل مناسب قرار گرفت. پس از بستن کامل ژل، داخل تانک الکتروفورز حاوی بافر TBE ۰/۵X قرار گرفت، ۱۰ µl محصول PCR به همراه ۲ µl رنگ در داخل چاهک‌ها ریخته شد و الکتروفورز با ولتاژ ۱۰۰ انجام شد.

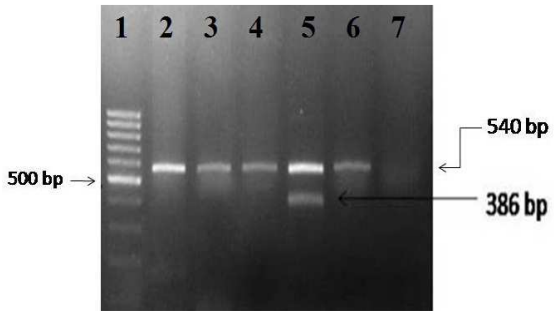
سپس توسط دستگاه Transilluminator UV، از نتیجه‌ی کار عکس گرفته شد و مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها

هر ۳ رده‌ی سلولی سرطان پستان با روش Multiplex RT-PCR (Multiplex real time-polymerase chain reaction) بررسی شدند که یکی از نتایج الکتروفورز آن‌ها به طور نمونه در شکل ۱ نشان داده شده است. سه رده‌ی سلولی سرطان پستان هیچ کدام از رونوشت‌های سرطانی– بیضه‌ای را بیان نکردند؛ در حالی که همه‌ی آن‌ها ژن GAPDH (شاهد داخلی) را بیان کردند. نتایج به طور خلاصه در جدول ۳ آمده است.

بحث

نتایج بررسی ژن NY-ESO-۱ در نمونه‌های تومووری بیماران مبتلا به سرطان پستان در تحقیقات پیشین ۱۳ نمونه (۱۰/۱ درصد) از ۱۲۹ نمونه (۱۹)، ۳۷ نمونه (۴۲/۰ درصد) از ۸۸ نمونه (۲۰)، ۹ نمونه (۱۸/۰ درصد) از ۵۰ نمونه (۲۱)، ۸۰ نمونه (۲۰/۰ درصد) از ۴۰۳ نمونه (۲۲) و ۱۱ نمونه (۲۲/۰ درصد) از ۴۹ نمونه (۲۳) بوده است که این ژن در هیچ یک از رده‌های سلولی سرطان پستان مورد بررسی بیان نداشته است.



شکل ۱. نتیجه‌ی الکتروفورز محصول Multiplex RT-PCR با پرایمرهای NY-ESO-۱ ۱a و GAPDH در سه رده‌ی سلولی سرطان پستان: رده‌های سلولی MCF-۷ (چاهک ۳)، BT-۲۰ (چاهک ۲) و MDA-MB-۲۳۱ همگی شاهد داخلی را بیان کردند، اما ژن NY-ESO-۱ ۱a را بیان نکردند. چاهک ۱ اندازه‌ی نشانگر ۱۰۰ جفت بازی و چاهک ۷ نمونه‌ی بدون cDNA (خنثی) می‌باشد. چاهک ۵ رده‌ی سلولی شاهد مثبت (رده‌ی سلولی A-۳۷۵) و چاهک ۶ رده‌ی سلولی شاهد منفی (رده‌ی سلولی MDA-MB-۲۳۱) می‌باشد.

GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
Multiplex RT-PCR: Multiplex real time-polymerase chain reaction
cDNA: Complementary DNA

نتایج بررسی بیان ژن *SCP۱* در نمونه‌های بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان در تحقیقات مختلف ۴۴ نمونه (۳۴/۱ درصد) از ۱۲۹ نمونه (۱۹) و ۶۴ نمونه (۶۵/۰ درصد) از ۹۸ نمونه (۹) بوده است که این ژن در هیچ یک از رده‌های سلولی سرطان پستان مورد بررسی، بیان نداشت. نتایج بررسی بیان ژن MAGE۳ در نمونه‌های بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان در سایر تحقیقات ۲۵ نمونه (۳۷/۰ درصد) از ۶۷ نمونه (۲۴)، ۳ نمونه (۱۱/۰ درصد) از ۲۸ نمونه (۲۵) و ۱۱ نمونه (۱۱/۰ درصد) از ۹۸ نمونه (۹) مثبت بوده‌اند؛ در حالی که این ژن در هیچ یک از رده‌های سلولی سرطان پستان مورد بررسی، بیان نداشته است. نتایج بررسی بیان ژن SSX۲ در نمونه‌های بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان در تحقیقات مختلف ۸ نمونه (۸/۰ درصد) از ۹۸ نمونه (۹) و ۵ نمونه (۳/۹ درصد) از ۱۲۹ نمونه (۱۹) بوده است؛ اما نتایج مطالعه‌ی حاضر فراوانی بیان این ژن را در رده‌های سلولی مورد مطالعه، ۰ درصد ارزیابی نمود.

اگر چه علت گزارش‌های متفاوت از بیان این ژن‌ها در تومورها مشخص نمی‌باشد؛ اما شاید به علت متفاوت بودن مخازن ژنتیکی جمعیت‌های مختلف بررسی شده باشد. البته باید در نظر داشت که نمونه‌های توموری در برخی تحقیقات از مراحل (Stage) مختلف بیماری تهیه می‌شود و این موضوع هم ممکن است در نتایج اثر بگذارد.

جدول ۳. نتایج بررسی بیان mRNAها در رده‌های سلولی

Cell Line	NY-ESO-۱ ۱a	NY-ESO-۱ ۱b	MAGE-۳	۱SCP	۲SSX	GAPDH
A-۳۷۵	Pos	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos
MCF-۷	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos
MDA-MB-۲۳۱	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos
BT-۲۰	ND	Neg	ND	Neg	Neg	Pos
۷۴۲SW	ND	ND	ND	Neg	Neg	Pos
۵۶۲K	ND	ND	ND	Neg	Pos	Pos
GC-۱spg	ND	ND	ND	Pos	Neg	Pos

ND: Not determined (بررسی بیان ژن انجام نشده است)

همچنین باید هتروژنیتی ژنتیکی را در سرطان‌ها مؤثر دانست و در این راستا، شاید اختلافاتی که در تعریف و تشخیص مراحل سرطان پستان وجود دارد، بر این موضوع تأثیر داشته باشد.

فراوانی بیان به دست آمده از بررسی حاضر بر روی رده‌های سلولی سرطان پستان، در مقایسه با دیگر مطالعات در مورد بررسی بیان همین ژن‌ها در نمونه‌های توموری سرطان پستان، بسیار متفاوت می‌باشند که این تفاوت می‌تواند ناشی از پاساژهای متعددی باشد که برای تهیه‌ی رده‌های سلولی انجام می‌شود. با بررسی تعداد بیشتری از رده‌های سلولی سرطان پستان برای این ژن‌ها می‌توان به نتایج دقیق‌تری دست یافت.

سؤال مهم در مورد بیان ژن‌های سرطانی-بیضه‌ای، چگونگی مکانیسم خاموش بودن رونویسی در بافت طبیعی به غیر از بیضه و بیان شدن آن‌ها در بدخیمی‌ها می‌باشد. پذیرفته شده است که تنظیم متیلاسیون نقش مهمی در کنترل بیان آن‌ها دارد (۲۶، ۱). برای مثال، چندین مطالعه نشان داده است که متیلاسیون یک مکانیزم خاموش‌سازی اولیه در ژن MAGE-A۱ می‌باشد و دمتیله شدن برای بیان آن ضروری و کافی است (۲۸-۲۷). در ادامه‌ی مطالعه، پیشنهاد می‌شود وضعیت متیلاسیون این ژن‌ها در تعداد بیشتری از رده‌های سلولی و نمونه‌های توموری بررسی و با یکدیگر مقایسه شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد بوده است؛ بدین وسیله از تمامی اعضای انستیتو پاستور ایران که در به سرانجام رساندن این پژوهش یاری رساندند، قدردانی می‌شود.

References

1. Zendman AJ, Ruiter DJ, Van Muijen GN. Cancer/testis-associated genes: identification, expression profile, and putative function. J Cell Physiol 2003; 194(3): 272-88.
2. Caballero OL, Chen YT. Cancer/testis (CT) antigens: potential targets for immunotherapy. Cancer Sci 2009; 100(11): 2014-21.
3. Kalejs M, Erenpreisa J. Cancer/testis antigens and gametogenesis: a review and "brain-storming" session. Cancer Cell Int 2005; 5(1): 4.
4. Simpson AJ, Caballero OL, Jungbluth A, Chen YT, Old LJ. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer. Nat Rev Cancer 2005; 5(8): 615-25.
5. Scanlan MJ, Simpson AJ, Old LJ. The cancer/testis genes: review, standardization, and commentary. Cancer Immun 2004; 4: 1.
6. Meklat F, Li Z, Wang Z, Zhang Y, Zhang J, Jewell A, et al. Cancer-testis antigens in haematological malignancies. Br J Haematol 2007; 136(6): 769-76.
7. Parmigiani RB, Bettoni F, Vibranovski MD, Lopes MH, Martins WK, Cunha IW, et al. Characterization of a cancer/testis (CT) antigen gene family capable of eliciting humoral response in cancer patients. Proc Natl Acad Sci U S A 2006; 103(48): 18066-71.
8. Wadle A, Kubuschok B, Imig J, Wuellner B, Wittig C, Zwick C, et al. Serological immune response to cancer testis antigens in patients with pancreatic cancer. Int J Cancer 2006; 119(1): 117-25.
9. Mischo A, Kubuschok B, Ertan K, Preuss KD, Romeike B, Regitz E, et al. Prospective study on the expression of cancer testis genes and antibody responses in 100 consecutive patients with primary breast cancer. Int J Cancer 2006; 118(3): 696-703.
10. Costa FF, Le BK, Brodin B. Concise review: cancer/testis antigens, stem cells, and cancer. Stem Cells 2007; 25(3): 707-11.
11. Atanackovic D, Arfsten J, Cao Y, Gnjatic S, Schnieders F, Bartels K, et al. Cancer-testis antigens are commonly expressed in multiple myeloma and induce systemic immunity following allogeneic stem cell transplantation.

Blood 2007; 109(3): 1103-12.
12. Chen YT, Scanlan MJ, Sahin U, Tureci O, Gure AO, Tsang S, et al. A testicular antigen aberrantly expressed in human cancers detected by autologous antibody screening. Proc Natl Acad Sci U S A 1997; 94(5): 1914-8.
13. Bertram J, Palfner K, Hiddemann W, Kneba M. Elevated expression of S100P, CAPL and MAGE 3 in doxorubicin-resistant cell lines: comparison of mRNA differential display reverse transcription-polymerase chain reaction and subtractive suppressive hybridization for the analysis of differential gene expression. Anticancer Drugs 1998; 9(4): 311-7.
14. Glynn SA, Gammell P, Heenan M, O'Connor R, Liang Y, Keenan J, et al. A new superinvasive in vitro phenotype induced by selection of human breast carcinoma cells with the chemotherapeutic drugs paclitaxel and doxorubicin. Br J Cancer 2004; 91(10): 1800-7.
15. Cronwright G, Le BK, Gotherstrom C, Darcy P, Ehnman M, Brodin B. Cancer/testis antigen expression in human mesenchymal stem cells: down-regulation of SSX impairs cell migration and matrix metalloproteinase 2 expression. Cancer Res 2005; 65(6): 2207-15.
16. Old LJ. Cancer is a somatic cell pregnancy. Cancer Immun 2007; 7: 19.
17. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. Cancer statistics, 2008. CA Cancer J Clin 2008; 58(2): 71-96.
18. Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. J Clin Oncol 2006; 24(33): 5313-27.
19. Mashino K, Sadanaga N, Tanaka F, Yamaguchi H, Nagashima H, Inoue H, et al. Expression of multiple cancer-testis antigen genes in gastrointestinal and breast carcinomas. Br J Cancer 2001; 85(5): 713-20.
20. Sugita Y, Wada H, Fujita S, Nakata T, Sato S, Noguchi Y, et al. NY-ESO-1 expression and immunogenicity in malignant and benign breast tumors. Cancer Res 2004; 64(6): 2199-204.
21. Curigliano G, Viale G, Ghioni M, Jungbluth AA, Bagnardi V, Spagnoli GC, et al. Cancer-testis antigen expression in triple-negative breast cancer. Ann Oncol 2011; 22(1): 98-103.
22. Grigoriadis A, Caballero OL, Hoek KS, da SL, Chen YT, Shin SJ, et al. CT-X antigen expression in human breast cancer. Proc Natl Acad Sci U S A 2009; 106(32): 13493-8.
23. Matkovic B, Juretic A, Spagnoli GC, Separovic V, Gamulin M, Separovic R, et al. Expression of MAGE-A and NY-ESO-1 cancer/testis antigens in medullary breast cancer: retrospective immunohistochemical study. Croat Med J 2011; 52(2): 171-7.
24. Hussein YM, Gharib AF, Etewa RL, El-Shal AS, Abdel-Ghany ME, Elsawy WH. The melanoma-associated antigen-A3, -A4 genes: relation to the risk and clinicopathological parameters in breast cancer patients. Mol Cell Biochem 2011; 351(1-2): 261-8.
25. Russo V, Traversari C, Verrecchia A, Mottolese M, Natali PG, Bordignon C. Expression of the MAGE gene family in primary and metastatic human breast cancer: implications for tumor antigen-specific immunotherapy. Int J Cancer 1995; 64(3): 216-21.
26. Koslowski M, Bell C, Seitz G, Lehr HA, Roemer K, Muntefering H, et al. Frequent nonrandom activation of germ-line genes in human cancer. Cancer Res 2004; 64(17): 5988-93.
27. De Smet C, Lurquin C, Lethe B, Martelange V, Boon T. DNA methylation is the primary silencing mechanism for a set of germ line- and tumor-specific genes with a CpG-rich promoter. Mol Cell Biol 1999; 19(11): 7327-35.
28. De Smet C, Loriot A, Boon T. Promoter-dependent mechanism leading to selective hypomethylation within the 5' region of gene MAGE-A1 in tumor cells. Mol Cell Biol 2004; 24(11): 4781-90.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 15.12.2013
Vol. 32, No. 273, 2nd Week, April 2014
Accepted: 31.01.2014

Expression of Multiple Cancer/Testis Genes in Several Breast Cancer Cell Lines

Shamseddin Yousef-Amoli MSc[1], Leila Kokabee PhD[2], Keyvan Majidzadeh-Ardebili PhD[3], Rezvan Esmaeili MSc[4], Hamzeh Rahimi PhD[2], Fahimeh Maryami[2], Morteza Karimipour PhD[5]

Original Article

Abstract

Background: Cancer-Testis genes (CT-genes) are a gene family that only expressed in normal testis tissue and some of them are randomly expressed in some types of cancers. These genes can be promising cases for immunotherapy of breast cancer. This research was carried out for comparison of the expression frequencies these genes in cancerous cell lines and tumor samples.

Methods: In this analytical-descriptive study, after providing three breast-cancer cell lines and their cultures in appropriate medium, RNA extraction and cDNA synthesis were done and expressions of *NY-ESO-1 1a*, *NY-ESO-1 1b*, *SCP1*, *SSX-2* and *MAGE-3* genes were studied using multiplex real time-polymerase chain reaction (multiplex RT-PCR) method.

Findings: None of cell lines expressed Cancer-Testis genes; but all of them expressed glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) gene (internal control).

Conclusion: According to the role of these genes in gametogenesis, we can consider that their expressions in cancer cells are based on dedifferentiation. The observed difference between expression frequency of these genes in breast-cancer cell lines and tumor samples can be related to several passages which are carried out for providing cell lines. By examining more cell lines of breast cancer for these genes, we can achieve more accurate results.

Keywords: Breast cancer, Cancer/Testis genes, Biological marker, Cell lines

Citation: Yousef-Amoli Sh, Kokabee L, Majidzadeh-A K, Esmaeili R, Rahimi H, Maryami F, et al. **Expression of Multiple Cancer/Testis Genes in Several Breast Cancer Cell Lines.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(273): 50-8

1- Molecular Medicine Group, Biotechnology Research Centre, Pasteur Institute of Iran AND Department of Biology, School of Science, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
2- Molecular Medicine Group, Biotechnology Research Centre, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Cancer Genetics Research Group, Breast Cancer Research Center (BCRC), Tehran, Iran
4- PhD Student Cancer Genetics Research Group, Breast Cancer Research Center (BCRC), Tehran, Iran
5- Assistant Professor, Molecular Medicine Group, Biotechnology research Centre, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
Corresponding Author: Morteza Karimipour PhD, Email: mortezakarimi@yahoo.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۷۳/هفته دوم فروردین ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۲

سطح سرمی کروم در افراد پره‌دیابت

دکتر زهرا ترابی[۱]، دکتر رحمت‌اله رفیعی[۲]، دکتر زهرا حبیبی[۳]، دکتر لطف‌اله فولادی[۴]، سمیه نجفی[۵]، دکتر صدیقه عسگری[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: دیابت شایع‌ترین بیماری متابولیک جهان و ایران است. کمبود کرومیوم موجب بروز اختلال در متابولیسم گلوکز و چربی‌ها و بروز علایم دیابت می‌گردد. با توجه به این که مطالعه‌ای روی سطح این عنصر و تأثیر آن در افراد پره دیابت صورت نگرفته است، هدف از انجام این مطالعه، بررسی شیوع کمبود سطح سرمی کروم در افراد پره دیابت است.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی ۱۳۲ فرد پره دیابت انتخاب شدند و پس از اندازه‌گیری شاخص توده‌ی بدنی جهت تعیین سطح سرمی انسولین، قند خون و قند خون دو ساعت پس از مصرف گلوکز از آن‌ها نمونه‌ی خون ناشتا گرفته شد. اندازه‌گیری مقادیر کروم با استفاده از روش جذب اتمی انجام گردید.

یافته‌ها: در این مطالعه، از ۱۳۲ بیمار مورد بررسی ۲۴ نفر به دلیل عدم تکمیل آزمایش‌ها از مطالعه خارج شدند. از بین این افراد، ۳۴ نفر (۳۱/۵ درصد) دارای کمبود کروم و ۷۴ نفر (۶۸/۵ درصد) دارای سطح سرمی طبیعی کروم بودند. بین سطح کرومیوم و سن در گروه کرومیوم طبیعی، همبستگی معکوس به میزان ۰/۲۷۶ وجود داشت که طبق آزمون همبستگی Pearson، معنی‌دار شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به کمبود سطح سرمی کروم در تعداد مورد توجهی از بیماران پره دیابت، بهتر است در غربالگری بیماران برای دیابت، بیماران پره دیابت از نظر سطح سرمی کروم مورد بررسی قرار گیرند تا در صورت کمبود کروم، اقدامات مقتضی در جهت رفع آن صورت پذیرد.

واژگان کلیدی: انسولین، پره دیابت، کرومیوم

ارجاع: ترابی زهرا، رفیعی رحمت‌اله، حبیبی زهرا، فولادی لطف‌اله، نجفی سمیه، عسگری صدیقه. **سطح سرمی کروم در افراد پره دیابت.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۳): ۶۶-۵۹

مقدمه

دیابت یک اختلال درون‌ریز است و توسط هایپرگلیسمی مزمن که نتیجه‌ای از نقص در تولید انسولین و یا مقاومت به آن است، مشخص و شناخته می‌شود (۱). دیابت شایع‌ترین بیماری متابولیک در جهان است و در ایران نیز از شیوع بالایی برخوردار می‌باشد. آخرین آمار سازمان بهداشت جهانی حکایت از رشد روز افزون دیابت در جهان و به ویژه در

۱- پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، گروه پزشکی داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف آباد، نجف آباد، اصفهان، ایران
۳- پزشک عمومی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف‌آباد، نجف‌آباد، ایران
۴- پاتولوژیست آناتومی بالینی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف‌آباد، نجف‌آباد، ایران
۵- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات نقص ایمنی اکتسابی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۶- مرکز تحقیقات قلب و عروق، مؤسسه‌ی تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: سمیه نجفی
Email: s.najafi.bio@gmail.com

کشورهای آسیایی دارد (۲). شمار بیماران دیابتی به سرعت در سرتاسر جهان رو به افزایش است و بر اساس برآورد و پیش‌بینی اتحادیه‌ی بین‌المللی دیابت، ۱۹۴ میلیون نفر بیمار دیابتی موجود در جهان در سال ۲۰۰۳ به ۳۳۳ میلیون نفر تا سال ۲۰۲۵ افزایش خواهند یافت (۳).

بر اساس مطالعات انجام شده، افزایش مزمن قند خون به علت گلیکولیزاسیون و پراکسیداسیون لیپیدی منجر به افزایش استرس اکسیداتی و تغییر در ساختمان و عملکرد پروتئین‌ها و لیپیدها می‌گردد (۴).

کروم یک ریزمغذی ضروری، با خاصیت آنتی اکسیدانی و قابلیت‌های بالا در انسان است (۵) و برای هموستاز طبیعی گلوکز و چربی لازم است (۶). عملکرد بیولوژیک مهم کروم تأثیر روی انسولین و گیرنده‌های آن می‌باشد (۷). مخمر آبجو، فراورده‌های گوشتی و پنیر، از منابع غذایی کروم هستند (۸).

این عنصر از راه سیستم انسولین- گلوکز موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد (۷) و تجویز مکمل آن، قند خون ناشتا (FBS یا Fasting blood sugar) را کاهش می دهد (۹). کمبود کروم می‌تواند در ایجاد دیابت در حیوانات و انسان نقش داشته باشد (۹). اختلال در متابولیسم گلوکز (تحمل گلوکز ناشی از مقاومت در برابر انسولین را کاهش می‌دهد) و بالا رفتن شیوع دیابت، کاهش ذخیره‌ی گلیکوژن، توقف رشد، بر هم خوردن متابولیسم آمینو اسیدها و افزایش پلاک آئورت در اثر افزایش کلسترول از علایم کمبود کروم هستند (۱۰). یافته‌های چندین پژوهش نشان داده است که مصرف کروم به دنبال افزایش فعالیت‌های بدنی می‌تواند سبب افزایش توده‌ی عضلانی و سوخت بیشتر چربی‌های بدن با بهبود سوخت و ساز گلوکز و چربی گردد (۱۱). از سوی دیگر، چند متاآنالیز نشان دادند که در افراد سالم یا با اختلال تحمل گلوکز، تجویز کرومیوم تأثیری بر سوخت و ساز گلوکز یا غلظت انسولین ندارد و در افراد سالم نیز اثر اندکی بر کاهش وزن دارد (۱۳-۱۲). بنابراین با توجه به شیوع روز افزون دیابت نوع دو و ضرورت پیشگیری از این بیماری، لزوم انجام مطالعه‌ای که به بررسی سطح سرمی کروم در افراد پره دیابت بپردازد، احساس گردید. مطالعه ی حاضر با هدف بررسی شیوع کمبود سطح سرمی کروم در افراد پره دیابت انجام شد.

روش‌ها

بیماران

این پژوهش یک مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی بود که در سال ۱۳۹۱ و پس از تأیید توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف‌آباد، در بیمارستان دکتر شریعتی اصفهان به انجام رسید. جامعه‌ی آماری مورد مطالعه شامل ۱۳۲ نفر از بیماران پره دیابت با محدوده‌ی سنی ۱۳/۳ ± ۵۲/۸ سال مراجعه کننده به این بیمارستان در سال ۱۳۹۱ بودند. حجم نمونه‌ی مورد نیاز مطالعه با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مطالعات شیوع که در زیر ذکر گردیده است و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، برآورد ۵۰ درصدی برای شیوع عدم تغییر در پروفایل چربی و در نظر گرفتن میزان خطای ۰/۱ به تعداد ۹۶ بیمار برآورد شد که جهت اطمینان بیشتر و ریزش احتمالی (خروج احتمالی بعضی از بیماران از مطالعه)، تعداد ۱۳۲ بیمار مورد مطالعه قرار گرفتند.

$$N = \frac{(Z_{1-a/2})^2\ P(1.P)}{D^2} = \frac{(1/96)^2 \times 0/5 * 0/5}{(0/1)^2} = 96$$

افراد پره دیابت دارای قند خون بین ۱۰۰–۱۲۵ mg/dl و قند خون دو ساعت پس از مصرف گلوکز بین ۱۴۰–۱۹۹ mg/dl به طور تصادفی وارد مطالعه شدند (۱۴). مصرف داروی ضد دیابت و مکمل کروم طی مدت بررسی و عدم انجام آزمایش‌ها توسط بیماران، باعث حذف آن‌ها از مطالعه گردید. پس از بیان اهداف مطالعه و جلب رضایت کتبی و آگاهانه‌ی افراد حایز شرایط ورود به مطالعه، اطلاعات سن، جنس، قد، وزن و سابقه‌ی فامیلی دیابت توسط پرسشگر با مصاحبه و با استفاده از پرسش‌نامه گردآوری شد.

اندازه‌گیری عوامل بیوشیمیایی و آنتروپومتریک

قد و وزن افراد بدون کفش و با استفاده از قدسنج نواری و ترازو توسط کارشناس، مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و در پرونده‌ی مربوط ثبت گردید. جهت اندازه‌گیری سطح انسولین، گلوکز و کروم نمونه‌ی خون گرفته شد. اندازه‌گیری کروم با روش جذب اتمی و با استفاده از دستگاه Agilent (ساخت کشور آمریکا) انجام شد (۱۵).

میزان قند خون با روش آنزیمی گلوکز اکسیداز و سطح انسولین با روش الایزا تعیین گردید. برای اندازه‌گیری قند خون دو ساعت پس از مصرف گلوکز، افراد یک لیوان شربت قند محتوی ۷۵ g پودر گلوکز دریافت نمودند و پس از دو ساعت، خون گیری دوم جهت تعیین قند خون دو ساعته انجام شد (۱۶).

آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون‌های آماری مورد استفاده جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها شامل آزمون χ^2 و آزمون Fisher's exact (جهت مقایسه بین داده‌های کیفی) وآزمون t جهت مقایسه بین داده‌های کمی بود. سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵۰$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۳۲ بیمار مورد بررسی قرار گرفتند که ۲۴ نفر از آن‌ها به دلیل عدم تکمیل آزمایش‌ها، از مطالعه خارج شدند و ۱۰۸ بیمار تا پایان کار در مطالعه حضور داشتند. میانگین و انحراف معیار سطح سرمی کروم در بیماران مورد مطالعه ۱/۰۶ ± ۱/۰۸ میکروگرم بر لیتر بود و بر اساس آن، ۳۴ نفر (۳۱/۵ درصد) دارای کمبود کروم (گروه مورد) و ۷۴ نفر (۶۸/۵ درصد) دارای سطح سرمی طبیعی کروم (گروه شاهد) بودند.

بنا بر جدول ۱، بین جنس‌های زن و مرد، سن‌های مورد بررسی و وجود یا عدم وجود سابقه‌ی فامیلی دیابت از نظر سطح کرومیوم در هر دو گروه شاهد و مورد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در جدول ۲ میزان کروم (در دو گروه شاهد و مورد) بر اساس متغیرهای بیوشیمیایی و آنتروپومتریک آمده است. طبق این جدول، بین دو گروه از نظر سن، FBS، انسولین و BMI (Body mass index) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در جدول ۳، بین سطح کرومیوم و سن در گروه شاهد همبستگی معکوس به میزان ۰/۲۷۶ وجود داشت که طبق آزمون همبستگی Pearson، معنی‌دار شد (P = ۰/۰۱۷)؛ در حالی که بین سایر متغیرها و سطح سرمی کرومیوم، در هر دو گروه شاهد و مورد، ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۱. سطح کرومیوم بر حسب متغیرهای دموگرافیک در دو گروه شاهد و مورد (میکروگرم بر لیتر)

گروه	متغیر	میانگین ± انحراف استاندارد	مقدار P
شاهد	مؤنث	۱/۵۶ ± ۱/۰۱	۰/۵۰۹
	مذکر	۱/۳۹ ± ۱/۱۰	
مورد	مؤنث	۰/۱۵ ± ۰/۱۱	۰/۳۴۹
	مذکر	۰/۱۹ ± ۰/۱۲	
شاهد	کمتر از ۵۰ سال	۱/۷۹ ± ۱/۳۲	۰/۰۸۳
	۵۰ سال و بالاتر	۱/۳۱ ± ۰/۷۵	
مورد	کمتر از ۵۰ سال	۰/۱۵ ± ۰/۱۰	۰/۹۵۲
	۵۰ سال و بالاتر	۰/۱۷ ± ۰/۱۲	
شاهد	بدون سابقه‌ی فامیلی	۱/۴۷ ± ۰/۹۱	۰/۷۳۳
	دارای سابقه‌ی فامیلی مثبت	۱/۵۵ ± ۰/۹۱	
مورد	بدون سابقه‌ی فامیلی دیابت	۰/۱۷ ± ۰/۱۲	۰/۷۸۹
	دارای سابقه‌ی فامیلی مثبت	۰/۱۶ ± ۰/۱۱	

سطح معنی‌داری: $P < ۰/۰۵۰$

جدول ۲. متغیرهای بیوشیمیایی و آنتروپومتریک در دو گروه شاهد و مورد (میکروگرم بر لیتر)

متغیر	گروه	میانگین ± انحراف استاندارد	مقدار P
سن (سال)	شاهد	۵۱/۵۴ ± ۱۳/۹۲	۰/۱۵۳
	مورد	۵۵/۴۷ ± ۱۱/۳۷	
شاخص توده‌ی بدنی (ng/ml)	شاهد	۲۹/۶۲ ± ۴/۶۲	۰/۱۸۹
	مورد	۲۸/۱۸ ± ۶/۱۴	
قند خون ناشتا (ng/ml)	شاهد	۱۰۷/۵۷ ± ۸/۵۱	۰/۶۲۶
	مورد	۱۰۸/۴۷ ± ۹/۷۶	
انسولین (ng/ml)	شاهد	۱۵/۰۱ ± ۲۴/۵۵	۰/۹۸۱
	مورد	۱۴/۸۶ ± ۲۱/۷۶	

سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵۰$

جدول ۳. همبستگی بین کرومیوم و عوامل بیوشیمیایی خون در دو گروه شاهد و مورد (میکروگرم بر لیتر)

عامل بیوشیمیایی	گروه	همبستگی Pearson	مقدار P
سن (سال)	شاهد	-۰/۲۷۶	۰/۰۱۷
	مورد	۰/۱۰۲	۰/۵۶۵
قند خون دو ساعت پس از مصرف گلوکز (ng/ml)	شاهد	۰/۰۳۸	۰/۷۷۴
	مورد	-۰/۲۱۸	۰/۳۷۰
شاخص توده‌ی بدنی	شاهد	۰/۲۲۴	۰/۰۵۵
	مورد	-۰/۰۷۱	۰/۶۸۹
قند خون ناشتا (ng/ml)	شاهد	-۰/۰۶۹	۰/۵۵۸
	مورد	۰/۲۷۶	۰/۱۱۴
انسولین (ng/ml)	شاهد	-۰/۱۰۶	۰/۵۰۹
	مورد	-۰/۲۶۸	۰/۲۱۷

سطح معنی‌داری: $P < ۰/۰۵۰$

بحث

دیابت ملیتوس یک اختلال متابولیک مزمن و شایع است که در اثر واکنش‌های پیچیده‌ای بین عوامل ژنتیکی و عوامل محیطی به وجود می‌آید و منجر به عوارض مختلف می‌گردد (۱۷). کمبود شدید کروم منجر به مقاومت به انسولین و دیابت می‌گردد. در شرایط عادی کرومیوم با اتصال به اولیگوپپتیدی با وزن مولکولی کم، تعداد گیرنده‌های انسولین و فسفوریلاسیون آن‌ها را افزایش می‌دهد که به دنبال آن، آنزیم گیرنده‌ی انسولین افزایش می‌یابد و قند خون و هموگلوبین گلیکوزیله تنظیم می‌گردد (۱۸).

تحقیقات انجام شده در محیط خارج از بدن نشان داده‌اند که مکمل‌های کروم به ویژه کروم باند شده به نیاسین، می توانند مقاومت به انسولین را کاهش دهند و سطح کلسترول را پایین آورند (۱۹). همچنین شواهد نشان می‌دهد تجویز کرومیوم پیکولینات در محیط خارج از بدن حساسیت به انسولین را با تشدید تحریک گیرنده‌های انسولین افزایش می‌دهد (۱۹).

این در حالی است که یافته‌های بررسی‌های مربوط به تجویز کروم در افراد سالم و بیماران مبتلا به دیابت متفاوت بوده است. در پژوهش‌های متعددی از جمله بررسی های انجام شده در ایران، نشان داده شده است که غلظت کرومیوم در سرم و موی بیمارن دیابتی و گروه اختلال تحمل گلوکز، به طور معنی‌داری از گروه شاهد کمتر است (۲۰).

در مطالعه‌ی مورد- شاهدی صبوری و همکاران (۲۱) روی افراد ۶۰-۳۰ سال، ۳۰ بیمار مبتلا به دیابت نوع دو و ۳۰ فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. غلظت سرمی کرومیوم و مالون دی آلدهید در افراد اندازه‌گیری گردید. طبق یافته‌های این مطالعه، میانگین سطح سرمی کرومیوم در گروه دیابتی mg/dl ۲۸ ± ۸۰ به دست آمد که به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه شاهد (mg/dl ۱۹/۱ ± ۳۳/۰) بود (۲۱).

طی یک مطالعه‌ی مورد- شاهدی توسط عبدالصمدی و همکاران (۲۲)، از ۳۵ زن باردار مبتلا به دیابت بارداری و ۳۵ زن باردار غیر مبتلا به دیابت بارداری با میانگین سنی مشابه، یک نمونه‌ی بزاق گرفته شد و مقادیر کرومیوم و کادمیوم مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. این پژوهش نشان داد که مقدار عنصر کرومیوم در بزاق افراد مبتلا به دیابت بارداری با افراد غیر مبتلا متفاوت می‌باشد؛ به طوری که پیشنهاد دادند نمونه‌ی بزاق به جای سرم برای اندازه‌گیری این عنصر می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (۲۲).

همچنین در بررسی انجام شده توسط Tripathy و همکاران (۲۳) نیز دو گروه ۶۵ نفره از بیماران دیابتی و غیر دیابتی از نظر سطح سرمی کرومیوم مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج به دست آمده نشان داد که سطح سرمی کرومیوم در بیماران غیر دیابتی به طور معنی‌داری از بیماران دیابتی بالاتر می‌باشد (۲۳).

در مطالعه‌ی Ding و همکاران کرومیوم سرم خون در مردان و زنان یکسان گزارش شد (۲۴)؛ در حالی که در نتایج بررسی Ravina و Slezack (۲۵) سطح کرومیوم خون در زنان نسبت به مردان کمتر بود. در این مطالعه، کمبود کرومیوم در زنان نسبت به مردان به طور تقریبی یکسان بوده است که با نتیجه‌ی حاصل از مطالعه‌ی Ding و همکاران مطابقت دارد. اختلاف نتایج مطالعات می‌تواند به دلیل تفاوت در الگوی تغذیه و منطقه‌ی جغرافیایی باشد.

Duncan (۲۶) به این نتیجه رسید که با بالا رفتن

سن و سابقه‌ی فامیلی ابتلا به دیابت، مقاومت به انسولین در افراد دیابتی به وجود می‌آید که به دلیل کاهش میزان کرومیوم در خون با افزایش سن است. در این مطالعه نیز کمبود کرومیوم، در افراد ۵۰ و بالای ۵۰ سال و دارای سابقه‌ی فامیلی ابتلا به دیابت به طور غیر معنی‌داری بیشتر شد.

یافته‌های بررسی انجام شده توسط پیامی و همکاران (۲۷) نشان داد که تجویز مقدار اندک کرومیوم با جذب بالا در کوتاه مدت، می‌تواند منجر به بهبود وضعیت متابولیک بیماران دیابتی نوع دو شود.

طبق نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر، تعداد افراد پره دیابت دارای کمبود کرومیوم نسبت به افراد دارای سطح طبیعی این عنصر قابل چشم‌پوشی نیست؛ کمبود این عنصر، از عوامل ایجاد کننده‌ی دیابت است و می‌توان آن را زنگ خطری برای شروع بیماری دیابت دانست. با توجه به این که در بیماری دیابت عوامل متعددی از جمله تغذیه، نژاد و محیط نقش دارند، پیشنهاد می‌گردد مطالعات بیشتری با حجم نمونه‌ی بزرگ‌تر صورت پذیرد. همچنین تأثیر عناصر دیگر بر دیابت نیز در آینده مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

کمبود سطح سرمی کرومیوم در تعداد مورد توجهی از بیماران پره دیابت وجود دارد. بهتر است در غربالگری بیماران برای دیابت، بیمارانی که طبق معیارهای انجمن دیابت آمریکا پره دیابت محسوب می‌گردند، از نظر سطح سرمی کرومیوم مورد بررسی قرار گیرند تا در صورت کمبود کرومیوم، اقدامات مقتضی در جهت رفع آن انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف‌آباد به دلیل حمایت‌های مالی در اجرای این پژوهش، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2004; 27(suppl 1): s5-s10.
2. Hossain P, Kawar B, El NM. Obesity and diabetes in the developing world--a growing challenge. N Engl J Med 2007; 356(3): 213-5.
3. Sicree R, Shaw J, Zimmet. The Global Burden of Diabetes. In: Gan D, editor. Diabetes Atlas. 2nd ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2003. p. 15-112.
4. Chakrabarty A, Norman RA, Phillips TJ. Cutaneous Manifestations of Diabetes. Wounds 2002; 14(8): 267-74.
5. Garg N, Singh R, Dixit J, Jain A, Tewari V. Levels of lipid peroxides and antioxidants in smokers and nonsmokers. J Periodontal Res 2006; 41(5): 405-10.
6. Jain SK, Lim G. Chromium chloride inhibits TNFalpha and IL-6 secretion in isolated human blood mononuclear cells exposed to high glucose. Horm Metab Res 2006; 38(1): 60-2.
7. Tuman RW, Doisy RJ. Metabolic effects of the glucose tolerance factor (GTF) in normal and genetically diabetic mice. Diabetes 1977; 26(9): 820-6.
8. Lee J, Durst RW, Wrolstad RE. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. J AOAC Int 2005; 88(5): 1269-78.
9. Anderson RA, Roussel AM, Zouari N, Mahjoub S, Matheau JM, Kerkeni A. Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus. J Am Coll Nutr 2001; 20(3): 212-8.
10. Juturu V, Daly A, Geohas J, Finch M, Komorowski JR. Diabetes risk factors and

chromium intake in moderately obese subjects with type 2 diabetes mellitus. Nutrition & Food Science 2006; 36(6): 390-9.
11. Ravanshad S, Khosvani Borujeni H, Soveid M, Zeighami B. Effect of brewer's yeast supplementation on serum glucose and lipids in type II diabetic patients with dislipidemia. [In Persian]. J Mazandaran Univ Med Sci 2005; 15(47): 35-42.
12. Althuis MD, Jordan NE, Ludington EA, Wittes JT. Glucose and insulin responses to dietary chromium supplements: a meta-analysis. Am J Clin Nutr 2002; 76(1): 148-55.
13. Pittler MH, Stevinson C, Ernst E. Chromium picolinate for reducing body weight: meta-analysis of randomized trials. Int J Obes Relat Metab Disord 2003; 27(4): 522-9.
14. Phillips LS, Weintraub WS, Ziemer DC, Kolm P, Foster JK, Vaccarino V, et al. All pre-diabetes is not the same: metabolic and vascular risks of impaired fasting glucose at 100 versus 110 mg/dl: the Screening for Impaired Glucose Tolerance study 1 (SIGT 1). Diabetes Care 2006; 29(6): 1405-7.
15. Nawrocka A, Szkoda J. Determination of Chromium in Biological Material by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry Method. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 2012; 56(4): 585-9.
16. Gharipour M, Mohammadifard N, Asgary S, Naderi G. The prevalence of obesity and cardiovascular risk factors in Isfahan. [In Persian]. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences 2003; 7(2): 53-64.
17. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th ed. New York, NY: McGraw-Hill Professional; 2008.
18. Anderson RA, Cheng N, Bryden NA, Polansky MM, Cheng N, Chi J, et al. Elevated intakes of supplemental chromium improve glucose and insulin variables in individuals with type 2 diabetes. Diabetes 1997; 46(11): 1786-91.
19. Lau FC, Bagchi M, Sen CK, Bagchi D. Nutrigenomic basis of beneficial effects of chromium(III) on obesity and diabetes. Mol Cell Biochem 2008; 317(1-2): 1-10.
20. Nourmohammadi I, Kocheki-Shalmani A, Shaabani M, Gohari L, Nazar H. Zinc, Copper, Chromium, Manganese and Magnesium Levels in Serum and Hair of Insulin-dependent Diabetics. Arch Iran Med 2000; 3(3): 1-5.
21. Saburi S, Mohtadinia J, Ali-Asgarzadeh A, Nomi-Gholzar S, Yusefirad E. The relationship between serum level of chromium and serum malondialdehyde in patients with type II diabetes. J Shahrekord Univ Med Sci 2010; 12(2): 1-6. [In Persian].
22. Abdolsamadi H, zamani Bonab M, goodarz i M, Rafieian N, Radi S, Ahmadimotamayel F. Comparative evaluation of Chromium and Cadmium in gestational diabetes and Healthy Pregnant Women. [In Persian]. Iran J Endocrinol Metab 2011; 13(6): 673-80.
23. Tripathy S, Sumathi S, BhupalRaj G. Minerals Nutritional Status of Type 2 Diabetic Subjects. Int J Diab Dev Countries 2004; 24: 27-8.
24. Ding W, Chai Z, Duan P, Feng W, Qian Q. Serum and urine chromium concentrations in elderly diabetics. Biol Trace Elem Res 1998; 63(3): 231-7.
25. Ravina A, Slezack L. [Chromium in the treatment of clinical diabetes mellitus]. Harefuah 1993; 125(5-6): 142-5, 191.
26. Duncan MG. The effects of nutritional supplements on the treatment of depression, diabetes, and hypercholesterolemia in the renal patient. J Ren Nutr 1999; 9(2): 58-62.
27. Payami S, Saffarian S, Hasanzadeh A. Effects of Chromium supplementation on glycemic control in patients with Type 2 Diabetes. [In Persian]. Int J Endocrinol Metab 2012; 14(3): 215-21.

Journal of Isfahan Medical School Received: 25.12.2013

Vol. 32, No. 273, 2nd Week, April 2014 Accepted: 21.02.2014

Assessment of Chromium Levels in Patients with Prediabetes

Zahra Torabi MD[1], Rahmatollah Rafiei MD[2], Zahra Habibi MD[3], Lootfollah Fouladi MD[4], Somayeh Najafi MSc[5], Sedigheh Asgary PhD[6]

Original Article

Abstract

Background: Supplementations of chromium (Cr) have been shown to exert beneficial effects for the management of type-2 diabetes, as reflected by a decline in insulin response. Prevalence of chromium deficiency in patients with prediabetes is not well understood; the aim of this study was to evaluated the amount of this prevalence.

Methods: In this cross-sectional descriptive study, were recruited 132 patients with prediabetes. Participants were randomly selected from those referred to the Shariati hospital, Isfahan, Iran. Fasting venous blood samples were collected from participants to measure the levels of chromium, insulin, fasting blood sugar and 2-hour post load plasma glucose. Body mass index was calculated. Determination of Cr was carried out by atomic absorption spectrometry.

Findings: Of 132 patients, 24 were excluded due to failure to complete the test. Among remained patients, 34 (31.5%) had chromium deficiency, and 74 (68.5%) had normal serum levels of chromium. A significant inverse relationship was found between chromium levels and age in normal group.

Conclusion: Levels of chromium deficiency is relatively common in patients with prediabetes and it is necessary to eliminate chromium deficiency in screening patients for diabetes.

Keywords: Chromium, Insulin, Prediabetes

Citation: Torabi Z, Rafiei R, Habibi Z, Fouladi L, Najafi S, Asgary S. **Assessment of Chromium Levels in Patients with Prediabetes.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(273): 59-66

1- General Practitioner, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Isfahan, Iran
3- General Practitioner, School of Medicine, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Isfahan, Iran
4- Clinical Anatomical Pathologists, School of Medicine, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Isfahan, Iran
5- Acquired Immune Deficiency Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6- Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Somayeh Najafi MSc, Email: s.najafi.bio@gmail.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۷۳/هفته دوم فروردین ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۷

شناسایی مولکولی و مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین اشریشیاکلی در کودکان زیر ۵ سال شهر یاسوج

دکتر محمد کارگر[۱]، وحید آیین[۲]، دکتر عباس دوستی[۳]، محسن غلامی[۲]، مریم همایون[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اشریشیاکلی‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده‌ی اسهال و همچنین بیماری‌هایی نظیر سندرم اورمی همولیتیک (HUS یا Hemolytic uremic syndrome) و کولیت هموراژیک (HC یا Hemorrhagic colitis) می‌باشند. هدف از این پژوهش، بررسی شیوع سویه‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین و ژن‌های بیماری‌زای آن در کودکان زیر ۵ سال شهر یاسوج می‌باشد.

روش‌ها: این پژوهش به صورت مقطعی- توصیفی بر روی ۳۰۰ نمونه‌ی مدفوع اسهالی از کودکان زیر ۵ سال شهرستان یاسوج انجام شد. پس از تشخیص اولیه‌ی باکتری اشریشیاکلی با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی، ویروتیپ (STEC یا Shiga toxigenic Escherichia coli) با ارزیابی ژن‌های eaeA، stx_1 و stx_2 توسط تکنیک PCR (Polymerase chain reaction) چندگانه شناسایی و حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها با روش دیسک دیفیوژن بر اساس دستورالعمل CLSI (Clinical and laboratory standards institute) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در نمونه‌های مورد پژوهش، فراوانی ویروتیپ STEC، ۱۰۴ مورد (۳۴/۷ درصد) بود. از سویه‌های شناسایی شده ۱۴ مورد (۱۳/۵ درصد) ژن stx_1، ۳۱ مورد (۲۹/۸ درصد) ژن stx_2، ۹ مورد (۸/۷ درصد) ژن‌های stx_1-stx_2، ۱۲ مورد (۱۱/۵ درصد) ژن‌های eaeA- stx_1، ۲۵ مورد (۲۴ درصد) ژن‌های eaeA-stx_2 و ۱۳ مورد (۱۲/۵ درصد) هر سه ژن eaeA-stx_1-stx_2 را دارا بودند. با بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی مشخص شد که سویه‌های جداسازی شده، بیشترین میزان حساسیت را به آنتی بیوتیک ایمی‌پنم و بیشترین مقاومت را به آنتی بیوتیک سفتی زوکسیم دارند.

نتیجه‌گیری: سویه‌های اشریشیاکلی تولید کننده‌ی شیگاتوکسین در منطقه‌ی مورد پژوهش شیوع گسترده‌ای دارند. با توجه به تنوع ژنتیکی سویه‌های جداسازی شده، پایش گسترده‌ی بیمارستانی این ویروتیپ با استفاده از روش‌های دقیق مولکولی در سایر مناطق کشور پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: اشریشیاکلی تولید کننده‌ی شیگاتوکسین، Polymerase chain reaction چندگانه، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

ارجاع: کارگر محمد، آیین وحید، دوستی عباس، غلامی محسن، همایون مریم. **شناسایی مولکولی و مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین اشریشیاکلی در کودکان زیر ۵ سال شهر یاسوج.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۳): ۷۸-۶۷

مقدمه

بیماری اسهال یکی از علل مرگ و میر کودکان در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. سالانه حدود ۲۵ میلیون عفونت روده‌ای اتفاق می‌افتد و برآورد می‌شود حدود ۵-۳ میلیون از این موارد، منجر به مرگ شود. انواع متفاوتی از سویه‌های اشریشیاکلی ایجاد کننده‌ی

۱- دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران
۲- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران
۳- استادیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرودشت، مرودشت، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمد کارگر
Email: mkargar@jia.ac.ir

اسهال (DEC یا Diarrheagenic Escherichia coli) در این بیماری نقش دارند و کودکان نیز توسط تیپ‌های متفاوتی درگیر می‌شوند (۲-۱). در جریان شیوع اسهال خونی، اشریشیاکلی تولید کننده‌ی شیگاتوکسین (Shiga Toxigenic Escherichia coli یا STEC)، به عنوان یکی از سویه‌های مهم ایجاد کننده‌ی اسهال شناسایی شد که بیماری‌هایی مانند کولیت هموراژیک، سندرم اورمی همولیتیک و به ویژه نارسایی های حاد کلیوی در کودکان را ایجاد می‌کند (۴-۳).

با وجود این که چندین سویه‌ی اشریشیاکلی توانایی ایجاد کولیت‌های هموراژیک در انسان را دارند، اما سروتیپ O۱۵۷:H۷ مهم‌ترین سروتیپ شناسایی شده است (۵). این باکتری دارای مخازن بسیاری در بین حیوانات مختلف است و تماس با حیوانات یکی از مهم‌ترین راه‌های انتقال باکتری می‌باشد. البته گاوسانان به عنوان مخزن اصلی این باکتری محسوب می‌شوند. بنابراین، آلودگی با این سروتیپ، اغلب به علت استفاده از محصولات گاوی مانند گوشت چرخ شده، همبرگر، شیر و فراورده‌های آن ایجاد می‌شود (۷-۶).

این ویروتیپ دو توکسین قوی به نام توکسین‌های مشابه شیگا (Shiga like toxin) SLT_1 و SLT_2 و یا شیگاتوکسین stx_1 و stx_2 را تولید می‌کند که ژن‌های آن توسط فاژ کد می‌شوند. این توکسین ها دارای اثرات سیتوپاتیک بر روی سلول‌های اپی‌تلیال روده هستند و در ایجاد اسهال خونی نقش دارند (۸-۷). برخی از سویه‌ها یکی از این دو نوع توکسین و برخی دیگر هر دو نوع توکسین را تولید می‌کنند. نقش SLT_2 در ایجاد بیماری، مهم‌تر از SLT_1 است و احتمال دارد این مسأله به دلیل سطح بالاتر نسخه‌برداری از ژن stx_2 در بدن باشد (۹). از دیگر عوامل بیماری‌زای سویه‌های STEC، یک پروتئین ۹۴ کیلو دالتونی غشای خارجی به نام اینتیمین (Intimin) است که مسؤول اتصال باکتری به روده می‌باشد.

به ژن کد کننده‌ی این پروتئین eaeA (E. coli attaching and effacing) می‌گویند. وجود ژن eae در سویه‌های STEC به وضوح با خطر افزایش اسهال خونی در انسان همراه می‌باشد (۱۰).

شدت بیماری‌زایی سویه‌های STEC تنها وابسته به عوامل بیماری‌زای آن‌ها نیست؛ بلکه به توانایی بالای این پاتوژن‌ها برای زندگی در شرایط سخت و تنش‌های محیطی مانند مقاومت به pH پایین سیستم گوارش نیز ارتباط دارد. در بین سروتیپ‌های STEC، سروتیپ O۱۵۷:H۷ بیشتر در موارد همه‌گیری مشاهده می‌شود و بیماری‌زایی شدیدی دارد. اما سایر سروتیپ‌ها ممکن است موجب عفونت‌های انسانی با شدت کمتر و متفاوتی شوند. این تفاوت در کمیت و کیفیت بیماری‌های ایجاد شده توسط سویه‌های STEC باعث تقسیم‌بندی‌های جدید شده است که یکی از ساده‌ترین این تقسیم‌بندی‌ها، تقسیم STEC به دو سروتیپ اشریشیاکلی O۱۵۷ و غیر O۱۵۷ می‌باشد (۱۱).

تشخیص آزمایشگاهی عفونت STEC توسط روش‌هایی مانند استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی، سنجش‌های سرولوژیکی، کشت سلولی و واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR یا Polymerase chain reaction) امکان پذیر است (۱۲). تشخیص این باکتری، با توجه به عدم توانایی تخمیر سوربیتول با استفاده از محیط کشت سوربیتول

مک کانکی آگار (Mac Conkey agar) به عنوان یک محیط متمایز کننده همراه با سفیکسیم و تلوریت پتاسیم (Agar Cefixime tellurit-sorbitol MacConkey یا CT-SMAC) انجام می‌شود.

همچنین با استفاده از محیط کشت‌های اختصاصی دیگری مانند Rainbow آگار، CHROM آگار و ID O۱۵۷:H آگار نیز امکان جداسازی سویه‌ی O۱۵۷ وجود دارد (۱۴-۱۳، ۱). تعیین هویت سویه‌های STEC را می‌توان با استفاده از روش‌های سرولوژی و شناسایی شیگاتوکسین تشخیص داد. همچنین روش بررسی توکسیسیته‌ی سلولی، با استفاده از رده‌های سلولی HeLa و Vero روش بسیار حساسی است؛ زیرا این رده‌های سلولی میزان زیادی از Gb۳ و Gb۴ را دارند که گیرنده‌های شیگاتوکسین هستند. آزمایش‌های خنثی‌سازی نیز با استفاده از آنتی بادی‌های ضد SLT_1 و SLT_2 انجام می‌شود، اما بر خلاف حساسیت بسیار بالای این آزمایش‌ها به صورت متداول از آن‌ها استفاده نمی‌شود. آزمون PCR یک روش مناسب برای شناسایی سویه‌های STEC است که مانند روش‌های سرولوژی، به طور مستقیم بر روی نمونه‌ی مدفوع قابل انجام است. هر چند که به دلیل حساسیت پایین استفاده از نمونه‌های مستقیم مدفوع برای PCR پیشنهاد نمی‌شود (۱۳).

سویه‌های STEC، تنها پاتوتایپ مشترک انسان و دام (Zoonotic) اشریشیاکلی می‌باشند و بیش از ۳۸۰ سروتیپ آن تا کنون از انسان جدا شده است. البته اکثر بیماری‌های انسانی توسط تعداد کمی از سروتیپ‌ها ایجاد می‌شود و ارتباط مستقیمی با مکان و فصل شیوع دارد. پس از O۱۵۷، سروتیپ‌های O۲۶، O۴۵، O۹۱، O۱۰۳، O۱۱۱، O۱۱۳، O۱۲۱ و O۱۴۵ عامل بیشترین موارد STEC هستند (۱۳، ۱۱).

متأسفانه با وجود اهمیت بیماری‌زایی سویه‌های STEC و به ویژه سروتیپ O۱۵۷ :H۷ پژوهش‌های محدودی در مورد پایش دقیق این ویروتیپ در ایران انجام شده است. مطالعه‌ی حاضر با هدف ارزیابی شیوع و بررسی ژن‌های بیماری‌زای STEC و همچنین بررسی تظاهرات بالینی و الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی مرتبط با آن در کودکان زیر ۵ سال شهرستان یاسوج انجام گرفت.

روش‌ها

نمونه‌گیری: در یک مطالعه‌ی مقطعی- توصیفی و طی یک دوره‌ی ۶ ماهه، تعداد ۳۰۰ نمونه‌ی مدفوع از کودکان زیر ۵ سال مبتلا به اسهال مراجعه کننده به مراکز درمانی شهر یاسوج از بهمن ماه سال ۱۳۹۰ تا پایان تیر ماه سال ۱۳۹۱ جمع‌آوری شد. مراکز درمانی مورد پژوهش، بیمارستان امام سجاد (ع) (بیمارستان مرجع اطفال استان کهگیلویه و بویراحمد) و آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهر یاسوج بودند. نمونه‌ها به فاصله‌ی چند ساعت پس از جمع‌آوری مورد بررسی قرار گرفتند. در تمامی نمونه‌ها، اطلاعات کلینیکی مربوط به هر بیمار نیز در پرسش‌نامه‌ی تنظیمی ثبت گردید.

جداسازی باکتری: نمونه‌های مدفوع اسهالی جمع‌آوری شده، ابتدا بر روی محیط‌های مک کانکی، بلاد آگار (Blood agar)، EMB (Eosin-Methylene Blue Agar) و XLD (Xylose lysine deoxycholate agar) کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری، پلیت‌های

محیط کشت از نظر وجود باکتری اشریشیاکلی مورد بررسی قرار گرفت. تعیین هویت کلنی‌های مشکوک به اشریشیاکلی، با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی TSI (Triple sugar iron)، SIM (Sulfur indole motility)، MR/VP (Methyl red/ Voges-Proskauer)، سیمون سیترات، اوره، لیزین دکربوکسیلاز (تمامی محیط‌های کشت مربوط به شرکت Merck آلمان) انجام شد. سپس سویه‌های اشریشیاکلی جداسازی شده در میکروتیوب‌های حاوی محیط تریپتیکاز سوی براث (TSB یا Tryptic soy broth) واجد گلیسرول ۲۰ درصد استریل در دمای ۲۰- °C نگهداری گردید (۱۶-۱۵).

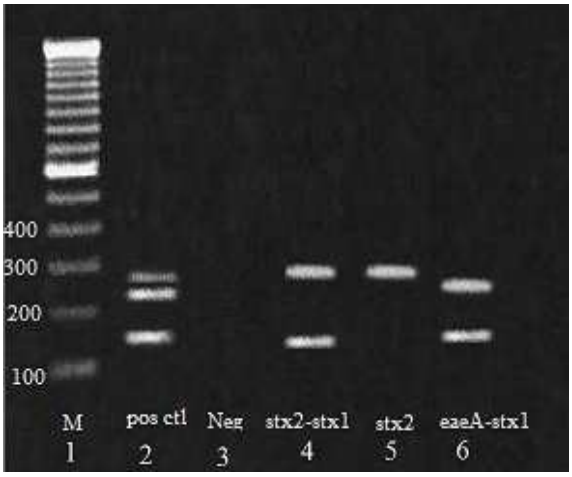
بررسی ژن‌های بیماری‌زا: سویه‌های اشریشیاکلی در محیط مولر هینتون آگار (Müller-Hinton agar) کشت داده شدند و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری استخراج DNA با روش جوشاندن (Boiling) انجام گردید (۱۷). برای ردیابی همزمان ژن‌های بیماری‌زا، از روش PCR چندگانه استفاده شد (۱۸). توالی پرایمرهای مورد استفاده، توسط نرم‌افزار Gene Runner مورد بررسی قرار گرفت. در جدول ۱ توالی الیگونوکلئوتیدی سه جفت پرایمر مورد استفاده برای ژن‌های هدف *eaeA*، stx_2 و stx_1 و اندازه‌ی محصولات نشان داده شده است.

آزمون PCR چندگانه در حجم نهایی ۲۵ µl، حاوی ۲ µl DNA الگو، ۲۰۰ µmol dNTPs (Deoxynucleotide triphosphates)، ۱/۵ µmol، $MgCl_2$، ۱/۵ واحد DNA پلیمراز Taq (شرکت سیناژن، ایران)، ۰/۲ µmol از هر کدام از پرایمرها انجام شد (۲۰-۱۹). واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر با شرایط ۹۵ °C ۵ دقیقه (واسرشت‌سازی ابتدایی)، ۹۴ °C ۶۰ ثانیه (واسرشت‌سازی)، ۵۸ °C ۶۰ ثانیه (اتصال پرایمر)، ۷۲ °C ۶۰ ثانیه (گسترش پرایمر) ۳۲ سیکل و ۷۲ °C ۳ دقیقه (گسترش نهایی) انجام شد. در نهایت، ۱۰ ml از محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد واجد اتیدیوم بروماید منتقل گردید و پس از الکتروفورز توسط دستگاه ترانس لومیناتور مورد بررسی قرار گرفت. از سویه‌ی اشریشیاکلی ATCC۳۵۴۰۱ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (شکل ۱).

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده به منظور شناسایی ویروتیپ‌های اشریشیاکلی

ویروتیپ	ژن	توالی پرایمر ۵′→۳′	اندازه‌ی تکثیر (bp)	منبع
STEC EPEC	eaeA	F: ATGCTTAGTGCTGGTTTAGG R: GCCTTCATCATTTCGCTTTC	۲۴۸	۲۹
STEC	stx_1	F: CTGGATTTAATGTCGCATAGTG R: AGAACGCCCACTGAGATCATC	۱۵۰	۱۹
STEC	stx_2	F: GGCACTGTCTGAAACTGCTCC R: TCGCCAGTTATCTGACATTCTG	۲۵۵	۱۹

STEC: Shiga toxigenic Escherichia coli; EPEC: Enteropathogenic Escherichia coli



شکل ۱. نمایش ژن‌های بیماری‌زای شناسایی شده با روش PCR چندگانه بر روی ژل آگاروز. ۱: اندازه‌ی نشانگر ۱۰۰ جفت بازی، ۲: شاهد مثبت، ۳: شاهد منفی، ۴: آمپلیکون ۲۵۵ جفت بازی ژن stx۲ و ۱۵۰ جفت بازی ژن stx۱، ۵: آمپلیکون ۲۵۵ جفت بازی ژن stx۲ ۶: آمپلیکون ۲۴۸ جفت بازی ژن eaeA و ۱۵۰ جفت بازی ژن stx۱

ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی: مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جداسازی شده، با روش استاندارد EUCAST-2011 CLSI

(Clinical and laboratory standard institute) CLSI کمیته‌ی اروپایی آزمون حساسیت ضد میکروبی (EUCAST-۲۰۱۱ یا European committee on antimicrobial susceptibility testing) (۲۲-۲۱)، نسبت به دیسک‌های‌های آنتی بیوتیکی سفتازیدیم (۳۰ µg)، سفتریاکسون (۳۰ µg)، سفیکسیم (۳۰ µg)، سفوتاکسیم (۳۰ µg)، سفتی‌زوکسیم (۳۰ µg)، سیپروفلوکساسین (۱۰ µg)، آمیکاسین (۴۰ µg)، ایمی‌پنم (۱۵ µg)، مروپنم (۱۰ µg)، تری متوپریم- سولفامتوکسازول (۱/۲۵ µg + ۲۳/۷۵)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ µg)، افلوکساسین (۱۰ µg) و نورفلوکساسین (۱۰ µg) با اندازه‌گیری قطر هاله‌ی بازدارنده‌ی رشد و با توجه به دستور شرکت ROSCO کشور دانمارک ارزیابی شد. از سویه‌ی اشریشیاکلی ATCC ۲۵۹۲۲ به عنوان شاهد استفاده گردید.

آنالیز آماری: آنالیزهای آماری با استفاده از نسخه هیجدهم نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۸ (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) و Microsoft Excel ۲۰۱۰ و همچنین آزمون‌های χ^2 و Fisher's exact انجام گردید. مرز معنی‌داری بر روی $P < ۰/۰۵$ قرار داده شد.

یافته‌ها

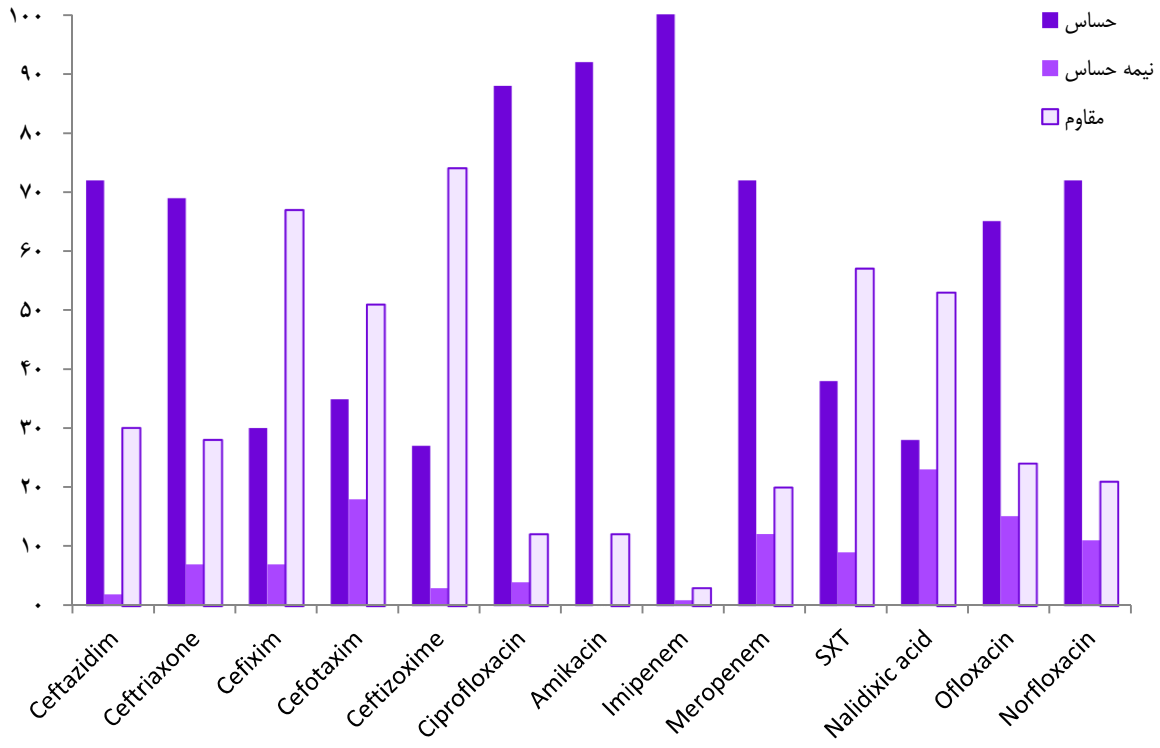
در این پژوهش تعداد ۳۰۰ نمونه‌ی مدفوع اسهالی از کودکان زیر ۵ سال در شهرستان یاسوج مورد مطالعه قرار گرفت. برای تفکیک کودکان زیر ۵ سال، گروه‌بندی سنی جمعیت مورد پژوهش به ۹ گروه سنی انجام شد (جدول ۲). از مجموع نمونه‌های مورد پژوهش، ۱۶۲ نمونه (۵۴ درصد) مربوط به پسران و ۱۳۸ نمونه (۴۶ درصد)، مربوط به دختران بود. بیشترین فراوانی DEC (Diarrheagenic Escherichia coli) در جنس پسر و دختر به ترتیب ۳۹ (۱۳ درصد) و ۳۷ (۱۲/۳ درصد) و در هر دو جنس مربوط به گروه سنی ۵-۳ ماه بود (جدول ۲). با استفاده از آزمون دو جمله‌ای مشخص گردید که بین بیماران پسر و دختر مورد پژوهش، اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P = ۰/۱۸۴$). بیشترین میزان جداسازی DEC، مربوط به فروردین ماه با ۶۹ مورد جداسازی (۲۳ درصد) بود. از این تعداد، ۴۰ مورد (۱۳/۳ درصد) از پسران و ۲۹ مورد (۹/۶۶ درصد) از دختران جداسازی گردید. با استفاده از آزمون χ^2 مشخص شد که ارتباط معنی‌داری بین فصل و جنسیت وجود ندارد ($P = ۰/۰۹۶$).

در کل، با استفاده از روش مولکولی در ۱۰۴ نمونه (۳۴/۷ درصد) سویه‌های STEC شناسایی شد. از این تعداد، ۶۲ مورد (۵۹/۶ درصد) مربوط به نمونه‌های جدا شده از پسران و ۴۲ مورد (۴۰/۴ درصد) مربوط به دختران بود. با استفاده از آزمون χ^2 نشان داده شد که ارتباط معنی‌داری بین ویروتیپ STEC و جنسیت وجود ندارد (P = ۰/۵۲۷). از سویه‌های جدا سازی شده ۱۴ مورد (۱۳/۵ درصد) ژن stx_1، ۳۱ مورد (۲۹/۸ درصد) ژن stx_2، ۹ مورد (۸/۶ درصد) ژن‌های stx_1-stx_2، ۱۲ مورد (۱۱/۵ درصد) ژن‌های $eaeA$-stx_1، ۲۵ مورد (۲۴/۰ درصد) ژن‌های $eaeA$-stx_2 و ۱۳ مورد (۱۲/۵ درصد) ژن‌های $eaeA$-stx_1-stx_2 را داشتند. بین جنسیت (P = ۰/۱۸۳) و سن کودکان زیر پنج سال (P = ۰/۸۹۵) و شیوع STEC ارتباط معنی‌داری شناسایی نشد.

به دلیل جمع‌آوری تصادفی نمونه‌ها، توزیع فراوانی سویه‌های STEC در ماه‌های مختلف سال متفاوت بود. فراوانی باکتری‌های جداسازی شده در ماه‌های بهمن، اسفند، فروردین، اردیبهشت، خرداد و تیر به ترتیب ۱۸ (۱۷/۳ درصد)، ۲۰ (۱۹/۲ درصد)، ۲۲ (۲۱/۱ درصد)، ۲۲ (۲۱/۱ درصد)، ۱۳ (۱۲/۵ درصد)، ۹ (۸/۷ درصد) بود. با استفاده از آزمون χ^2 مشخص شد که بین ماه‌های مورد پژوهش و فراوانی سویه‌های STEC ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (P = ۰/۶۸۹). در کودکان مبتلا به STEC، ۵۲ نفر (۵۰ درصد) علایم اسهال خفیف، ۵۱ نفر (۴۹/۰ درصد) اسهال شدید، ۷۳ نفر (۷۰/۲ درصد) استفراغ و ۶۴ نفر (۶۱/۵ درصد) نیز علامت تب را نشان دادند. فراوانی ژنوتیپ‌های STEC در جدایه‌های بیمارستانی ۵۵ مورد (۵۲/۹ درصد) و در آزمایشگاه‌های خصوصی ۴۹ مورد (۴۷/۱ درصد) بود. با استفاده از آزمون Exact's Fisher مشخص شد که رابطه‌ی معنی‌دار بین مراکز درمانی و ژنوتیپ‌های STEC وجود ندارد (P = ۰/۹۴۰).

جدول ۲. توزیع فراوانی مطلق و نسبی جمعیت مورد پژوهش بر اساس جنسیت و گروه سنی

گروه سنی	پسر تعداد (درصد)	دختر تعداد (درصد)	جمع کل تعداد (درصد)
۰-۲	۱۲ (۴/۰۰)	۹ (۳/۰۰)	۲۱ (۷/۰۰)
۳-۵	۳۹ (۱۳/۰۰)	۳۷ (۱۲/۳۳)	۷۶ (۲۵/۳۳)
۶-۸	۳۳ (۱۱/۰۰)	۲۳ (۷/۶۶)	۵۶ (۱۸/۶۶)
۹-۱۱	۲۲ (۳۴/۰۰)	۱۴ (۴/۶۶)	۳۶ (۱۲/۰۰)
۱۲-۱۷	۲۲ (۷/۳۳)	۲۲ (۷/۳۳)	۴۴ (۱۴/۶۶)
۱۸-۲۳	۸ (۲/۶۶)	۷ (۲/۳۳)	۱۵ (۵/۰۰)
۲۴-۳۵	۱۳ (۴/۳۳)	۱۰ (۳/۳۳)	۲۳ (۷/۶۶)
۳۶-۴۷	۴ (۱/۳۳)	۴ (۱/۳۳)	۸ (۲/۶۶)
۴۸-۷۲	۹ (۳/۰۰)	۱۲ (۴/۰۰)	۲۱ (۷/۰۰)
جمع	۱۶۲ (۵۴)	۱۳۸ (۴۶)	۳۰۰ (۱۰۰)



شکل ۲. الگوی حساسیت به آنتی بیوتیک‌ها در سویه‌های STEC (Shiga toxigenic Escherichia coli) جداسازی شده از کودکان شهر یاسوج

ارزیابی حساسیت سویه‌ها در برابر آنتی بیوتیک‌های مورد بررسی، نشان داد که بیشترین میزان حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، آمیکاسین و سیپروفلوکساسین وجود دارد. همچنین بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی به ترتیب مربوط به سفتی‌زوکسیم، سفیکسیم و تری متوپریم-سولفامتوکسازول بود (شکل ۲).

بحث

اسهال همیشه به عنوان یک چالش بزرگ، سلامت انسان را تهدید می‌کند و نیاز به شناسایی پاتوژن‌های ایجاد کننده‌ی آن یک موضوع مهم در بحث سلامت است. عوامل باکتریایی حدود ۲۴ درصد از اسهال‌ها را ایجاد می‌کنند و بیش از ۷۰ درصد مرگ و میر کودکان زیر ۵ سال در اثر بیماری های اسهالی اتفاق می‌افتد (۷). با وجود اهمیت قابل توجه برخی سویه‌های STEC در ایجاد اسهال خونی، متأسفانه گزارش‌های محدودی در مورد ارزیابی اپیدمیولوژی مولکولی این باکتری در ایران وجود دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که در شهر یاسوج، ۳۴/۷ درصد از سویه‌های DEC متعلق به ویروتیپ STEC می‌باشند.

بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک، میزان شیوع آلودگی با سویه‌های STEC در مناطق جغرافیایی مختلف، متفاوت است. همچنین فراوانی حیوانات مخزن نیز عامل دیگری برای افزایش موارد آلودگی محسوب می‌شود. میزان آلودگی با STEC در انواع گروه‌های سنی توسط محققین مختلفی در سطح جهان بررسی شده است. شیوع سویه‌های STEC در فنلاند

(۲۳) ۱/۵ درصد، در آمریکا (۱۸) ۱/۶ درصد و در بنگلادش (۲۴) ۷۱/۶ درصد گزارش گردیده است.

در ایران علیخانی و همکاران در استان‌های مازندران و ایلام، میزان شیوع ویروتیپ‌های STEC و EPEC (Enteropathogenic Escherichia coli) در کودکان زیر ۱۰ سال را بررسی کردند. در این جامعه‌ی آماری، ۱۸۰ کودک مبتلا به اسهال و ۱۱۰۸ کودک نیز بدون اسهال بودند که از افراد اسهالی ۱۶ سویه‌ی STEC و از افراد بدون اسهال نیز ۲۳ مورد STEC جداسازی شد (۲۵). جعفری و همکاران در تهران شیوع انتروپاتوژن‌ها در کودکان زیر ۵ سال را توسط تکنیک PCR و آزمایش‌های بیوشیمیایی بررسی کردند. در این پژوهش، *شیگلا* با بیشترین فراوانی (۲۶/۷ درصد) به عنوان اولین عامل و سویه‌های STEC (۱۸/۹ درصد) به عنوان دومین عامل ایجاد کننده‌ی اسهال معرفی شدند (۲۶).

همچنین جعفری و همکاران در پژوهشی دیگر در تهران به بررسی اسهال در بیماران بالای ۵ سال پرداختند که بیشترین میزان فراوانی مربوط به شیگلا (۳۹/۸ درصد) و سویه‌های *اشریشیاکلی* ایجاد کننده‌ی اسهال (۳۱/۷ درصد) بود و شیوع ویروتیپ‌های EPEC، (Enteroaggregative Escherichia coli) EAEC، (Enterotoxigenic Escherichia coli) ETEC و STEC به ترتیب برابر ۳/۲ درصد، ۵/۴ درصد، ۱۲/۷ درصد و ۱۷/۳ درصد گزارش شد (۲۷).

در این پژوهش، از ۳۰۰ نمونه در کودکان زیر ۵ سال در یاسوج، ۱۰۴ کودک (۳۴/۷ درصد) دارای ویروتیپ STEC بودند که مشابه تحقیق انجام شده توسط Reyes و همکاران (۱) و نیز Nessa و همکاران (۲۴) نشان دهنده‌ی میزان بالای آلودگی است و به اهمیت نقش سویه‌ی STEC در ایجاد اسهال اشاره دارد. در حالی که در مطالعه‌ای در مرودشت، میزان آلودگی با سروتیپ O۱۵۷:H۷ E.coli ۱/۱۴ درصد گزارش گردید. این نتیجه حاکی از تفاوت قابل توجه فراوانی سویه‌های STEC در مناطق مختلف کشور می‌باشد.

در اکثر پژوهش‌ها استفاده از تکنیک PCR چندگانه به منظور شناسایی ویروتیپ‌ها به عنوان روشی مناسب معرفی شده است و روش‌های کشت و سرولوژی با توجه به محدودیت‌های تشخیصی، به مرور زمان جای خود را به روش‌های مولکولی داده‌اند. البته در پژوهش حاضر برای تأیید برخی نتایج مشکوک PCR چندگانه، از روش PCR جداگانه (Single) نیز استفاده گردید. در نیکاراگوئه Reyes و همکاران ویروتیپ‌های اشریشیاکلی در نمونه‌های مدفوعی را با استفاده از روش PCR چندگانه مورد بررسی قرار دادند. بیشترین ژن‌های شناسایی در پژوهش یاد شده eltB، estA، eaeA، vt_1، vt_2، ial و CVD۴۳۲ بود. این مسأله نشان دهنده‌ی اهمیت نقش سویه‌های STEC و EPEC در ایجاد اسهال می‌باشد (۱).

در پژوهش انجام شده توسط Guion و همکاران در آمریکا، از تکنیک PCR real time چندگانه به منظور بررسی ویروتیپ‌های مختلف اشریشیاکلی استفاده شد (۱۷). از ۵۷ سویه‌ی *E.coli* O۱۵۷:H۷ جداسازی شده در امریکا توسط Byrne و همکاران، ۳۸ سویه ژن‌های stx_1، stx_2، eaeA و hly، ۱۱ سویه ژن‌های stx_1، eaeA و hly، ۵ سویه ژن‌های stx_2، eaeA و hly و ۳ سویه نیز ژن‌های stx_1، stx_2 و eaeA را داشتند (۲۸).

البرزی و همکاران در شیراز، شیوع سروتیپ O۱۵۷:H۷ در مبتلایان به اسهال خونی را بررسی نمودند که در نهایت از ۳۴ درصد نمونه‌ها شیگلا، از ۸/۶ درصد اشریشیاکلی و از ۲ درصد *کمپیلوباکتر* جداسازی گردید. اما از هیچ یک از نمونه‌های مورد پژوهش سروتیپ O۱۵۷:H۷ جداسازی نشد (۲۹). در بررسی شمس و همکاران در تهران بر روی ۹۴۷ نمونه‌ی مدفوع اسهالی از کودکان زیر ۱۴ سال، ۲۷ (۲/۸ درصد) سویه STEC دارای ژن‌های stx_1 یا stx_2 بودند (۱۵).

در باکتری‌های جداسازی شده از یاسوج، ۱۴ سویه ژن stx_1، ۳۱ سویه ژن stx_2، ۹ سویه ژن‌های stx_1-stx_2، ۱۲ سویه ژن‌های stx_1eaeA-، ۲۵ سویه ژن‌های eaeA-stx_2 و ۱۳ سویه هر سه ژن eaeA-stx_1-stx_2 را داشتند. پژوهش‌های قبل در مورد نمونه‌های کلینیکی (۷) و مواد غذایی (۱۰، ۵) فراوانی بیشتر ژن stx_1 نسبت به stx_2 و وجود همزمان ژن‌های stx_1 و eae را در سطح استان فارس به عنوان الگوی ژنتیکی نشان می‌دهد. اما فراوان‌ترین ژنوتیپ پژوهش حاضر، stx_2 به تنهایی و یا همراه با ژن eae بود. این در حالی است که در جهرم نیز پس از انجام PCR برای ردیابی شیگاتوکسین، از ۱۷ نمونه‌ی مثبت با آنتی سرم تنها در یک سویه‌ی ژن شیگاتوکسین stx_2 مشاهده گردید (۱۶). شباهت عوامل ویرولانس سویه‌های جدا شده از مناطق مختلف می‌تواند نشان دهنده‌ی شیوع یک سویه در مکان مورد پژوهش و معیاری برای اندازه‌گیری شدت بیماری‌زایی باکتری‌های در حال چرخش باشد (۵).

نهایی و همکاران پس از بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های STEC جدا شده از بیمارستان‌های شهر تبریز، حساسیت ۱۰۰ درصد جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، جنتامایسین و سفالکسین را گزارش نمودند (۳۰). همچنین در پژوهش انجام شده توسط کارگر و همکاران، مقاومت تمامی جدایه‌های EHEC به آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین، آمپی سیلین و اریترومایسین و حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک‌های تتراسیکلین، تری متوپریم- سولفامتوکسازول و کلرامفنیکل در شهر مرودشت گزارش شده است (۷). اکبری و همکاران نیز مقاومت بیشتر سویه‌های STEC به آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، سفالکسین، سفتازیدیم، سفتریاکسون و سفوتاکسیم و حساسیت تمامی جدایه‌ها به آنتی بیوتیک‌های ایمی‌پنم، مروپنم، جنتامایسین را گزارش نمودند (۳۱). اما نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که سویه‌های STEC جدا شده، نسبت به آنتی بیوتیک‌های سفتی‌زوکسیم و سفیکسیم مقاومت قابل توجه و در برابر آنتی بیوتیک‌های ایمی‌پنم، آمیکاسین و سیپروفلوکساسین حساسیت زیادی دارند.

نتیجه‌گیری

بیماری‌های اسهالی در همه‌ی گروه‌های سنی و در تمام مناطق جغرافیایی جهان اتفاق می‌افتد. نتایج این پژوهش نشان داد که ویروتیپ STEC اشریشیاکلی تولید کننده‌ی اسهال از مهم‌ترین عوامل ایجاد اسهال در کودکان زیر ۵ سال می‌باشد. در نتیجه، انجام مطالعات گسترده و پایش مناطق مختلف کشور به منظور شناسایی ویروتیپ‌های در حال چرخش اشریشیاکلی با استفاده از تکنیک‌های مولکولی ضروری به نظر می‌رسد.

با مقایسه‌ی پژوهش‌های مختلف می‌توان

نتیجه‌گیری نمود که حساسیت یا مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های جدا شده از مناطق جغرافیایی مختلف مطلق نیست. این مسأله می‌تواند نشان دهنده‌ی دورنمای شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های STEC به آنتی‌بیوتیک‌های متداول در اغلب کشورهای دنیا باشد. شایان یادآوری است که در حال حاضر، ایمی‌پنم بهترین انتخاب برای درمان بیماران مبتلا به این سویه می‌باشد. اما به نظر می‌رسد که این حساسیت نیز شکننده باشد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر بخشی از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم به شماره‌ی ۸۷۰۰۱۴۰۲۰ بود. نویسندگان مقاله بدین وسیله مراتب قدردانی و تشکر خود را از معاون پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و همچنین پرسنل محترم مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد به‌دلیل حمایت‌های اجرایی اعلام می‌دارند.

References

1. Reyes D, Vilchez S, Paniagua M, Colque-Navarro P, Weintraub A, Mollby R, et al. Diarrheagenic Escherichia coli markers and phenotypes among fecal E. coli isolates collected from Nicaraguan infants. J Clin Microbiol 2010; 48(9): 3395-6.
2. Schultsz C, van den Ende J, Cobelens F, Vervoort T, van GA, Wetsteyn JC, et al. Diarrheagenic Escherichia coli and acute and persistent diarrhea in returned travelers. J Clin Microbiol 2000; 38(10): 3550-4.
3. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic Escherichia coli. Clin Microbiol Rev 1998; 11(1): 142-201.
4. Chang WS, Afsah-Hejri L, Rukayadi Y, Khatib A, Lye YL, Loo YY, et al. Quantification of Escherichia coli O157:H7 in organic vegetables and chickens. Int Food Res J 2013; 20(2): 1023-9.
5. Kargar M, Daneshvar M, Homayoon M. Surveillance of virulence markers and antibiotic resistance of shiga toxin producing E.coli O157:H7 strains from meats purchase in Shiraz. Iran South Med J 2011; 14(2): 76-83.
6. Brzuszkiewicz E, Thurmer A, Schuldes J, Leimbach A, Liesegang H, Meyer FD, et al. Genome sequence analyses of two isolates from the recent Escherichia coli outbreak in Germany reveal the emergence of a new pathotype: Entero-Aggregative-Haemorrhagic Escherichia coli (EAHEC). Arch Microbiol 2011; 193(12): 883-91.
7. Kargar M, Homayoon M. Outbreaks of infection sources and antibiotic resistance in EHEC strains among children under 5 years old in Marvdasht. Med Sci J Islamic Azad Univ Tehran Med Branch 2010; 19(4): 268-73.
8. Beddoe T, Paton AW, Le NJ, Rossjohn J, Paton JC. Structure, biological functions and applications of the AB5 toxins. Trends Biochem Sci 2010; 35(7): 411-8.
9. Croxen MA, Finlay BB. Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity. Nat Rev Microbiol 2010; 8(1): 26-38.
10. Shah Ili M, Kargar M, Rezaeian Jahrommi AA, Homayoon M, Kargar M, Ghorbani-Dalini S. Evaluation of virulance genes of shiga toxin producing Escherichia coli from juice purchase and vegetables in Shiraz. Journal of Microbial World 2010; 3 (1): 40-7.
11. Karmali MA, Mascarenhas M, Shen S, Ziebell K, Johnson S, Reid-Smith R, et al. Association of genomic O island 122 of Escherichia coli EDL 933 with verocytotoxin-producing Escherichia coli seropathotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. J Clin Microbiol 2003; 41(11): 4930-40.
12. Smith HR, Scotland SM. ACP Broadsheet 135: January 1993. Isolation and identification methods for Escherichia coli O157 and other Vero cytotoxin producing strains. J Clin Pathol 1993; 46(1): 10-7.
13. Gould LH, Bopp C, Strockbine N, Atkinson R, Baselski V, Body B, et al. Recommendations for diagnosis of shiga toxin--producing Escherichia coli infections by clinical laboratories. MMWR Recomm Rep 2009; 58(RR-12): 1-14.
14. Viazis S, Diez-Gonzalez F. Enterohemorrhagic *Escherichia coli:* the twentieth century's emerging foodborne pathogen: a review. Advances in Agronomy 2011; 111: 1-50.
15. Shams S, Haghi-Ashtiani MT, Nasrollahi L,

Shahsiah R, Monajemzadeh M, Tahbaz-Lahafi B, et al. Frequency of shiga toxin-producing genes of Escherichia coli isolated from diarrheic stools of Iranian children by PCR. Iran J Pediatr 2013; 23(6): 637-42.
16. Kargar M, Heidary S, Abbasian F, Shekarforoosh Sh. Survey of different enrichment methods, prevalence and antibiotic resistance of *E. coli* O157:H7 in raw milk of Jahrom cows. Iran J Infect Dis Trop Med 2006; 11(34): 7-11.
17. Guion CE, Ochoa TJ, Walker CM, Barletta F, Cleary TG. Detection of diarrheagenic Escherichia coli by use of melting-curve analysis and real-time multiplex PCR. J Clin Microbiol 2008; 46(5): 1752-7.
18. Vidal M, Kruger E, Duran C, Lagos R, Levine M, Prado V, et al. Single multiplex PCR assay to identify simultaneously the six categories of diarrheagenic Escherichia coli associated with enteric infections. J Clin Microbiol 2005; 43(10): 5362-5.
19. Lopez-Saucedo C, Cerna JF, Villegas-Sepulveda N, Thompson R, Velazquez FR, Torres J, et al. Single multiplex polymerase chain reaction to detect diverse loci associated with diarrheagenic Escherichia coli. Emerg Infect Dis 2003; 9(1): 127-31.
20. Wang L, Li Y, Mustaphai A. Rapid and simultaneous quantitation of Escherichia coli 0157:H7, Salmonella, and Shigella in ground beef by multiplex real-time PCR and immunomagnetic separation. J Food Prot 2007; 70(6): 1366-72.
21. Silley P. Susceptibility testing methods, resistance and breakpoints: what do these terms really mean? Rev Sci Tech 2012; 31(1): 33-41.
22. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-first informational supplement. CLSI document M100-S21. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.
23. Keskimaki M, Eklund M, Pesonen H, Heiskanen T, Siitonen A. EPEC, EAEC and STEC in stool specimens: prevalence and molecular epidemiology of isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2001; 40(4): 151-6.
24. Nessa K, Dilruba A, Islam J, Kabir L, Hossai MA. Usefulness of a multiplex PCR for detection of diarrheagenic escherichia coli in a diagnostic microbiology laboratory setting, Bangladesh. J Med Microbiol 2007; 1(2): 38-42.
25. Alikhani MY, Mirsalehian A, Fatollahzadeh B, Pourshafie MR, Aslani MM. Prevalence of enteropathogenic and shiga toxin-producing Escherichia coli among children with and without diarrhoea in Iran. J Health Popul Nutr 2007; 25(1): 88-93.
26. Jafari F, Garcia-Gil LJ, Salmanzadeh-Ahrabi S, Shokrzadeh L, Aslani MM, Pourhoseingholi MA, et al. Diagnosis and prevalence of enteropathogenic bacteria in children less than 5 years of age with acute diarrhea in Tehran children's hospitals. J Infect 2009; 58(1): 21-7.
27. Jafari F, Shokrzadeh L, Hamidian M, Salmanzadeh-Ahrabi S, Zali MR. Acute diarrhea due to enteropathogenic bacteria in patients at hospitals in Tehran. Jpn J Infect Dis 2008; 61(4): 269-73.
28. Byrne CM, Erol I, Call JE, Kaspar CW, Buege DR, Hiemke CJ, et al. Characterization of Escherichia coli O157:H7 from downer and healthy dairy cattle in the upper Midwest region of the United States. Appl Environ Microbiol 2003; 69(8): 4683-8.
29. Alborzi A, Aelami MH, Astaneh B, Pourabbas B, Farshad S, Kalani M, et al. Is Escherichia coli O157:H7 a common pathogen in children with bloody diarrhea in Shiraz, Iran? Turk J Pediatr 2008; 50(4): 349-53.
30. Nahaei MR, Akbari Dibavar M, Sadeghi J, Nikvash S. Frequency of enterohaemorrhagic Escherichia coli isolated from patients with acute diarrhea in Tabriz hospitals. Iranian J Med Microbiol 2007; 1(3): 39-46.
31. Akbari A, Pourmand MR, Fard Sanei F, Mardani N, Soltan Dallal MM. Detection of E.coli strains containing shiga toxin (Stx1/2) gene in diarrheal specimens from children less than 5 years old by PCR technique and study of the patterns of antibiotic resistance. J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci 2009, 17(4): 279-85.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 31.12.2013
Vol. 32, No. 273, 2nd Week, April 2014
Accepted: 26.02.2014

Molecular Identification and Antibiotic Resistance of Shigatoxigenic *Escherichia Coli* Strains in Children of the Age of Under 5-Years with Diarrhea in Yasuj, Iran

Mohammad Kargar PhD[1], Vahid Aein MSc[2], Abbas Doosti PhD[3], Mohsen Gholami MSc[2], Maryam Homayoon MSc[4]

Original Article

Abstract

Background: Shigatoxigenic *Escherichia coli* (*E. coli*) strain is one of the most important causes of diarrhea, hemorrhagic colitis, and haemolytic uremic syndrome. The aim of this study was to survey the prevalence of shigatoxigenic strains and virulence genes in children of the age of under 5-years in Yasuj, Iran.

Methods: This cross-sectional study was performed on 300 stool samples taken from children of the age of under 5-years with diarrhea in Yasuj. After initial identification of *E. coli* strains by culture and biochemical tests, shiga toxigenic Escherichia coli (STEC) genes such as *eaeA*, stx_1 and stx_2 detected by multiplex polymerase chain reaction (PCR) technique and antibiotic susceptibility of isolates was evaluated using disc diffusion method under the guidelines of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Findings: Out of the samples, 104 (34.7%) STEC genes were separated. Out of considered virulence genes, 14 cases (13.46%) had stx_1, 31 cases (29.81%) stx_2, 9 cases (8.65%) genotype stx_1-stx_2, 12 cases (11.54%) *eaeA*-stx_1, 25 cases (24.04%) *eaeA*-stx_2 and 13 cases (12.5%) had third *eaeA*-stx_1-stx_2 genes. Antibiotic susceptibility test showed that the most susceptible antibiotic was imipenem for STEC; the most resistant antibiotic was ceftizoxime.

Conclusion: Results showed that STEC strains have high prevalence in our study area. Therefore, hospital-wide surveillance using molecular techniques should be proposed in other regions of our country.

Keywords: Shigatoxigenic *Escherichia coli*, Multiplex PCR, Antibiotic resistance

Citation: Kargar M, Aein V, Doosti A, Gholami M, Homayoon M. **Molecular Identification and Antibiotic Resistance of Shigatoxigenic Escherichia Coli Strains in Children of the Age of Under 5-Years with Diarrhea in Yasuj, Iran.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(273): 67-78

1- Associate Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran
2- Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran
3- Assistant Professor, Biotechnology Research Center, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran
4- Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, Marvdasht Branch, Marvdasht, Iran
Corresponding Author: Mohammad Kargar PhD, Email: mkargar@jia.ac.ir

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۷۳/هفته دوم فروردین ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۰

جداسازی Sarcocystis hirsuta از همبرگر سنتی تولیدی در ایران

دکتر بهادر حاجی محمدی[۱]، دکتر علی دهقانی[۲]، مهسا مقدم احمدی[۳]، دکتر گیلدا اسلامی[۴]، دکتر احمد عریان[۵]، دکتر سید علی یاسینی اردکانی[۶]، امین ظهورتبار[۳]، فرزانه میرزایی[۷]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سارکوسیستوزیز از شایع‌ترین بیماری‌های زئونوز محسوب می‌شود که توسط انگل‌های جنس Sarcocystis ایجاد می‌گردد. Sarcocystis تک یاخته‌ی درون سلولی دو میزبانه و شاخه‌ی اپی کمپلکسا می‌باشد. سه گونه‌ی شناخته شده‌ی Sarcocystis، گاو را به عنوان میزبان واسط آلوده می‌نماید که شامل Sarcocystis cruzi، Sarcocystis hirsuta و Sarcocystis hominis می‌باشند و سگ، گربه و انسان به ترتیب میزبانان نهایی هستند.

روش‌ها: یک نمونه‌ی همبرگر سنتی عرضه شده در شهر یزد خریداری و به آزمایشگاه منتقل شد. جهت انجام استخراج DNA ژنومی، از روش Salting **o**ut استفاده شد. جهت شناسایی انگل جنس سارکوسیست و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، قطعه‌ای خاص از ژن (۱۸s rRNA یا ۱۸S ribosomal RNA) این انگل تکثیر شد که نتیجه‌ی حاصل از الکتروفورز، باند ۹۵۳ bp را نشان داد که بیانگر جنس Sarcocystis بود. سپس به منظور تعیین گونه‌ی انگل، از آنزیم‌های BfaI و RsaI جهت ایجاد برش بر قطعه‌ی تکثیر شده استفاده گردید و باندهای حاصل از برش آنزیم‌ها، بر روی ژل آگارز الکتروفورز شدند.

یافته‌ها: پس از برش با آنزیم BfaI دو باند به اندازه‌ی ۳۹۷ bp و ۵۵۷ bp مشاهده شد. بعد از ایجاد برش توسط آنزیم RsaI، دو باند ۳۷۶ bp و ۵۷۷ bp مشاهده شد که دلیل بر وجود گونه‌ی Sarcocystis hirsuta می‌باشد.

نتیجه‌گیری: در این گزارش، وجود Sarcocystis hirsuta در همبرگر سنتی را می‌توان به تماس نزدیک گربه با دام در مزارع که سبب آلودگی آب و غذای دام به مدفوع آلوده‌ی گربه می‌شود، نسبت داد. بر اساس جستجو در منابع پایگاه‌های اطلاعات علمی، این تحقیق اولین گزارش تشخیص مولکولی Sarcocystis hirsuta به روش PCR-RFLP (Polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism) در همبرگرهای سنتی تولیدی در ایران بود.

واژگان کلیدی: Sarcocystis hirsuta، همبرگر، Polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism

ارجاع: حاجی محمدی بهادر، دهقانی علی، مقدم احمدی مهسا، اسلامی گیلدا، عریان احمد، یاسینی اردکانی سید علی، ظهورتبار امین، میرزایی فرزانه. **جداسازی Sarcocystis hirsuta از همبرگر سنتی تولیدی در ایران به روش PCR-RFLP.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۳): ۸۵-۷۹

۱- استادیار، گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۲- استادیار، گروه آمار حیاتی و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۳- کارشناس ارشد، گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۴-استادیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۵- استاد، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۶-استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، یزد، ایران
۷- کارشناس، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر گیلدا اسلامی
Email: eslami_g2000@yahoo.com

مقدمه

امروزه با صنعتی شدن جوامع، نیاز مردم به غذاهای سریع و آماده‌ی مصرف افزایش یافته است. یکی از محبوب‌ترین غذاهای سریع و آماده‌ی مصرف، همبرگر است. این فراورده در اکثر مناطق جهان از جمله ایران مصرف قابل توجهی دارد. در ایران دو نوع همبرگر بر اساس روش تولید (صنعتی و سنتی) تولید می‌شود. همبرگر صنعتی در کارخانجات مواد غذایی تحت نظارت وزارت بهداشت و طبق فرمولاسیون مشخصی تولید و به صورت منجمد در بازار عرضه می‌گردد. همبرگر سنتی در اغذیه فروشی‌ها و ساندویچی‌ها تولید می‌شود و در همان محل تولید به فروش می‌رسد.

همبرگر، مخلوط همگنی از گوشت چرخ کرده (به ویژه گوشت گاو و گوسفند)، پیاز، سیر، آرد گندم، پروتئین گیاهی (سویا)، روغن خوراکی و نمک است (۱). با توجه به مصرف زیاد این فراورده‌ی گوشتی به دلیل طعم لذیذ و آماده‌سازی سریع و آسان، ایمنی و بهداشت آن از لحاظ بهداشت عمومی بسیار حایز اهمیت است.

سارکوسیستوزیز از شایع‌ترین بیماری‌های زئونوز محسوب می‌شود که توسط انگل‌های جنس Sarcocystis ایجاد می‌شود. Sarcocystis تک یاخته‌ی درون سلولی و زیر رده‌ی کوکسیدیا و شاخه‌ی اپی‌کمپلکسا می‌باشد. این انگل در بین چهارپایان اهلی شیوع بسیاری دارد (۳-۲). همه‌ی گونه‌های Sarcocystis دارای چرخه‌ی دو میزبانه‌ی اجباری شامل دو میزبان مهره‌دار، میزبان واسط (علف‌خواران) و میزبان نهایی (گوشت‌خواران) می‌باشد. میزبان واسط با خوردن مواد غذایی آلوده به اسپوروسیست‌ها که توسط مدفوع میزبان نهایی آلوده شده است، دچار این عفونت می‌شود که به دنبال آن، در عضلات آن‌ها ایجاد کیست سارکوسیست می‌نماید. میزبان نهایی با خوردن گوشت و بافت‌های حاوی کیست‌های سارکوسیست، آلوده می‌شوند (۴-۳).

در گاو تا کنون سه گونه‌ی Sarcocystis شامل S. hominis، S.hirsuta و S.cruzi شناخته شده‌اند که در هر سه مورد، گاو نقش میزبان واسط را دارد و انسان، گربه و سگ به ترتیب میزبانان نهایی هستند (۷-۴). دیواره‌ی کیست‌های سارکوسیست بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی توسط میکروسکوپ نوری به دو نوع شامل دارای دیواره‌ی ضخیم (بزرگ‌تر از ۳ µm در S. hirsuta و S. Hominis) و دارای دیواره‌ی نازک (کمتر از ۱ µm در S. cruzi) تقسیم می‌شوند، اما این روش قادر به تمایز بین دو گونه با دیواره‌ی ضخیم (S. hirsuta و S. hominis) نیست (۸-۷).

تا کنون مطالعات اندکی در ایران در بررسی شیوع Sarcocystis در همبرگر انجام شده است (۱۱-۹، ۳) که در این مطالعات، از روش‌های گسترش فشاری، هضم مصنوعی و یا روش‌های هیستولوژیکی استفاده شده است که فقط میزان آلودگی همبرگرها به انگل جنس Sarcocystis مشخص می‌گردید و گونه‌های Sarcocystis موجود با روش‌های به کار رفته قابل شناسایی نبودند.

واکنش زنجیره‌ی پلیمراز (PCR یا Polymerase chain reaction)، مناسب‌ترین روشی است که بر اساس تفاوت‌های ژنتیکی قادر به شناسایی گونه‌های مختلف Sarcocystis می‌باشد و دارای حساسیت و دقت بالاتری در مقایسه با

روش‌های پیشین است (۱۲، ۸). در این مطالعه، با استفاده از روش مولکولی PCR-RFLP (Polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism)، برای نخستین بار در ایران گونه‌ی Sarcocystis hirsuta در همبرگر سنتی شناسایی شد.

روش‌ها

به منظور انجام مطالعه‌ی پایلوت در فرایند تعیین گونه‌های Sarcocystis گاوی به روش PCR-RFLP، یک نمونه‌ی همبرگر سنتی عرضه شده در شهر یزد خریداری و به آزمایشگاه منتقل شد. سپس به وسیله‌ی تیغ بیستوری استریل از ۵ نقطه‌ی یک ورقه‌ی همبرگر، قطعات مختلف اخذ و پس از همگن شدن تا زمان انجام آزمایش، در الکل ۷۰ درصد و در فریزر ۲۰- °C نگهداری شد.

جهت انجام استخراج DNA ژنومی، از روش Salting out به شرح زیر استفاده شد. به منظور لیز شدن کامل بافت، بافر لیز (۵۰ mM، ۷/۶ p Tris-HCl H یا Tris hydrochloride؛ ۲۵ mM، ۸ pH و EDTA یا Ethylenediaminetetraacetic acid ۵۰ mM NaCl) به حجم ۹۰۰ µl و همچنین مقدار µl ۱۰ پروتئیناز K (۲۰ mg/ml، E۰۴۹۱ #، Fermentas) به نمونه اضافه شد. سپس با استفاده از NaCl ۶ M و پس از سانتریفیوژ، محلول حاوی DNA به میکروتیوب استریل دیگری منتقل و با استفاده از اتانول سرد، DNA رسوب داده شد. رسوب پس از شستشو با الکل ۷۰ درصد، خشک شد و با آب مقطر دو بار تقطیر استریل، DNA به حالت محلول در آمد و سپس در فریزر ۲۰- °C قرار داده شد.

به منظور اطمینان از وجود گوشت گاو در همبرگر سنتی (به دلیل نداشتن برچسب و استاندارد تعریف شده)، پرایمری جهت تکثیر قطعه‌ای از ژن سیتوکروم b با توالی زیر طراحی گردید:

Cytb– F: ۵'– CTG CCT AAT CCT ACA AAT CCT C –۳'

Cytb– R: ۵'– CGT AAT ATA AGC CTC GTC CTA C –۳'

پس از تکثیر قطعه‌ای از ژن سیتوکروم b و پس از الکتروفورز بر آگارز ژل، قطعه‌ای به طول ۲۰۰ bp مشاهده گردید و وجود گوشت گاو در نمونه‌ی مورد نظر تأیید شد. سپس جهت شناسایی انگل جنس سارکوسیست و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی زیر، قطعه‌ای خاص از ژن (۱۸s rRNA یا ۱۸S ribosomal RNA) این انگل تکثیر گردید (۱۳).

SarF:
۵'- CGTGGTAATTCTATGGCTAATACA -۳'

SarR:
۵'- TTTATGGTTAAGACTACGACGGTA -۳'

جهت انجام واکنش PCR از ۱X PCR buffer، ۱/۵ Mm $MgCl_2$، ۰/۲ Mm Dntp، ۱ u Tag DNA polymerase، ۱۰ pmol از هر پرایمر و ۱۰۰ ng DNA استفاده شد و برنامه‌ای به شرح زیر در دستگاه ترموسایکلر اجرا شد:

دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ °C در ۵ دقیقه، سپس ۳۰ مرحله شامل ۹۴ °C در ۶۰ ثانیه، ۵۸ °C در ۶۰ ثانیه و ۷۲ °C در ۶۰ ثانیه و در نهایت، گسترش در ۷۲ °C در ۵ دقیقه انجام شد. سپس محصول PCR (قطعه‌ی تکثیر یافته) بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد که قطعه‌ای از ۱۸s rRNA

انگل سارکوسیست به طول ۹۵۳ bp مشاهده شد. سپس دو آنزیم محدودالاثر RsaI و BfaI جهت برش بر روی محصول PCR مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل از تکثیر و هضم انجام گرفته توسط آنزیم‌ها، به کمک الکتروفورز بر روی ژل آگارز ارزیابی گردید.

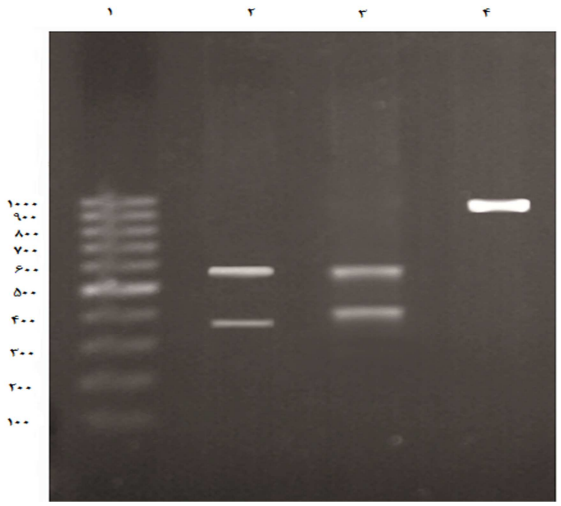
یافته‌ها

پس از الکتروفورز محصول PCR، باند **۹۵۳** bp مشاهده گردید که دال بر وجود انگل جنس Sarcocystis می‌باشد و پس از برش با آنزیم BfaI، دو باند به اندازه‌ی ۳۹۷ bp و ۵۵۷ bp مشاهده شد. بعد از هضم با آنزیم RsaI و ایجاد برش بر روی جایگاه ۵۷۷، دو باند ۳۷۶ bp و ۵۷۷ bp مشاهده شد که دلیل بر وجود گونه‌ی Sarcocystis hirsuta می‌باشد (شکل ۱).

سپس برای تشخیص تأییدی، نمونه‌ی مورد نظر تعیین توالی شد و به دنبال آن، به کمک آنالیز BLAST (Basic local alignment search tool) توالی گونه‌ی هیرسوتا مورد تأیید قرار گرفت.

بحث

با توجه به مصرف بالای فراورده‌های گوشتی حاوی گوشت گاو، کنترل بهداشت و ایمنی این فراورده‌ها از لحاظ عاری بودن از انواع عوامل عفونی، امری ضروری محسوب می‌گردد. در این بین، انگل‌های موجود در گوشت گاو نیز نقش به سزایی در آلودگی فراورده‌های گوشتی دارند. Sarcocystis یکی از شایع‌ترین انگل‌هایی است که سبب ایجاد عفونت در گوشت می‌شود که این انگل، متعاقب مصرف فراورده‌های گوشتی حاوی گوشت گاو آلوده به کیست سارکوسیست، به انسان منتقل می‌شود. طبق یافته‌ها، از بین گونه‌های مختلف Sarcocystis، فقط سه گونه (کروزی، هیرسوتا و هومینیس) تا کنون شناخته شده‌اند که باعث ایجاد آلودگی در گاو می‌شوند (۶-۴).



شکل ۱. آنالیز PCR-RFLP (Polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism)

(از چپ به راست):

چاهک اول: نشانگر (DNA ladder۱۰۰ bp)؛

چاهک دوم: RFLP با آنزیم RsaI (دو باند ۳۷۶ bp و ۵۷۷bp برای گونه‌ی Sarcocystis hirsuta)؛

چاهک سوم: RFLP با آنزیم BfaI (دو باند ۵۵۷ bp و ۳۹۷ bp برای گونه‌ی Sarcocystis hirsuta)؛

چاهک چهارم: محصول PCR ژن هدف (برای ۹۵۳ bp Sarcocystis hirsuta)

چندین مطالعه نیز جهت بررسی آلودگی همبرگرها به انگل سارکوسیست انجام گردیده است. Prayson و همکاران در مطالعه‌ای بر روی همبرگرهای صنعتی آمریکا، از ۸ برند تجاری همبرگر

تحت بررسی، آلودگی یک برند به انگل سارکوسیست را گزارش نمودند (۱۴).

حسینی و همکاران آلودگی همبرگرهای عرضه شده در شهر تهران را با روش گسترش فشاری بررسی کردند و میزان شیوع انگل سارکوسیست را ۴۷/۹ درصد اعلام نمودند (۹). در تحقیقی که توسط راهدار و صالحی بر روی فراورده‌های گوشتی عرضه شده در اهواز با روش هضمی انجام گرفت، آلودگی همبرگرهای مورد مطالعه ۵۶ درصد گزارش شد (۱۱).

طی تحقیق نعمت‌اللهی و همکاران، آلودگی همبرگرهای سنتی و صنعتی عرضه شده در شهر تبریز با روش هضمی، میزان آلودگی همبرگرها به Sarcocystis معادل ۵۶/۲۵ درصد بود که ۸۳/۳ و ۱۶/۷ درصد از این موارد، به ترتیب متعلق به همبرگر صنعتی و همبرگر سنتی بوده است (۳).

جاهد خانیکی و کیا طی تحقیقی شیوع آلودگی Sarcocystis در همبرگرهای عرضه شده در شهر گرمسار به روش هیستولوژیکی را ۶/۲۵ درصد تعیین نمودند (۱۰) که این اختلاف در میزان شیوع آلودگی به Sarcocystis را می‌توان به روش به کار گرفته شده در شناسایی انگل نسبت به سایر روش‌ها در دیگر مطالعات نسبت داد. روش‌های به کار رفته در تحقیقات پیشین، قادر به شناسایی گونه‌های Sarcocystis نبوده و تشخیص اغلب در حد شناسایی جنس سارکوسیست ممکن بوده است. از این رو، در هیچ یک از مطالعات گذشته بر روی همبرگرها، گونه‌های Sarcocystis موجود را تعیین نکرده است.

روش مولکولی تنها روش کارآمد و مؤثر موجود جهت تعیین گونه‌های انگل سارکوسیست است (۱۲، ۸). در این مطالعه برای بار نخست با استفاده از این روش مولکولی (PCR-RFLP) گونه‌ی Sarcocystis hirsuta تعیین و جداسازی شد. Sarcocystis hirsuta از طریق خوردن علوفه و آب آلوده به اسپوروسیست‌های دفع شده از گربه (میزبان نهایی) به گاو منتقل می‌شود (۱۵).

نتیجه‌گیری

در این گزارش، وجود Sarcocystis hirsuta در همبرگر سنتی را می‌توان به تماس نزدیک گربه‌های ولگرد با دام در مزارع که سبب آلودگی آب و غذای دام به مدفوع آلوده‌ی گربه می‌شود، نسبت داد. بر اساس جستجو در منابع پایگاه‌های اطلاعات علمی، این تحقیق اولین گزارش تشخیص مولکولی Sarcocystis hirsuta به روش PCR-RFLP در همبرگرهای سنتی تولیدی در ایران بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه‌ی دانشجویی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد است. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه جهت حمایت‌های مالی سپاسگزاری به عمل می‌آید.

References

1. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Frozen raw hamburger - features, No 2304. Tehran, Iran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2007. [In Persian].
2. Najafiyan HR, Mohebali M, Keshavarz H. Study on frequency of Sarcocystis spp. by macroscopic and microscopic methods in slaughtered cattle in Shahriar district and their

public health importance. Pajouhesh & Sazandegi 2008; 77: 15-9. [In Persian].
3. Nematollahia A, Khoshkerdar A, Ashrafi Helan J, Shahbazi P, Hassanzadeh P. A study on rate of infestation to sarcocystis cysts in supplied raw hamburgers. J Parasit Dis 2013.
4. Oryan A, Sharifiyazdi H, Khordadmehr M, Larki S. Characterization of Sarcocystis fusiformis based on sequencing and PCR-RFLP in water buffalo (Bubalus bubalis) in Iran. Parasitol Res 2011; 109(6): 1563-70.
5. Bucca M, Brianti E, Giuffrida A, Ziino G, Cicciari S, Panebianco A. Prevalence and distribution of Sarcocystis spp. cysts in several muscles of cattle slaughtered in Sicily, Southern Italy. Food Control 2011; 22(1): 105-8.
6. Ghisleni G, Robba S, Germani O, Scanziani E. Identification and prevalence of Sarcocystis spp. cysts in bovine canned meat. Food Control 2006; 17(9): 691-4.
7. Guclu F, Aldem_R OS, Guler L. Differential identification of cattle Sarcocystis spp.by random amplified polymorphic DNA – polymerase chain reaction (RAPD – PCR). Revue Méd Vét 2004; 155(8-9): 440-4.
8. More G, Abrahamovich P, Jurado S, Bacigalupe D, Marin JC, Rambeaud M, et al. Prevalence of Sarcocystis spp. in Argentinean cattle. Veterinary Parasitology 2011; 177(8-9): 162-5.
9. Hosseini H, Khaksar R, Shemshadi B. Study on infestation of raw hamburgers to Sarcocystis cyst in Tehran. Journal of Food Sciences and Technology 2007; 4(4): 65–70. [In Persian].
10. Jahed-Khaniki GR, Kia EB. Detection of the Sarcocystis cysts from meat supplied for hamburger in Iran by histological method. J Med Sci 2006; 6(1): 18-21.
11. Rahdar M, Salehi M. The prevalence of Sarcocystis infection in meat-production by using digestion method in Ahvaz, Iran. Jundishapur J Microbiol 2011; 4(4): 36-45.
12. Jehle C, Dinkel A, Sander A, Morent M, Romig T, Luc PV, et al. Diagnosis of Sarcocystis spp. in cattle (Bos taurus) and water buffalo (Bubalus bubalis) in Northern Vietnam. Vet Parasitol 2009; 166(3-4): 314-20.
13. Yang ZQ, Li QQ, Zuo YX, Chen XW, Chen YJ, Nie L, et al. Characterization of Sarcocystis species in domestic animals using a PCR-RFLP analysis of variation in the 18S rRNA gene: a cost-effective and simple technique for routine species identification. Exp Parasitol 2002; 102(3-4): 212-7.
14. Prayson B, McMahon JT, Prayson RA. Fast food hamburgers: what are we really eating? Ann Diagn Pathol 2008; 12(6): 406-9.
15. Shekarforoush SS, Razavi SM, Abbasvali M. First detection of Sarcocystis hirsuta from cattle in Iran. Iranian Journal of Veterinary Research 2013; 14(2): 155-7.

Journal of Isfahan Medical School Received: 05.01.2014

Vol. 32, No. 273, 2nd Week, April 2014 Accepted: 01.03.2014

Isolation of *Sarcocystis Hirsuta* from Traditional Hamburger of Iran

Bahador Hajimohammadi PhD[1], Ali Dehghani PhD[2], Mahsa Moghaddam-Ahmadi MSc[3], Gilda Eslami PhD[4], Ahmad Oryan PhD[5], Seyed Ali Yasini-Ardakani PhD[6], Amin Zohourtabar MSc[3], Farzaneh Mirzaei MSc[7]

Original Article

Abstract

Background: Sarcocystosis is one of the common zoonotic diseases caused by the parasites of genus *Sarcocystis*. *Sarcocystis* is a two-host intracellular protozoan of the Phylum Apicomplexa. Three known species of *Sarcosystis* can infect cattle as intermediate host: *Sarcocystis cruzi*, *Sarcosystis hirsute*, and *Sarcosystis hominis* that dogs, cats, and humans are their final hosts, respectively.

Methods: In this study, a sample of traditional hamburger was purchased from a street food seller in Yazd, Iran. DNA was extracted by salting-out method. To identify *Sarcocystis* and by using specific primers, fragment of genomic DNA **(**18s rRNA) was amplified and results of electrophoresis showed the polymerase chain reaction (PCR) product with about 953 bp in length indicating presence of the *Sarcocystis* genus. To identify the species of the parasite, two enzymes, *RsaI* and *BfaI*, were used for cutting the amplified fragment. Results of digestion were analyzed using agarose gel electrophoresis.

Findings: After digestion with *BfaI*, the results of gel agarose electrophoresis showed 557 and 397 bp in length bands. Two bands of 577 and 376 bp in length were found after using *RsaI* that indicated presence of *Sarcocystis hirsuta*.

Conclusion: In this report, *Sarcocystis hirsuta* was identified in Iranian traditional hamburger that could be related to close association of dogs and cats in farms that is the main reason that food and water are contaminated with feces of cats. To the best of our knowledge, this study is the first report of *Sarcocystis hirsuta* infection in Iranian traditional hamburger.

Keywords: *Sarcocystis hirsuta*, Hamburger, Polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)

Citation: Hajimohammadi B, Dehghani A, Moghaddam-Ahmadi M, Eslami G, Oryan A, Yasini-Ardakani SA, et al. **Isolation of Sarcocystis Hirsuta from Traditional Hamburger of Iran.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(273): 79-85

1- Assistant Professor, Department of Food Hygiene and Safety, School of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
2- Assistant Professor, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
3- Department of Food Hygiene and Safety, School of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
4- Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
5- Professor, Department of Pathology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
6- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Yazd, Iran
7- Department of Laboratory Sciences, School of Para-Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
Corresponding Author: Gilda Eslami PhD, Email: eslami_g2000@yahoo.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۷۳/هفته دوم فروردین ماه ۱۳۹۳
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۲۵

زنجبیل و نفروپاتی دیابتی

دکتر محمود رفیعیان کوپایی[۱]، دکتر فاطمه قائد امینی[۲]، دکتر حمید نصری[۳]

نامه به سردبیر

سردبیر محترم مجله دانشکده‌ی پزشکی اصفهان

در سال‌های اخیر، اثرات مفید عصاره‌ی زنجبیل (Zingiber zerumbet) بر روی نفروپاتی دیابتی مورد توجه قرار گرفته است. در یک مطالعه‌ی آزمایشگاهی اثر حفاظتی عصاره‌ی زنجبیل بر روی آسیب کلیوی ایجاد شده بر روی موش‌های دیابتی بررسی شده است (۱). در این مطالعه، موش‌های دیابتی برای مدت ۸ هفته تحت درمان خوراکی با متفورمین یا زنجبیل قرار گرفتند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که زنجبیل در کاهش هایپرگلایسمی و اختلال عملکرد کلیوی در موش‌های دیابتی، ویژگی‌هایی نظیر متفورمین را از خود نشان می‌دهد. بررسی‌های بافت‌شناسی نیز بازگشت تغییرات پاتولوژیکی گلومرول‌ها به دنبال درمان با زنجبیل را ثابت نمود. علاوه بر این، بیان پروتئین‌های نفرین و پدوسین کلیوی در موش‌های دیابتی به طور مشهودی به دنبال درمان با زنجبیل افزایش پیدا کرد. آن‌ها پیشنهاد کرده‌اند که اثر حفاظت کلیوی زنجبیل ممکن است مشابه عملکرد متفورمین و شامل جلوگیری از فسفریلاسیون ناشی از فعالیت پروتئین کیناز فعال شده توسط AMP (Adenosine monophosphate-activated protein) باشد (۱).

در حالی که نفروپاتی دیابتی یکی از مهم‌ترین عوارض دیابت شیرین می‌باشد (۱۰-۲)، چند نکته در ارتباط با مطالعه‌ی حاضر مطرح می‌گردد. به منظور یافتن اثر اصلاحی زنجبیل در برابر آسیب توبولی ناشی از جنتامایسین، یک مطالعه‌ی پره کلینیکال بر روی پنجاه موش صحرایی نر نژاد ویستار طراحی و موش‌ها به شرح زیر در پنج گروه ده‌تایی تقسیم‌بندی شدند (۱۱):

گروه ۱: شاهد

گروه ۲: دریافت زنجبیل برای ۳ روز و سپس جنتامایسین برای ۷ روز

گروه۳: دریافت زنجبیل خوراکی برای ۳ روز و سپس درمان همزمان جنتامایسین و زنجبیل برای ۷ روز

گروه ۴: دریافت جنتامایسین برای ۷ روز

گروه ۵: دریافت جنتامایسین برای ۱۰ روز

گروه ۶: دریافت جنتامایسین برای ۷ روز و سپس زنجبیل خوراکی برای ۱۰ روز.

در انتهای مطالعه، کلیه‌ی موش‌ها از نظر

۱- استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲- پزشک عمومی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳- استاد، گروه نفروپاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر حمید نصری
Email: hamidnasri@med.mui.ac.ir

بافت‌شناسی بررسی گردیدند. در این مطالعه، مشاهده شد که زنجبیل توانایی این را داشت که از دژنراسیون سلول کلیوی جلوگیری کند و شدت آسیب توبولی ایجاد شده توسط جنتامایسین را نیز کاهش دهد. همچنین زنجبیل به عنوان یک داروی پیشگیری کننده از ایجاد آسیب در سلول توبولی علیه مواد آسیب رسان نظیر جنتامایسین، مؤثر است (۱۱).

از سوی دیگر، متفورمین به طور وسیع در بیماران دیابتی و به خصوص دیابت نوع ۲ استفاده می‌گردد. در سال‌های اخیر اثر حفاظت کلیوی متفورمین نیز مطرح شده است (۱۸-۱۲). مطالعه‌ی دیگری بر روی موش‌های صحرایی نر انجام شد تا قدرت اثر متفورمین در حفاظت کلیه در برابر آسیب حاد کلیوی ایجاد شده توسط جنتامایسین ارزیابی شود و بررسی گردد که آیا درمان تأخیری با متفورمین در آسیب حاد کلیوی اثر حفاظتی مشابهی بر روی سمیت کلیوی جنتامایسین در موش صحرایی دارد یا نه. نتایج نشان داد که متفورمین قادر به جلوگیری و نیز اصلاح آسیب حاد کلیوی ناشی از جنتامایسین می‌باشد. از این رو، ممکن است در بیماران تحت درمان با جنتامایسین مفید باشد (۱۹). در سال‌های اخیر، اثر استفاده همزمان عصاره سیر و متفورمین در جلوگیری از سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین، در ۷۰ موش صحرایی نیز بررسی شد (۲۱-۲۰). نتایج این مطالعات مشخص می‌کند که متفورمین و عصاره‌ی زنجبیل، اثرات اصلاحی در مقابل نفروتوکسیسیتی جنتامایسین را دارند. اثر حفاظتی متفورمین بر روی نفروپاتی دیابتی توسط Kim و همکاران بررسی شد (۲۲). از این رو، طبق مطالعه‌ی انجام شده توسط Tzeng و همکاران (۱) و نیز یافته‌های مطالعه‌ی Kim و همکاران (۲۲) و همچنین یافته‌های سایر پژوهشگران (۳۰-۲۳)، ترکیب متفورمین و عصاره‌ی زنجبیل ممکن است برای کنترل دیابت از درمان تک موردی این داروها مؤثرتر باشد و ممکن است در نفروپاتی دیابتی، یک اثر محفاظتی تجمعی از خود نشان دهد. در این باره، برای درک بهتر اثرات و قدرت حفاظتی زنجبیل، به خصوص در ترکیب با متفورمین مطالعات آزمایشگاهی و بالینی بیشتری در افراد دیابتی پیشنهاد می‌گردد.

ارجاع: رفیعیان کوپایی محمود، قائد امینی فاطمه، نصری حمید. **زنجبیل و نفروپاتی دیابتی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۳): ۸۶-۸۹

References

1. Tzeng TF, Liou SS, Chang CJ, Liu IM. The ethanol extract of zingiber zerumbet attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. Evid Based Complement Alternat Med 2013; 2013: 340645.
2. Tolouian R, Hernandez T. Prediction of diabetic nephropathy: The need for a sweet biomarker. J Nephropathol 2013; 2(1): 4-5.
3. Vafa M, Mohammadi F, Shidfar F, Sormaghi MS, Heidari I, Golestan B, et al. Effects of cinnamon consumption on glycemic status, lipid profile and body composition in type 2 diabetic patients. Int J Prev Med 2012; 3(8): 531-6.
4. Hajivandi A, Amiri M. World kidney day 2014: Kidney disease and elderly. J Parathyr Dis 2014; 2(1): 3-4.
5. Nasri H, Shirzad H. Toxicity and safety of medicinal plants. J Herb Med Plarmacol 2013;

2(2): 21-2.
6. Nasri H: Acute kidney injury and beyond. J Ren Inj Prev 2012, 1(1): 1–2.
7. Rafieian-Kopaie M, Nasri H. Silymarin and kidney. J Ren Inj Prev 2012; 1(1): 3-6.
8. Rouhi H, Ganji F. Effects of N-acetyl cysteine on serum lipoprotein (a) and proteinuria in type 2 diabetic patients. J Nephropathol 2013; 2(1): 61-6.
9. Nasri H. Impact of diabetes mellitus on parathyroid hormone in hemodialysis patients. J Parathyr Dis 2013; 1(1): 9-11.
10. Nasri H. Comment on: serum cholesterol and LDL-C in association with level of diastolic blood pressure in type 2 diabetic patients. J Ren Inj Prev 2012; 1(1): 13-4.
11. Nasri H, Nematbakhsh M, Ghobadi S, Ansari R, Shahinfard N, Rafieian-Kopaei M. Preventive and curative effects of ginger extract against histopathologic changes of gentamicin-induced tubular toxicity in rats. Int J Prev Med 2013; 4(3): 316-21.
12. Gheshlaghi F. Toxic renal injury at a glance. J Ren Inj Prev 2012; 1(1): 15–6.
13. Tavafi M. Diabetic nephropathy and antioxidants. J Nephropathol 2013; 2(1): 20-7.
14. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Metformin improves diabetic kidney disease. J Nephropharmacol 2012; 1(1): 1–2.
15. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Herbal medicine and diabetic kidney disease. J Nephropharmacol 2013; 2(1): 1-2.
16. Nasri H. Elevated serum parathyroid hormone is a heart risk factor in hemodialysis patients. J Parathy Dis 2013; 1(1): 13-4.
17. Behradmanesh S, Nasri P. Serum cholesterol and LDL-C in association with level of diastolic blood pressure in type 2 diabetic patients. J Ren Inj Prev 2012; 1(1): 23-6.
18. Baradaran A. Beyond mineral metabolism, the bright immunomodulatory effect of vitamin D in renal disease. J Nephropharmacol 2012; 1(2): 17-8.
19. Amini FG, Rafieian-Kopaei M, Nematbakhsh M, Baradaran A, Nasri H. Ameliorative effects of metformin on renal histologic and biochemical alterations of gentamicin-induced renal toxicity in Wistar rats. J Res Med Sci 2012; 17(7): 621-5.
20. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Merrikhi A, Nematbakhsh M, Madihi Y, Nasri H. Efficacy of co-administration of garlic extract and metformin for prevention of gentamicin-renal toxicity in wistar rats: a biochemical study. Int J Prev Med 2013; 4(3): 258-64.
21. Amiri M, Nasri H. Secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease patients; current knowledge. J Parathyr Dis 2014; 2(1): 1-2.
22. Kim J, Shon E, Kim CS, Kim JS. Renal podocyte injury in a rat model of type 2 diabetes is prevented by metformin. Exp Diabetes Res 2012; 2012: 210821.
23. Baradaran A. Primary hyperparathyroidism and kidney; recent findings. J Parathyr Dis 2014; 2(1): 5-6.
24. Khajehdehi P. Turmeric: reemerging of a neglected Asian traditional remedy. J Nephropathol 2012; 1(1): 17-22.
25. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Preventive role of erythropoietin against aminoglycoside renal toxicity induced nephropathy; current knowledge and new concepts. J Ren Inj Prev 2013; 2(1): 29-30.
26. Kadkhodaee M. Erythropoietin; bright future and new hopes for an old drug. J Nephropathol 2012; 1(2): 81-2.
27. Nasri H. Renoprotective effects of garlic. J Ren Inj Prev 2012; 2(1): 27-8.
28. Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Vitamin D therapy in diabetic kidney disease. J Nephropharmacol 2014; 3(1): 3-4.
29. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A. Teucrium polium and kidney. J Ren Inj Prev 2013; 2(1): 3-4.
30. Tavafi M. Protection of renal tubules against gentamicin induced nephrotoxicity. J Ren Inj Prev 2012; 2(1): 5-6.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 05.12.2013
Vol. 32, No. 273, 2nd Week, April 2014
Accepted: 14.02.2014

Ginger and Diabetic Nephropathy: A Letter to the Editor

Mahmoud Rafieian-Kopaei PhD[1], Fatemeh Ghaed-Amini MD[2], Hamid Nasri MD[3]

Letter to Editor

Abstract

Dear Editor-in-Chief,

Recently, much attention had been directed toward protective efficacy of Ginger in diabetic nephropathy. Recent studies have shown the combination of metformin and ginger extract may be more effective for the control of diabetes and may have additive protective efficacy on diabetic nephropathy. In this regard, to understand the kidney protective properties of Ginger better, especially in combination with metformin, more experimental rat models or clinical studies are suggested.

Keywords: Diabetes mellitus, Diabetic nephropathy, Ginger

Citation: Rafieian-Kopaei M, Ghaed-Amini F, Nasri H. **Ginger and Diabetic Nephropathy: A Letter to the Editor.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(273): 86-9

1- Professor, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2- General Practitioner, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
3- Professor, Department of Nephrology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hamid Nasri MD, Email: hamidnasri@med.mui.ac.ir

errors author should verify references against the original documents. The Reference should provide the following information as stated in the presented models as follows:

a. **Article**: Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. Brain Res. 2002;935(1-2):40-6.
b. **Chapter in a book**: Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. The genetic basis of human cancer. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.
c. **Book**: Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

14. **Proof Reading:** A computer prints out is sent to the corresponding author for proof reading before publication in order to avoid any mistakes. Corrections should be marked clearly and sent immediately to the Journal office.
15. **Abbreviations and symbols**: Use only standard abbreviations. **Avoid using them in the title and abstract**. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.
16. The **corresponding author:** Will be supplied with 1 free issue.
17. **Ethical guidelines**: Ethical considerations must be addressed in the Materials and Methods. Please state that **informed consent** was obtained from all human adult participants and from the parents or legal guardians of minors. Include the name of the appropriate institutional review board that approved the project.Indicate in the text that the maintenance and care of experimental animals complies with National Institutes of Health guidelines for the humane use of laboratory animals, or those of your Institute or agency.
18. **Conflicts of interest:** Authors must acknowledge and declare any sources of funding and potential conflicting interest, such as receiving funds or fees by, or holding stocks and shares in, an organization that may profit or lose through publication of your paper. Declaring a competing interest will not lead to automatic rejection of the paper, but we would like to be made aware of it.
19. **Page charges:** There are no charges for publication in this Journal.
20. **Copyright:** The entire contents of the Journal of Isfahan Medical School are protected under international copyrights. This Journal is for your personal noncommercial use. You may not modify copy, distribute, transmit, display, or publish any materials contained on the Journal without the prior written permission of it or the appropriate copyright owner.
21. **Peer review process:** All manuscripts are considered to be confidential. They are peer-reviewed by at least 3 anonymous reviewers selected by the Editorial Board. The corresponding author is notified as soon as possible of the editor decision to accept, reject, or require modifications. If the manuscript is completely acceptable according to the criteria set forth in these instructions, it is scheduled for the next available issue.
22. Journal has entire right for accept or reject any of received manuscripts.
23. The editors, editorial board, sponsoring organization, and publisher do not accept responsibility for the statements expressed by authors in their contributions.
24. **Communicating with the Editorial Office:** We encourage you to communicate with the JIMS Editorial Office and to check on the status of a manuscript via journal site: (http://journals.mui.ac.ir/jims) only. For more in formations you can contact with JIMS office via E-mail address (jims@med.mui.ac.ir).

INSTRUCTION TO AUTHORS

1. **Aims and Scope:** The Journal of Isfahan Medical School is the official scientific **weekly** publication of the Faculty of Medicine in Isfahan Medical Sciences University.
   This Journal accepts Original Papers, Review Articles, Case Reports, Short Communications,Educational Medical Video Clips and Letters to the Editor on all aspects of medicine.
2. Manuscript **Submission is acceptable only via Journal URL: http://journals.mui.ac.ir/jims**
   Manuscript must be accompanied by a covering letter to the Editor-in-Chief, including title and author(s) name and undertaking that it has not been published or submitted elsewhere. In case the manuscript was earlier submitted to some other Journal and was rejected, the authors must provide full information for proper analysis. Manuscript should be typed in double space of the A-4 size paper with clear margins on both sides. The text should be submitted in Microsoft Word format only. Tables as well as illustrations should be typed and drawn on a separate pages. Do not submit tables as photographs.
   The figures should be sent in a format of JPEG or GIF which will produce high quality images in the online edition of the journal. Authors must declare that it is being exclusively contributed to the Journal of Isfahan Medical School.
3. The manuscript should include: **Title page**, the **Abstract** (in both Farsi and English), **Introduction**, **Materials & Methods**, **Results**, **Discussion**, **Acknowledgement and References**.
4. **The title page:** The complete title of the manuscript, the name of all the authors with their highest qualifications, the department or institution to which they are attached, address for correspondence with telephone numbers, e-mail, and Fax number.
5. The **Abstract:** All original articles must accompany a structured abstract up to 250 words. It should be structured as **Background**, **Methods**, **Results** and **Conclusion** followed by 3 **to** 5 **Keywords**. Keywords will assist indexers in cross indexing the article as they are published with abstract. Use terms from the Medical Subject Headings (MeSH) list of index medicus (http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html). Authors need to be careful that the abstract reflects the content of the article accurately.
6. **Introduction:** This should summarize the purpose and the rationale for the study. It should neither review the subject extensively nor should it have data or conclusions of the study.
7. **Materials & Methods:** This should include exact method or observation or experiment. If an apparatus is used, its manufacturer's name and address should be given in parenthesis. If the method is established, give reference but if the method is new, give enough information so that another author is able to perform it. If a drug is used, its generic name, dose and route of administration must be given. For patients, age, sex with mean age ± standard deviation must be given. Statistical method must be mentioned and specify any general computer program used.
8. **Results:** It must be presented in the form of text, tables and illustrations. The contents of the tables should not be all repeated in the text. Instead, a reference to the table number may be given. Long articles may need sub-headings within some sections (especially the Results and Discussion parts) to clarify their contents.
9. **Discussion:** This should emphasize the present findings and the variations or similarities with other work done in the field by other workers. The detailed data should not be repeated in the discussion again. Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that follow from them. It must be mentioned whether the hypothesis mentioned in the article is true, false or no conclusions can be derived.
10. **Acknowledgement:** All contributors who do not meet the criteria for authorship should be covered in the acknowledgement section. It should include persons who provided technical help, writing assistance and departmental head who only provided general support. Financial and material support should also be acknowledged.
11. **Tables:** In limited numbers should be submitted with the **captions placed above**. Do not submit tables as photograph. Place explanatory matters in footnotes, not in the heading.
12. **Figures:** Should be in limited numbers, with high quality art work and mounted on separate pages. The captions **should be placed below**. The same data should not be presented in tables, figures and text, simultaneously.
13. **References**: Should be as **Vancouver style**. All manuscripts should be accompanied by relevant references. The author should ensure reference to locally published studies by doing proper literature search. It may not be possible for the editor and reviewers to check the accuracy of all reference citations. To minimize such

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Mojtaba Abtahi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
3. **Mohammad Esmaeil Akbari** MD, Professor of Thoracic Surgery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6. **Saeid Andalib Jortani** MD, Professor of Pathology, Leuis Weil University, USA
7. **Gholam Reza Askari** MD, PhD of Nutrition, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Assistant Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Majid Barekatain** MD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
10. **Ken Bassett** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
11. **Ahmad Chitsaz** MD, Associate Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12. **Afsoon Emami** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
13. **Ali Reza Emami** MD, Associate Professor of Infectious Diseases, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
14. **Shahin Emami** Biochemistry and Endocrinology, Saint Antoine Hospital, France
15. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
16. **Faramarz Esmaeil beigi** MD, Professor of Internal Medicine, School of Medicine, USA
17. **Ziba Farajzadegan** MD, Associate Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
18. **Hamid Fesharaki** Associate Professor of Ophtalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Marjane Foladi** PhD of Nursing, University of Flourida, USA
20. **Aziz Gahari** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
21. **Ali Gheisari** MD, Professor of Cardiovascular Surgery, California, USA
22. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. **Ali Mohammad Hanjani** MD, Professor of Cardiology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
24. **Mina Hasanrezaei** MD, NeuroImmunology, School of Pharmacy, USA
25. **Saied Morteza Heidari** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. **Mansour karamooz** MD, Professor of Urology, California, USA
27. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics & Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
29. **Majid Khazaei** MD, PhD, Associate Professor of Medical Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
30. **Parvin Mahzooni** MD, Associate Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
31. **Majid Maleki** MD, Professor of Cardiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
32. **Mohammad Mardani** MD, Associate Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
33. **Atiye Moghisi** MD, Professor of Endocrinology, Endocrine and Metabolism Research Center, USA
34. **Mehdi Modares** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
35. **Hoshang Moein** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. **Fereydoun Nouhi** MD, Professor of Cardiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
37. **Mohammadreza Nourbakhsh** Associate Professor of Physiotherapy, USA
38. **Farzin Pourfarzad** Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands
39. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. **Hassan Razmju** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. **Mohammad Reza Safavi** MD, Assistant Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
42. **Reza Rouzbahani** MD, MPH, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
43. **Mansour Sholevar** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
44. **Masoud Soheilian.** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 273, 2nd Week, April 2014

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible**: Mansour Sholehvar MD** Emerita Editor-in-Chief**: Roya Kelishadi MD**

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

Associate Editor: **Reza Rouzbahani MD, MPH**

Published by:
Isfahan University of Medical Sciences
E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:
P.O. Box 81744-176, Isfahan, I.R. IRAN
Telefax: +98 311 7922291
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
Website: http://www.journals.mui.ac.ir/jims
Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:
Farzanegan Radandish Co.
P.O. Box 81465-1798, Isfahan, I.R. IRAN
Telefax: +98 311 6686302
E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com
f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
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)
- www.iranmedex.com

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

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