

مقاله های پژوهشی

- تأثیر چهار هفته شنای هوازی بر میزان عامل نورون زایی مشتق از مغز و گیرنده ی آن در بافت مغز موش های مبتلا به انفالومیلیت خود آئین تجربی ۱۲۶۴
 سید مهدی سیدالحسینی، حمیدرجبی، عطاله غدیری، رضا قراخانیلو، علیرضا سرکاکانی
- تفکیک بازه های زمانی بیداری از خواب مبتنی بر پردازش طیف مر تبه ی دوم سیگنال الکتروانسفالوگرام ۱۲۷۱
 احسان محمدی، سعید کرمانی، بابک امرا
- بخش بندی سلول های مؤثر در سرطان مبلوم متعدد با استفاده از مدل های تغییر شکل پذیر و خوشه بندی K-means ۱۲۷۶
 حدیث گل محمدی، علیرضا ورد، اردشیر طالبی
- آلودگی به ویروس هپاتیت E در بیماران پیوند کلیه در شهر اصفهان بر اساس ردیابی مولکولی ویروس ۱۲۸۳
 بهروز عطایی، مریم کیهانی، مرتضی پوراحمد، شهرام طاهری
- بررسی اثرات کارودیلول و ویتامین E بر ناهنجاری های اسکلتی ناشی از والپروات سدیم در جنین موش صحرایی ۱۲۸۹
 رضا رنجبر، فاطمه حسینی سیاهی، محمود خاکساری مهابادی، حسین نجف زاده ورزی
- بررسی اپیدمیولوژیک عوامل جمعیت شناختی و پایه ای بالینی مبتلایان به بیماری مزمن کلیوی شهر اصفهان در بازه ی زمانی ۹۰-۱۳۷۵ ۱۲۹۸
 شهرزاد شهیدی، اسماعیل هادی زاده، پوریا شعبانی، آوات فیضی
- بررسی ارتباط لنفوسیت های T سیتوتوکسیک Cd و سایر مشخصات بالینی و آسیب شناسی با بقای بیماران مبتلا به سرطان پستان ۱۳۰۹
 سیمین همتی، میترا حیدریور، آوات فیضی، فاطمه ابوظالبیان

Original Articles

- The Effect of Four Weeks of Aerobic Swimming on the Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and Tyrosine Receptor Kinase B (TrkB) in the Brain of Animal Model of Experimental Autoimmune Encephalitis (EAE) 1270
 Mehdi Seyed-Alhosseini, Hamid Rajabi, Ata Allah Ghadiri, Reza Gharakhanlou, Alireza Sarkaki
- Automatic Separation of Awakening from Sleep Epochs based on Bispectrum Analysis of Electroencephalogram Signals 1275
 Ehsan Mohammadi, Saeed Kermani, Babak Amra
- Segmentation of Effective Cells in Multiple Myeloma Cancer Using Deformable Models and K-means Clustering ... 1282
 Hadis Golmohammadi, Alireza Vard, Ardeshir Talebi
- The Frequency of Hepatitis E in Renal Transplant Recipients in Isfahan City, Iran, on the Basis of Molecular Evaluation 1288
 Behrooz Ataei, Maryam Keihani, Morteza Pourahmad, Shahram Taheri
- The Effects of Carvedilol and Vitamin E on Sodium Valproate- Induced Skeletal Teratogenicity in Rat Fetuses ... 1297
 Reza Ranjbar, Fatemeh Hosseini-Siahi, Mahmood Khaksary- Mahabady, Hossein Njafzadeh-Varzi
- Epidemiologic Evaluation of Demographic and Basic Clinical Factors in Patients with Chronic Kidney Disease in Isfahan City, Iran, during 1996-2011 1308
 Shahrzad Shahidi, Esmail Hadizadeh, Pooria Shaabani, Awat Feizi
- The Relationship of CD8-Positive Cytotoxic T Lymphocytes and other Clinicopathologic Features with Survival in Breast Cancer 1314
 Simin Hemati, Mitra Heidarpour, Awat Feizi, Fatemeh Abootalebian



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و پنجم، شماره (۴۴۸)، هفته چهارم آبان ماه ۱۳۹۶

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر مریم راد احمدی

امور نشر:

(ویراستاری، صفحه‌آرایی، بازبینی، طراحی، چاپ و پشتیبانی آنلاین)

انتشارات فرزاتگان راداندیش

Email: farapublications@gmail.com

http://farapub.com

تلفن: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۳۵

دورنگار: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۸۲

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

Email: publications@mui.ac.ir

صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

دفتر مجله: دانشکده پزشکی

مسئول دفتر: گلناز رجبی

مدیر اجرایی: علی مرادی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

Email: jims@med.mui.ac.ir

http://jims.mui.ac.ir

وب سایت مجله:

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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



راهنمای نگارش و ارسال مقاله علمی - پژوهشی

مجله علمی - پژوهشی دانشکده پزشکی اصفهان، در Scopus نمایه شده و به صورت هفته نامه، تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می گردد. این مجله اقدام به انتشار مقالات علمی در زمینه پژوهش های علوم پزشکی (پایه و بالینی) و رشته های وابسته به آن می نماید. مقالاتی در این مجله پذیرفته می شوند که علمی - پژوهشی بوده و پیش از این در جای دیگری منتشر نشده و یا حتی به طور همزمان به مجلات دیگر ارسال نگردیده باشند. این مجله مقالات به زبان فارسی شامل انواع پژوهشی اصیل، مروری، گزارش موردی، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را منتشر می نماید و بر روی وب سایت مجله به آدرس <http://jims.mui.ac.ir> قرار می دهد. مقالات ارسالی باید در فرمت پیشنهادی مجله ارسال گردند و به دست نوشته هایی که در خارج از فرمت ذکر شده در راهنمای نویسندگان ارسال گردند ترتیب اثر داده نخواهد شد.

هیأت تحریریه پس از دریافت مقالات اقدام به بررسی مقاله از لحاظ ساختاری و موضوعی می نماید و چنانچه مقاله در بررسی اولیه مورد تأیید باشد، برای داوری ارسال می شود. زمان فرایند داوری (از دریافت تا پذیرش نهایی آن) ۳ ماه و در صورت تقاضا جهت بررسی سریع تر با شرایط ذکر شده در راهنمای نویسندگان ۲۵-۲۰ روز می باشد. لازم به ذکر است داوری و انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است. لذا پس از انجام مراحل داوری و پذیرش مقاله و قبل از صدور نامه پذیرش، لازم است نویسندگان محترم فرایند مالی را تکمیل نمایند.

نحوه ارسال دست نوشته ها در سامانه

نویسندگان محترم پس از آماده سازی دست نوشته مطابق راهنمای نویسندگان، از طریق ثبت نام (Registration) در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی اصفهان به آدرس <http://jims.mui.ac.ir>، می توانند وارد صفحه شخصی خود شده و تمامی بخش ها را تکمیل و دست نوشته را ارسال نمایند.

توجه به نکات زیر در ارسال مقاله ضروری است:

- ارسال مقاله منحصراً از طریق ثبت نام در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی انجام می شود. لازم است فقط نویسنده مسؤول اقدام به سابمیت مقاله نماید و مقالاتی که توسط سایر نویسندگان یا اشخاص دیگر سابمیت شوند مورد بررسی قرار نخواهند گرفت.
- نویسنده ای که برای بار دوم اقدام به ارسال مقاله اصلاح شده خود می نماید، حتماً باید از طریق صفحه شخصی قبلی خود اقدام نموده و به هیچ عنوان دوباره به عنوان کاربر جدید و با ایمیل جدید در سامانه ثبت نام نکند.
- وارد کردن اسامی تمامی نویسندگان در سامانه و در محل مربوط به وارد کردن اسامی نویسندگان مقاله، الزامی است.
- پس از ارسال مقاله، تغییر اسامی نویسندگان امکان پذیر نمی باشد.
- فایل هایی که نویسنده در مرحله اولیه ارسال می کنند شامل: (۱) فایل Word صفحه عنوان (۲) فایل Word دست نوشته، (۳) فرم تعهدنامه، (۴) فرم مشخصات کامل نویسندگان (Cover letter) است که به ترتیب بایستی آپلود گردند.
- نویسندگان در قسمت ارسال فایل ها، با ارسال یک فایل تعهد نامه که به امضای همه نویسندگان رسیده است، حق انتشار مقاله را به مجله دانشکده پزشکی اصفهان واگذار می نمایند. در غیر این صورت مقاله در روند داوری قرار نخواهد گرفت.
- مقالات ارسالی باید دارای فایل مجزا (Cover letter) شامل یک نامه خطاب به سردبیر حاوی عنوان مقاله، اسم، آدرس و ایمیل نویسنده مسؤول، اسامی و ایمیل سایر نویسندگان باشد. در این نامه بایستی به صراحت اعلام گردد که دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است یا همزمان در حال بررسی نمی باشد.
- در مرحله دوم بعد از این که دست نوشته از نظر همراستایی و فرمت مجله مورد ارزیابی اولیه قرار گرفت و تأییدیه دفتر مجله در خصوص قابل ارجاع بودن آن دست نوشته برای شروع فرایند داوری ارسال گردید، ضروری است ۵۰ درصد کل هزینه به منظور شروع فرآیند داوری به عنوان (Processing fee) بر اساس موارد ذکر شده در بخش هزینه انتشار راهنمای نویسندگان پرداخت گردد. این هزینه غیر قابل برگشت می باشد. سپس فایل مربوط به تصویر اسکن شده فیش پرداختی فقط با نام نویسنده مسؤول از طریق سایت به دفتر مجله ارسال گردد. لازم به ذکر است تنظیم دست نوشته بر اساس فرمت مجله، و پرداخت وجه اولیه فقط جهت ارسال به داوران بوده و دال بر پذیرش آن نمی باشد.

از مؤلفان گرامی تقاضا می‌شود، در ارسال مقالات به نکات زیر توجه فرمایند:

- ارسال مقاله فقط از طریق سایت پذیرفته می‌شود.
- زبان رسمی مجله، فارسی است و مقالات فقط به زبان فارسی همراه با چکیده انگلیسی قابل پذیرش هستند.
- دست‌نوشته‌های به زبان‌های غیر از فارسی و ترجمه شده در این مجله منتشر نمی‌شود.
- مقالات باید پژوهشی و حاصل تحقیق نویسنده یا نویسندگان در زمینه علوم پزشکی (پایه و بالینی) و رشته‌های مرتبط بوده که پیش از این به انگلیسی یا فارسی در سایر مجلات منتشر نشده باشد و یا به طور همزمان به مجلات دیگر نیز ارسال نگردیده باشد.
- این مجله مقالات شامل انواع اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را در منتشر می‌نماید.
- فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین نیز توسط این مجله انتشار می‌یابد.
- مقالات قابل انتشار در مجله علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی اصفهان شامل موارد زیر می‌باشند.

الف- مقالات پژوهشی اصیل: مقالات علمی- پژوهشی با حداکثر حجم ۲۵۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مأخذ ۳۰ عدد می‌باشد.

ب- مقالات کوتاه پژوهشی: مقالات علمی کوتاه پژوهشی با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مأخذ ۱۵ عدد می‌باشد.

ج- مقالات مروری - مقالات مروری (Review Article) از نویسندگان مجرب و صاحب مقالات پژوهشی در زمینه مورد بحث پذیرفته خواهد شد. اصول کلی نگارش مشابه سایر مقاله‌های پژوهشی است. این نوع مقالات با حداکثر ۷۰۰۰ کلمه می‌باشند. در فهرست منابع حداقل ۶ مرجع مورد استفاده می‌بایستی متعلق به نویسنده باشد (با حداقل چهار مقاله از شش مقاله به عنوان نویسنده اول و یا نویسنده مسؤول). برای ارسال مقالات مروری ضروری است که حتماً از قبل با سردبیر مجله هماهنگی لازم صورت گرفته و سپس اقدام به ارسال دست‌نوشته نمایند در غیر اینصورت مجله از بررسی آن معذور است.

د- نامه به سردبیر- نامه به سردبیر می‌تواند به صورت ارایه مشاهدات علمی یا نقد یکی از مقالات چاپ شده در این مجله باشد و با بحثی کوتاه، همراه با درج فهرست منابع نگاشته شود. نامه به سردبیر با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مأخذ ۵ عدد می‌باشد. نقد مقاله برای نویسنده مسؤول مقاله مورد نقد، ارسال خواهد شد و همراه با پاسخ وی، در صورت تصویب شورای نویسندگان به چاپ خواهد رسید.

ه- تحقیقات کیفی- تحقیقات کیفی با حداکثر ۳۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مأخذ ۳۰ عدد می‌باشد.

ز- گزارش مورد- گزارش‌های موردی شامل گزارش موارد نادر یا جالب است و باید شامل چکیده، مقدمه، گزارش مورد، بحث، نتیجه‌گیری، سپاس‌گزاری و منابع باشد. گزارش مورد با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۵، سقف منابع و مأخذ ۱۵ عدد می‌باشد.

تبصره ۱- مقالات ترجمه پذیرفته نمی‌شود.

تبصره ۲- ارسال دست‌نوشته یا مدارک با فرمت PDF به هیچ عنوان پذیرفته نیست.

تبصره ۳- مقاله‌های کارآزمایی بالینی پیش از ارسال برای انتشار، بایستی در یکی از مراکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی مانند مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران IRCT به آدرس زیر ثبت شده و کد ثبت آنها به همراه مقاله ارسال شود: <http://www.irct.ir>

- مقالات ارسالی باید دارای بخش‌های ذیل باشند و به دست‌نوشته‌هایی که خارج از فرمت ذکر شده ارسال گردند ترتیب اثر داده نخواهد شد.

- دست‌نوشته باید توسط نرم‌افزار MS Word در سایز A4 و فاقد هرگونه صفحه‌آرایی، فاصله خطوط ۱ برابر (Single) با حاشیه‌های ۲/۵ سانتی‌متری، به صورت یک ستونی، قلم B Zar و سایز ۱۱، قلم عنوان B Zar سایز ۱۱ Bold تهیه شوند. برای تایپ متن خلاصه انگلیسی و رفرنس‌ها از قلم Time New Roman سایز ۱۰ و جهت قلم عنوان لاتین نیز از قلم Time New Roman سایز ۱۰ Bold استفاده شود.

- معادلات باید به صورت خوانا با حروف و علائم مناسب با استفاده از Microsoft Word Equation تهیه شوند. واحدها بر حسب واحد بین‌المللی (SI) و معادلات به ترتیب شماره‌گذاری شوند.

- دست‌نوشته باید شامل دو فایل: (۱) فایل Word صفحه عنوان (۲) فایل Word دست‌نوشته (به ترتیب دارای چکیده، مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع) باشد. تأکید می‌گردد از ارسال فایل‌های متعدد حاوی جداول، تصاویر و غیره خودداری شود.

صفحه عنوان: این صفحه باید شامل عنوان کامل، عنوان مکرری، اسامی نویسندگان یا نویسندگان بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان و همچنین آدرس، تلفن، فاکس و پست الکترونیکی نویسنده مسؤول و تقدیر و تشکر (شامل تشکر از افراد، شماره طرح پژوهشی و یا پایان نامه، ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی) باشد. ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست‌نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

- ذکر اسامی نویسندگان یا نویسندگان بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان به انگلیسی نیز در صفحه عنوان الزامی است.

تبصره ۱- عنوان مقاله معرف محتوای مقاله باشد و از ۲۰ واژه تجاوز نکند.

تبصره ۲- با توجه به سیستم الکترونیک مجله، مقاله مستقیماً برای داور ارسال می‌گردد، لذا توجه شود که در فایل ورد پس از صفحه عنوان، مقاله فاقد اسامی نویسندگان باشد. در غیر این صورت تا اصلاح شدن فایل، ارسال مقاله برای داور متوقف می‌شود.

- چکیده: تمام مقالات اصلی باید دارای چکیده مقاله به دو زبان فارسی و انگلیسی با حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد. چکیده باید شامل بخش‌های مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث و واژگان کلیدی باشد. در پایان چکیده مقاله سه الی پنج کلمه کلیدی قرار می‌گیرد که بایستی تنها با استفاده از راهنمای MeSH از آدرس (<http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>) استخراج گردند. چکیده انگلیسی بایستی دقیقاً معادل چکیده فارسی باشد و شامل بخش‌های **Keywords, Conclusion, Findings, Methods, Background** باشد.

- 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.

- روش‌ها: این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط منع 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؛ شیوه تأمین روایی مشخص شود و توصیف دقیق فرآیند اجرایی برای رواسازی آن توضیح داده شود. چگونگی تعیین روش‌های مورد استفاده برای تأمین پایایی پرسش‌نامه و گزارش نتایج آزمون‌های آماری به کار گرفته شده جهت تأمین پایایی توضیح داده شود. در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

- یافته‌ها: این بخش به صورت متن همراه با جدول‌ها، شکل‌ها و نمودارها ارائه می‌گردد. در این بخش فقط یافته‌ها ارائه می‌شود و باید از ذکر دلایل و استدلال‌های مرتبط با آن خودداری گردد. محتوای جداول نباید به صورت کامل در متن ارائه شوند، بلکه کافی است با ذکر شماره جدول، شکل و یا نمودار به آنها در میان متن اشاره شود. جدول‌ها، نمودارها و شکل‌ها هر کدام باید در یک صفحه جداگانه و پس از منابع، در پایان دست‌نوشته به ترتیب آورده شوند. همچنین باید جداول و نمودارها در فایل اصلی دست‌نوشته، علاوه بر ارجاع در متن، محل قرارگیری آنها نیز جانمایی شده باشند.

- 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.

- جدول‌ها: جداول بدون حاشیه خارجی ارسال گردد. 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 دست‌نوشته (پس از منابع) قرار داده شوند. جدول‌ها باید دارای زمینه سفید و بدون سایه و ترام باشد. جداول باید توسط نرم‌افزار MS Word و فاقد هرگونه صفحه آرایی، فاصله خطوط ۱ برابر (Single)، قلم B Zar و سایز ۱۰ و قلم متغیرهای هر ستون B Zar و سایز ۱۰ Bold تهیه شوند. برای تایپ کلمات لاتین در جدول از قلم Time New Roman سایز ۹ استفاده شود.

- تصویر و نمودار: تصویر یا نمودار همراه ذکر عنوان آن در زیر و با فرمت JPG قابل قبول است. لازم است هر تصویر با کیفیت ۲۰۰ نقطه در اینچ و محدودیت حجم حداکثر ۵۰۰ کیلو بایت در نظر گرفته شود.

تبصره ۱- اگر شکل یا جدولی از مرجع دیگری اخذ شده است، شماره مرجع در آخر عنوان جدول یا شکل نوشته شود و مشخصات مأخذ در بخش مراجع درج شود. -تقدیر و تشکر: در این بخش تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند 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. همچنین ذکر نام سازمان(های) حمایت‌کننده یا تأمین‌کننده مالی پژوهش در این بخش ضروری است.

- در صورتی که دست‌نوشته حاصل از پایان‌نامه دانشجویی باشد حتماً بایستی در قسمت تقدیر و تشکر شماره پایان‌نامه مصوب دانشگاه و نیز نام دانشگاه ذکر گردد.

- تبصره ۱- ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست‌نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

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

- اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

Zini F, Basiri Jahromi Sh. Study of fungal infections in patients with leukemia. Iran J Public Health 1994; 23(1-4): 89-103. [In Persian].

(نام نویسندگان با علامت کاما از هم جدا شود. ذکر اسامی نویسندگان تا نفر ششم الزامی است. اگر تعداد نویسندگان بیش از شش نفر باشد، پس از نام نفر ششم، از عبارت "et al." استفاده شود.)

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان کتاب (.) نوبت چاپ (.) محل نشر (:) ناشر (:) سال انتشار (.) p (.) شماره صفحات (.) مثال:

نمونه انگلیسی:

Romenes GJ. Cunningham's manual. 15th ed. New York, NY: Oxford Univ Press; 1987.

نمونه فارسی:

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

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

- منابع به صورت پایان نامه

نام خانوادگی نویسنده (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان پایان نامه (فاصله) [مقطع پایان نامه] (.) نام شهر، کشور (:) نام دانشکده (.) نام دانشگاه (:) سال انتشار

- منابع به صورت الکترونیکی - مجله الکترونیکی روی اینترنت

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان مقاله (.) نام اختصاری مجله الکترونیکی (فاصله) [online] (سال نشر و ماه نشر در صورت لزوم) (:) دوره (شماره) (:) [شماره صفحات یا قابها] (.) [روز، ماه و سال دسترسی] [cited] (:) Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال:

Mosharraf R, Hajian F. Occlusal morphology of the mandibular first and second premolars in Iranian adolescents. Inter J Dental Anthropol [Online] 2004; 5: [3 Screens] [cited 2006 Nov 13]; Available from: <http://www.jida.syllabapress.com/abstractsijda5.shtml>

منابع به صورت صفحه وب

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده [یا شرح پدیدآور] (.) عنوان (.) سال نشر در صورت دسترسی (:) [شماره صفحات یا قابها] [روز، ماه و سال دسترسی] [cited] (:) Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال:

Dentsply Co. BioPure (MTAD) Cleanser. [2 screens] [cited 2006 Nov 26]. Available from: www.store.tulsadental.com/catalog/biopure.html

- نمونه خوانی (Proofreading): یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤول ارسال می گردد که لازم است در کوتاه ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وبسایت مجله ارسال نماید.

- اختصارات و نشانه ها: تنها از اختصارات و نشانه های استاندارد استفاده شود و از ذکر عبارات های مخفف در عنوان و خلاصه مقاله خودداری گردد.

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

- پس از انتشار، نسخه ای برای نویسنده مسؤول ارسال نخواهد شد و شماره های مجله از طریق سایت برای نویسندگان و خوانندگان قابل دسترسی می باشد.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

- تأثیر چهار هفته شنای هوازی بر میزان عامل نورونزایی مشتق از مغز و گیرنده‌ی آن در بافت مغز موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی.. ۱۲۶۳
سید مهدی سیدالحسینی، حمید رجبی، عطاله غدیری، رضا قراخانلو، علیرضا سرکاکی
- ۱۲۷۱..... تفکیک بازه‌های زمانی بیداری از خواب مبتنی بر پردازش طیف مرتبه‌ی دوم سیگنال الکتروانسفالوگرام.....
احسان محمدی، سعید کرمانی، بابک امرا
- ۱۲۷۶..... **K-means** بخش‌بندی سلول‌های مؤثر در سرطان میلوم متعدد با استفاده از مدل‌های تغییر شکل‌پذیر و خوشه‌بندی
حدیث گل محمدی، علیرضا ورد، اردشیر طالبی
- ۱۲۸۳..... آلودگی به ویروس هپاتیت E در بیماران پیوند کلیه در شهر اصفهان بر اساس ردیابی مولکولی ویروس
بهروز عطایی، مریم کیهانی، مرتضی پوراحمد، شهرام طاهری
- ۱۲۸۹..... بررسی اثرات کارودیلول و ویتامین E بر ناهنجاری‌های اسکلتی ناشی از والپروات سدیم در جنین موش صحرائی.....
رضا رنجبر، فاطمه حسینی سیاهی، محمود خاکساری مهابادی، حسین نجف‌زاده ورزی
- ۱۲۹۸..... بررسی اپیدمیولوژیک عوامل جمعیت‌شناختی و پایه‌ای بالینی مبتلایان به بیماری مزمن کلیوی شهر اصفهان در بازه‌ی زمانی ۹۰-۱۳۷۵.....
شهرزاد شهیدی، اسماعیل هادی‌زاده، پوریا شعبانی، آوات فیضی
- ۱۳۰۹..... بررسی ارتباط لئوسیت‌های T سیتوتوکسیک Cd و سایر مشخصات بالینی و آسیب‌شناسی با بقای بیماران مبتلا به سرطان پستان.....
سیمین همتی، میترا حیدرپور، آوات فیضی، فاطمه ابوطالبیان

تأثیر چهار هفته شنای هوازی بر میزان عامل نورون‌زایی مشتق از مغز و گیرنده‌ی آن در بافت مغز موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی

سید مهدی سیدالحسینی^۱، حمید رجبی^۲، عطاله غدیری^۳، رضا قراخانلو^۴، علیرضا سرکاکی^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: Multiple sclerosis، به عنوان یک بیماری عصبی-ایمنی‌شناسی (Neuroimmunology) در انسان شناخته می‌شود. شواهد حاکی از نقش عامل نورون‌زایی مشتق از مغز (Brain-derived neurotrophic factor یا BDNF) و گیرنده‌ی اختصاصی آن، تیروزین کیناز B (Tyrosine receptor kinase B یا TrkB) در پیشرفت این بیماری است. تأثیر عوامل مختلف بر روی بیان این عوامل در مطالعات مختلف گزارش شده است. هدف از انجام این مطالعه، تعیین تأثیر چهار هفته شنای هوازی بر میزان عوامل نورون‌زایی مشتق از مغز و تیروزین کیناز B در مغز موش‌های مدل حیوانی Multiple sclerosis یا مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی (Experimental autoimmune encephalomyelitis یا EAE) بود.

روش‌ها: موش‌های C57BL/6 به ۸ گروه ۱۰ تایی شامل ۶ گروه موش‌های مدل EAE (شاهد، شنا، دریافت اینترفرون بتا-۱، شنا و دریافت اینترفرون بتا-۱)، شاهد تزریق، شاهد شنا و تزریق) و ۲ گروه موش‌های سالم (شاهد، شنا) تقسیم شدند. از روز ۹ بیماری، موش‌ها به مدت ۴ هفته روزانه مقدار ۱۵۰ واحد بین‌المللی/گرم اینترفرون بتا-۱ دریافت نمودند و یا به مدت ۴ هفته، به صورت ۵ روز در هر هفته و روزانه ۳۰ دقیقه، ورزش شنا داشتند. بافت مغز جدا و سطح عوامل پیش‌گفته به روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) سنجیده شد. داده‌ها توسط آزمون One-way ANOVA تحلیل شدند.

یافته‌ها: EAE منجر به کاهش BDNF و افزایش TrkB در مغز موش‌های مدل EAE شد. همچنین، نشان داده شد که شنا و تیمار اینترفرون بتا-۱، منجر به افزایش این عوامل در مغز موش‌ها شد؛ در حالی که این افزایش به صورت آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های این مطالعه، احتمال می‌رود ورزش نسبت به داروی اینترفرون بتا-۱، عامل مؤثرتری در تغییر سطح BDNF و TrkB بافت مغز موش‌های مدل EAE باشد.

واژگان کلیدی: انسفالومیلیت خود ایمن تجربی، عامل نورون‌زایی مشتق از مغز، تیروزین کیناز B، شنای هوازی

ارجاع: سیدالحسینی سید مهدی، رجبی حمید، غدیری عطاله، قراخانلو رضا، سرکاکی علیرضا. تأثیر چهار هفته شنای هوازی بر میزان عامل نورون‌زایی مشتق از مغز و گیرنده‌ی آن در بافت مغز موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۸): ۱۲۷۰-۱۲۶۳

مقدمه

در طی چند دهه‌ی اخیر، Multiple sclerosis (MS) به عنوان یک بیماری مزمن التهابی درگیر کننده‌ی سیستم عصبی مرکزی شامل مغز و نخاع به خوبی در جهان شناخته شده است. در این بیماری، سیستم ایمنی با افزایش التهاب، موجب میلین‌زدایی و آسیب برگشت ناپذیر جدی به آکسون سلول‌های عصبی می‌شود و به نوبه‌ی خود، منجر به

نقص در انتقال پیام‌های ارتباطی و بروز علائم جسمی می‌گردد (۱-۲). در سال‌های اخیر، عوامل نورون‌زا شامل Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) به عنوان یک کاندیدای مولکولی برای افزایش محافظت عصبی در بیماری‌های خود ایمن نظیر MS پیشنهاد شده‌اند (۲). این عامل می‌تواند منجر به افزایش رشد، بقا و توسعه و همچنین، بهبود عملکرد سلول‌های

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
- ۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
- ۳- استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
- ۴- استاد، گروه تربیت بدنی، دانشکده‌ی علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- ۵- استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران

Email: smhosein2000@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤؤل: سید مهدی سیدالحسینی

فعالیت فیزیکی به ویژه ورزش هوازی را به صورت طولانی انجام داده‌اند، میزان بالاتری از BDNF را داشته‌اند (۱۴).

در مجموع، این مطالعات بیانگر این موضوع هستند که بیماری MS و ورزش، می‌توانند منجر به تغییر بیان و تولید BDNF و گیرنده‌ی TrkB شوند. از این رو، در مطالعه‌ی حاضر اثر ورزش شنا بر روی میزان این دو عامل پروتئینی در مغز موش‌های مدل EAE مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به استفاده از اینترفرون بتا-۱ برای کاهش علائم بیماری در افراد مبتلا به MS، این دارو به منظور مقایسه با تأثیر شنا در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته است. در مطالعه‌ای که به تازگی انجام شد، تیمار اینترفرون بتا-۱ منجر به کاهش شدت علائم بالینی در موش‌های مبتلا به EAE گردید؛ از این رو، با توجه به عدم وجود شواهد متقن مولکولی مبنی بر تأثیر اینترفرون بتا-۱ بر روی BDNF و TrkB، این ماده می‌تواند خود نیز به عنوان یک مداخله‌گر مجزا مورد مطالعه قرار گیرد.

روش‌ها

حیوانات: برای انجام این مطالعه‌ی تجربی، ۸۰ سر موش سوری ماده با نژاد C57BL/6 و سن ۱۲-۱۰ هفته و وزن 20 ± 2 گرم که از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. موش‌ها در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 23 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند و آب و غذای کافی در اختیار آن‌ها قرار گرفت. کلیه‌ی روش‌های موجود در این مقاله، به تأیید کمیته‌ی پژوهشی دانشگاه خوارزمی رسید. اصول اخلاقی رفتار با حیوانات منطبق با کنوانسیون‌های بین‌المللی و اصول اخلاق در پژوهش‌های حیوانی زیر نظر دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز رعایت گردید.

گروه‌های مورد مطالعه: در این مطالعه، موش‌ها در ۸ گروه ۱۰ تایی قرار گرفتند که در ۶ گروه موش‌های مدل EAE (شاهد، شنا، دریافت اینترفرون بتا-۱، شنا و دریافت اینترفرون بتا-۱، شاهد تزریق، شاهد شنا و تزریق) به صورت تصادفی تقسیم شدند و ۲۰ سر موش دیگر در ۲ گروه سالم (شاهد، شنا) تقسیم شدند و در نهایت، گروه‌ها بدین ترتیب نام‌گذاری گردیدند: (۱) گروه شاهد که شامل موش‌های سالم (بدون EAE) بودند (Control)؛ (۲) گروه شنا که شامل موش‌های سالم (بدون EAE) بودند و تنها چهار هفته فعالیت ورزشی شنا را تجربه کرده‌اند (Swim یا SW)؛ (۳) گروه MS که شامل موش‌های دارای EAE بودند (EAE)؛ (۴) گروه MS + شنا که شامل موش‌ها دارای EAE بودند که چهار هفته فعالیت ورزشی شنا را تجربه کردند (EAE + SW)؛ (۵) گروه MS + اینترفرون که شامل موش‌های دارای EAE بود که اینترفرون بتا-۱ دریافت کردند (EAE + Interferon beta-1 یا IFN)؛ (۶) گروه MS + حلال

عصبی شود. BDNF به فراوانی در مغز تولید می‌شود و در بیماران مبتلا به MS توسط سلول‌های سیستم ایمنی نیز تولید می‌گردد (۲). مطالعات انسانی نشان داده‌اند که سطح سرمی BDNF، در مرحله‌ی حمله‌ی بیماری و ریکاوروی بعد از آن در بیماران MS نوع برگشت پذیر، به شکل معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد می‌باشد؛ در حالی که مقدار این عامل در بیماران MS نوع پیش‌رونده، به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه شاهد گزارش شده است (۳). علاوه بر این، تحقیقات بر روی مدل حیوانی بیماری MS که با نام Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) شناخته می‌شود (۴) نشان داده است که میزان بیان BDNF می‌تواند تحت تأثیر عوامل التهابی، عوامل ضد التهابی آگزوتیک و نیز ورزش تغییر پیدا کند (۲). در تأیید این یافته‌ها، محققان نشان داده‌اند که برخی از داروها با خاصیت ضد التهابی می‌توانند منجر به افزایش بیان و تولید این عامل و همچنین، کاهش میلین‌زدایی و شدت نشانه‌های جسمی در موش‌های مبتلا به EAE شوند (۵).

BDNF از طریق گیرنده‌ی Tyrosine receptor kinase B (TrkB) فعالیت خود را بروز می‌دهد (۲). این عامل با متصل شدن به گیرنده‌ی اختصاصی‌اش و فعال کردن آن، می‌تواند با القای اثرات ضد مرگ سلولی، بقا و توسعه‌ی سلول‌های عصبی را بهبود بخشد (۲). در واقع، مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که فعالیت بیشتر گیرنده‌ی TrkB توسط BDNF در مرحله‌ی حاد بیماری MS، می‌تواند منجر به کاهش مرگ سلول‌های عصبی و مانع از تخریب میلین و دسترسی آن به سلول‌های ایمنی بدن شود (۲).

کاهش میزان بیان این گیرنده، ممکن است منجر به افزایش شدت بیماری شود. در این رابطه، افزایش بیان BDNF همراه با گیرنده‌ی اختصاصی‌اش -TrkB- پس از ورزش به عنوان یک عامل اساسی در تقویت طول آکسون و کاهش ناهنجاری‌های سیناپسی مطرح شده است (۶-۷). همچنین، نشان داده شده است که ورزش روی تردمیل و چرخ دوار، به طور معنی‌داری موجب تقویت بیان BDNF و TrkB در مغز موش‌های صحرایی شده است (۸).

با توجه به افزایش مبتلایان به بیماری MS در ایران و سایر نقاط جهان، بخش بزرگی از تحقیقات بر روی توسعه‌ی راه‌های درمانی این بیماری متمرکز شده است. یکی از روش‌هایی که در سال‌های اخیر مورد استقبال دانشمندان قرار گرفته است، انجام فعالیت‌های فیزیکی-ورزشی نظیر شنا می‌باشد (۹-۱۱). شنا کردن به عنوان یک فعالیت فیزیکی و هوازی کنترل شده، شناخته شده است. برخی از شواهد انسانی نشان می‌دهد که ورزش هوازی و شنا به مدت چند هفته، باعث افزایش سطح BDNF در سرم افراد مبتلا به MS می‌شود (۱۲-۱۳). علاوه بر آن، مطالعات انسانی نشان داده است که افرادی که

Bernardes و همکاران (۱۶) از روز ۹ بعد از القای بیماری، که بروز علائم بالینی در حیوانات شروع می‌شود (در شیوه‌نامه‌ی القای مدل انسفالومیلیت تجربی اجرا شده، علائم بالینی به طور معمول از روز ۹ ظاهر می‌شوند)، در یک محفظه‌ی شنا با دمای کنترل شده (31 ± 1) درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۰ دقیقه در روز و ۵ روز در هفته به مدت ۴ هفته انجام گرفت. موش‌ها در هفته‌ی اول از روزهای اول تا چهارم جهت آشنایی با آب و تمرین‌پذیری و روز پنجم تحت یک آزمایش بار فزاینده طبق شیوه‌نامه‌ی Bernardes و همکاران در محفظه قرار گرفتند. این شیوه‌نامه، شامل چند مرحله شنا با تحمیل باری پیش‌رونده (افزاینده) بر دم موش‌ها و در هر مرحله به میزان ۲ درصد وزن بدن آن‌ها بود؛ که در این مراحل (حداکثر ۳ دقیقه‌ای)، غوطه‌وری تا مرز خستگی کامل ادامه پیدا کرد.

در نهایت و با افزایش فزاینده‌ی ۲ درصدی به بار اعمال شده طی مراحل مختلف، مشخص گردید بیشینه‌ی باری که موش‌ها در مراحل آزمایش بار فزاینده تحمل می‌کنند، برابر با ۷ درصد از وزن بدن آن‌ها می‌باشد. بنابراین، اولین جلسه‌ی تمرین در آب، با ۶۰ درصد از بیشینه‌ی بار به دست آمده (معادل ۴/۲ درصد از وزن بدن) آغاز گردید. موش‌ها هر هفته وزن شدند تا در صورت نیاز بار اضافی بر اساس وزن جدید اعمال گردد. با توجه به وضعیت گزارش شده‌ی وزنی در این پژوهش، شیوه‌نامه‌ی اضافه بار بدون نیاز به تغییر و بار جدید، تا پایان ثابت در نظر گرفته شد. برای اعمال فشار محیط شنا و به منظور ایجاد شرایطی یکسان، موش‌های گروه شاهد محیط شنا (EN)، هم‌زمان بر روی یک سکو در بالای محفظه‌ی شنا‌ی گروه تمرین، قرار داده شدند. برای تسریع در تنظیم دمای بدن و کاهش استرس وارده بعد از هر جلسه‌ی تمرین شنا، حیوانات به آرامی توسط یک حوله‌ی نرم، خشک شدند (جدول ۱).

تیمار/اینترفرون: از آن جایی که اثر اینترفرون بتا-۱ برای کاهش علائم بیماری در افراد مبتلا به MS ثابت شده است، این دارو به منظور مقایسه با تأثیر شنا در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. از این رو، دو گروه از حیوانات میزان ۱۵۰ واحد بین‌المللی/گرم اینترفرون بتا-۱ (سینازن) به صورت زیر جلدی دریافت کردند. اینترفرون بتا-۱ در بافر فسفات سالین حل شد. حیوانات از روز ۹ و آغاز علائم بیماری، مورد تیمار قرار گرفتند (۱۴).

اینترفرون بتا-۱ شامل موش‌های دارای EAE بودند که تنها حلال اینترفرون بتا-۱ دریافت کردند (Solvent یا EAE + SOL)؛ گروه MS + محیط شنا + حلال که در آن موش‌ها دارای EAE بودند و تنها حلال اینترفرون بتا-۱ دریافت کردند و بر سکویی بالاتر از سطح آب روی محفظه‌ی شنا مستقر شده بودند (Environment یا EAE + EN و ۸) گروه MS + اینترفرون بتا-۱ + شنا که شامل موش‌های دارای EAE بودند که اینترفرون بتا-۱ دریافت و چهار هفته فعالیت ورزشی شنا را تجربه کردند (EAE + SW + INF).

موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خود ایمن تجربی: القای EAE

به موش‌ها در مؤسسه‌ی اختلالات شناختی و رفتاری سالاری انجام شد. این بیماری بر اساس روش کار مشخصی به حیوانات القا شد؛ به این ترتیب که حیوان ابتدا با تزریق صفاقی کسامین هیدروکلراید (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شد. سپس، ۳۰۰ میکروگرم Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein (MOG) در حجم ۱۰۰ میکرولیتر Phosphate buffered saline (۳۵-۵۵) (PBS) و با ۵۰۰ میکروگرم مایکوباکتریوم که تسهیل و تشدید کننده‌ی پاسخ‌های التهابی می‌باشد، در حجم ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت کامل (Complete Freund's adjuvant) مخلوط گردید و به صورت زیر جلدی در ناحیه‌ی هر دو پهلو تزریق شد. بلافاصله بعد از این تزریق و ۴۸ ساعت بعد، ۳۰۰ نانوگرم سم سیاه سرفه (Pertussis toxin یا PT) که نفوذپذیری سد خونی - مغزی را به جهت نفوذ عامل‌های التهابی به سیستم عصبی مرکزی (Central nervous system یا CNS) افزایش می‌دهد، به صورت داخل صفاقی تزریق گردید (۱۵).

شروع علائم بیماری و شدت بیماری درجه‌بندی شد؛ به گونه‌ای که نمره‌ی صفر (بدون علائم بالینی)، نمره‌ی ۰/۵ (شلی بخشی از دم)، نمره‌ی ۱ (فلج کامل دم)، نمره‌ی ۱/۵ (فلج کامل دم و ضعف مقطعی اندام پشتی)، نمره‌ی ۲ (فلج کامل دم و ضعف مشهود اندام پشتی)، نمره‌ی ۲/۵ (فلج یک‌طرفه‌ی اندام پشتی)، نمره‌ی ۳ (فلج کامل اندام پشتی)، نمره‌ی ۳/۵ (فلج کامل اندام پشتی و ضعف دست)، نمره‌ی ۴ (فلج چهار دست و پا) و نمره‌ی ۵ (زمین‌گیری کامل یا مرگ) را نشان می‌دهد.

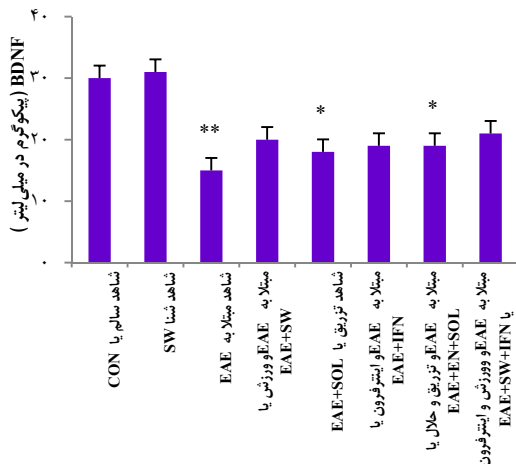
فعالیت بدنی شنا: برنامه‌ی تمرینی شنا طبق شیوه‌نامه‌ی

جدول ۱. برنامه‌ی تمرینی در گروه‌های شنا

| گروه‌ها | تعداد موش‌ها | نوع تمرین | سازگاری با محیط | آشنایی با آب | آزمایش بار فزاینده | طول دوره | تعداد جلسات | مدت | شدت |
|--|--------------|---|-----------------|--------------|-----------------------------|----------|----------------|-----------------|--------------|
| سالم شنا EAE + شنا EAE + IFN + شنا | ۳۰ | شنا در دمای 31 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد | یک هفته | ۴ روز | روز پنجم با ۷-۲ درصد وزن | ۲۸ روز | ۵ جلسه در هفته | روزانه ۳۰ دقیقه | ۴/۲ درصد وزن |

EAE: Experimental autoimmune encephalomyelitis; IFN: Interferon beta-1

نتایج نشان می‌دهد که اینترفرون به تنهایی و حتی همراه با ورزش، قادر به افزایش سطح این عامل در مغز موش‌های مبتلا به EAE نبود.



شکل ۱. مقایسه‌ی میانگین غلظت Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) در گروه سالم شنا (SW یا Swim) با میانگین گروه‌های انسفالومیلیت خود ایمن تجربی (Experimental autoimmune encephalomyelitis) یا (EAE)، شنا و EAE، EAE و دریافت حلال، EAE و دریافت اینترفرون بتا-۱، EAE که حلال دارو دریافت کردند و در محیط شنا قرار گرفتند و در نهایت گروه EAE و دریافت اینترفرون بتا-۱ که در تمرین‌های شنا شرکت داشتند. تأثیر شنا و تیمار اینترفرون بتا-۱ بر روی میزان عامل نورون‌زایی مشتق شده از مغز (BDNF) در بافت مغز موش‌های مبتلا به EAE بررسی شد.

میزان معنی‌داری: $P < 0.05$ و $P < 0.01$ **مقایسه شده با گروه شاهد (Control)

تأثیر ۴ هفته شنای هوازی بر میزان گیرنده‌ی TrkB در بافت مغز

موش‌های مبتلا به EAE شکل ۲ نشان می‌دهد که EAE باعث افزایش معنی‌دار در سطح گیرنده‌ی TrkB ($P < 0.05$) در مقایسه با گروه شاهد شد. آنالیزهای آماری نیز نشان داد که گروه‌های EAE + شنا + اینترفرون بتا-۱ و EAE + شنا به صورت محسوسی منجر به افزایش این گیرنده در موش‌های مبتلا به EAE شدند. با این حال، این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. علاوه بر این، بر اساس یافته‌های ما، اینترفرون بتا-۱ اثر معنی‌داری بر روی میزان این گیرنده در بافت مغز موش‌های مبتلا به EAE نداشت.

بحث

در این مطالعه‌ی تجربی مشاهده شد که EAE منجر به کاهش میزان BDNF نسبت به موش‌های سالم شده است. در راستای یافته‌های این مطالعه، مطالعات گذشته کاهش سطح بیان BDNF را در بافت مغز موش‌های مبتلا به EAE نشان داده‌اند (۱۷، ۱۴).

جداسازی بافت مغز: پس از ۴ هفته از القای بیماری و پایان تیمارها، حیوانات توسط ترکیب کتامین هیدروکلراید (۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت برگشت‌ناپذیر بیهوشی عمیق شدند. سپس، حیوانات کشته شدند و مغز آن‌ها از مجموعه خارج و در نیتروژن مایع منجمد و تحت شرایط -80°C درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری میزان BDNF و گیرنده‌ی TrkB نگهداری شدند.

سنجش عامل نورون‌زایی مشتق شده از مغز و گیرنده‌ی تیروزین

کیناز B عامل نورون‌زایی مشتق شده از مغز و گیرنده‌ی تیروزین کیناز B با استفاده از کیت Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (R&D, USA) و بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، برای جداسازی پروتئین، بافت مغز جدا شده در بافر لیز کننده (شامل ۱۳۷ میلی‌مول کلرید سدیم، ۲۰ میلی‌مول Hydrochloride یا Tris-HCl، گلیسرول ۱۰ درصد، ۱۰ میکروگرم/میلی‌لیتر آپروتینین، ۵ میکروگرم/میلی‌لیتر لوپیتین و ۰/۵ میلی‌مول وانادات سدیم) همگن شد و هیروکسید سدیم (NaOH) یک نرمال به همگی نمونه‌ها برای رسیدن به pH تا حد ۷/۵ اضافه گردید. سپس، نمونه‌ها برای ۳ دقیقه (با شتاب ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) سانتریفیوژ و محلول رویی جمع‌آوری شد. چاهک‌های ELISA به مدت یک شب با بافر پوشاننده‌ی کربنات انکوبه و آن گاه، به مدت یک ساعت با بافر بلوک کننده‌ی Tris-buffered saline (TBS)، بلوک و نمونه‌های استاندارد به دست آمده، در درجه‌ی حرارت اتاق در حالی که تکان می‌خورند، انکوبه شدند. منحنی استاندارد با استفاده از مقادیر شناخته شده از هر دو پروتئین رسم و غلظت BDNF و گیرنده‌ی TrkB توسط دستگاه ELISA با طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس، با توجه به غلظت پروتئین نمونه‌ها، مقادیر به صورت پیکوگرم در میلی‌لیتر پروتئین بیان گردید.

یافته‌ها

تأثیر ۴ هفته شنای هوازی بر میزان BDNF در بافت مغز موش‌های

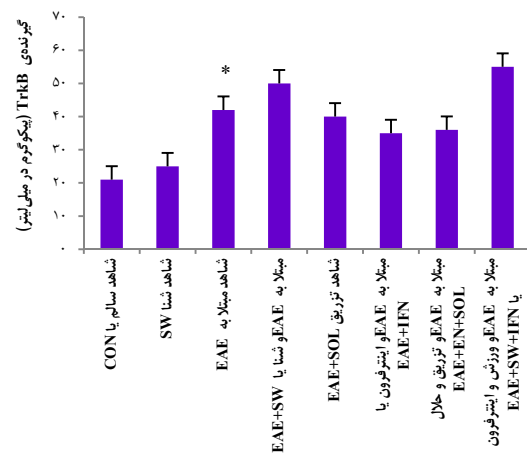
مدل EAE همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، آزمون ANOVA حاکی از آن است که EAE منجر به کاهش معنی‌دار میزان BDNF ($P < 0.01$) در مقایسه با گروه شاهد شد. این کاهش معنی‌دار در گروه EAE + حلال ($P < 0.05$) و گروه EAE + محیط شنا + حلال ($P < 0.05$) نیز در مقایسه با گروه شاهد دیده شد. تجزیه و تحلیل‌های بیشتر، نشان می‌دهد که ورزش به تنهایی، اینترفرون به تنهایی و یا همراه با ورزش در موش‌های مبتلا به EAE منجر به افزایش سطح BDNF در مقایسه با گروه EAE شده است؛ با این حال، این افزایش به صورت آماری معنی‌دار نبود. علاوه بر این،

موش‌های مبتلا به EAE شود، اما با این حال، این افزایش به صورت آماری معنی‌دار نبود. در موافقت با این یافته‌ها، افزایش سطح BDNF پس از انجام تمرین‌های ورزشی در مغز و نخاع حیوانات سالم و در مغز انسان، البته از طریق تکنیک Microarray مشاهده شده است (۲۶-۲۵). مطالعات انسانی و حیوانی، همچنین نشان داده‌اند که سطح پایین BDNF سرمی در بیماران مبتلا به MS پس از انجام چهار هفته ورزش هوازی، تغییر و با افزایش میزان این عامل همراه بوده است (۱۸).

این مطالعه، همچنین نمایان ساخته است که ۴ هفته شنای هوازی، توانست منجر به افزایش مقدار گیرنده‌ی TrkB در مغز موش‌های مبتلا به EAE شود. از طرف دیگر، مشاهده شد که ورزش به همراه اینترفرون بتا-۱ توانست منجر به افزایش میزان این گیرنده در موش‌های مبتلا به EAE شود. در حمایت از نتایج مطالعه‌ی حاضر، مطالعات انجام شده بر روی موش و رت‌های مبتلا به EAE افزایش بیان گیرنده‌ی TrkB را در نخاع نشان داده‌اند (۲۸-۲۷). در این تحقیق، تیمار اینترفرون بتا-۱ میزان این پروتئین را تغییر نداد و مطالعه‌ی مدونی در این رابطه در حیوانات مدل EAE جهت مقایسه وجود نداشت. در این زمینه، گزارشی مبنی بر افزایش گیرنده‌ی TrkB به دنبال انجام ورزش تردمیل در هیپوکامپ موش‌های صحرایی مشاهده شده است (۲۹). با این حال، مطالعه‌ی دیگری از عدم تغییر میزان این پروتئین در هیپوکامپ موش‌های صحرایی پس از اعمال ورزش شنا گزارش داده است (۳۰).

مطالعات گذشته، نشان داده‌اند که ورزش تردمیل و چرخ دوار به مدت ۶ هفته، منجر به افزایش معنی‌دار بیان TrkB در مغز موش‌های صحرایی می‌شود (۸). همچنین، گزارش شده است که افزایش بیان TrkB پس از ورزش، می‌تواند موجب تقویت طول آکسون و کاهش ناهنجاری‌های سیناپسی شود (۷-۶). علاوه بر آن، مطالعات و شواهد جدید نشان می‌دهند که روزانه یک کیلومتر راه رفتن روی تردمیل به مدت ۴ هفته، میزان گیرنده‌های TrkB بر روی سلول‌های الیگودندروسیت را به طور معنی‌داری در ماده‌ی خاکستری نخاع افزایش داده است؛ در حالی که این اثر بر روی سلول‌های عصبی کمتر مشاهده شده است (۳۱). در این رابطه مطالعه‌ی دیگری نشان داده است که فعالیت حرکتی کوتاه مدت، منجر به افزایش بیان پروتئین این گیرنده می‌شود (۳۲). جالب توجه است که بیان Messenger RNA (mRNA) گیرنده‌ی TrkB پس از انجام ورزش به مدت کوتاهی بالا می‌ماند (۳۳). در مجموع، در مطالعه‌ی حاضر، این امکان وجود داشت که ورزش با افزایش بیان گیرنده‌ی تیروزین کیناز B، منجر به ایجاد یک مکانیسم جبرانی برای کاهش بیان BDNF در موش‌های مبتلا به EAE شده است.

در نتیجه، این مطالعه نشان می‌دهد که EAE می‌تواند منجر به



شکل ۲. مقایسه‌ی میانگین غلظت (TrkB) Tyrosine receptor kinase B در گروه سالم شنا (SW یا Swim) با میانگین گروه‌های اتسفالومیلیت خود ایمن تجربی (Experimental autoimmune encephalomyelitis یا EAE)، شنا و EAE، EAE و دریافت حلال، EAE و دریافت اینترفرون بتا-۱، EAE که حلال دارو دریافت کردند و در محیط شنا قرار گرفتند و در نهایت، گروه EAE و دریافت اینترفرون بتا-۱ که در تمرین‌های شنا شرکت داشتند. تأثیر شنا و تیمار اینترفرون بتا-۱ بر روی میزان گیرنده‌ی تیروزین کیناز (TrkB) B در بافت مغز موش‌های مبتلا به EAE بررسی شد. میزان معنی‌داری: $P < 0.05$ *مقایسه شده با گروه شاهد (Control)

علاوه بر آن، نتایج متناقضی در سنجش میزان این عامل در مطالعات پزشکی در سرم خون افراد مبتلا به MS وجود دارد. برای نمونه، برخی مطالعات، کاهش تولید BDNF را نشان می‌دهند، در حالی که تعدادی از تحقیقات افزایش سطح بیان و تولید این عامل را گزارش کرده‌اند (۲۰-۱۸).

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داده است که تیمار اینترفرون بتا-۱ در موش‌های مبتلا به EAE منجر به تغییر معنی‌داری در میزان BDNF در بافت مغزی نشده است. در این چارچوب، محققان نشان داده‌اند که تیمار اینترفرون بتا-۱، منجر به افزایش بیان BDNF توسط سلول‌های سیستم دفاعی بدن می‌شود (۲). از سوی دیگر، تضاد بین یافته‌ها بر روی تغییر سطح بیان این عامل توسط اینترفرون بتا-۱ گزارش شده است که بیانگر عدم قطعیت در مورد نقش اینترفرون بتا-۱ در مطالعات می‌باشد. برای مثال، برخی از یافته‌های پزشکی نشان داده‌اند که تیمار اینترفرون بتا-۱ موجب افزایش میزان BDNF در محیط داخلی سلول‌های تک هسته‌ای خون در بیماران مبتلا به MS می‌شود (۲۲-۲۱). در حالی که تفاوتی در مقدار این عامل در سرم این بیماران یافت نشده است (۲۴-۲۳).

علاوه بر آن، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که چهار هفته شنای هوازی توانست به صورت محسوس منجر به افزایش سطح BDNF

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی دکتری فیزیولوژی ورزشی با کد ۴۰۱۴۷۰۰ می‌باشد که در دانشگاه خوارزمی به ثبت رسیده است. نویسندگان از مؤسسه‌ی اختلالات شناختی و رفتاری سالاری به خاطر همکاری صمیمانه و ارایه‌ی حیوانات مدل EAE و مسؤولین دانشکده‌ی پزشکی و بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اهواز سپاسگزاری می‌نمایند.

کاهش سطح BDNF و افزایش گیرنده‌ی TrkB در بافت مغز موش‌های مبتلا به EAE شود و ممکن است ورزش بتواند اثر کاهشی EAE بر روی BDNF را مهار و منجر به افزایش این عامل و همچنین، افزایش بیشتر گیرنده‌ی TrkB شود. احتمال دارد این افزایش بتواند موجب کاهش میلین‌زدایی در مغز شود که برای اثبات قطعی این یافته، مطالعات تکمیلی و بیشتری توصیه می‌شود.

References

1. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2008; 372(9648): 1502-17.
2. De SL, Annunziata P, Sessa E, Bramanti P. Brain-derived neurotrophic factor and TrkB receptor in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2009; 287(1-2): 17-26.
3. Sarchielli P, Greco L, Stipa A, Floridi A, Gallai V. Brain-derived neurotrophic factor in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2002; 132(1-2): 180-8.
4. Constantinescu CS, Farooqi N, O'Brien K, Gran B. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). *Br J Pharmacol* 2011; 164(4): 1079-106.
5. Ziemssen T, Kumpfel T, Klinkert WE, Neuhaus O, Hohlfeld R. Glatiramer acetate-specific T-helper 1- and 2-type cell lines produce BDNF: Implications for multiple sclerosis therapy. *Brain* 2002; 125(Pt 11): 2381-91.
6. Sabatier MJ, Redmon N, Schwartz G, English AW. Treadmill training promotes axon regeneration in injured peripheral nerves. *Exp Neurol* 2008; 211(2): 489-93.
7. Krakowiak J, Liu C, Papudesu C, Ward PJ, Wilhelm JC, English AW. Neuronal BDNF signaling is necessary for the effects of treadmill exercise on synaptic stripping of axotomized motoneurons. *Neural Plast* 2015; 2015: 392591.
8. Kim SE, Ko IG, Shin MS, Kim CJ, Jin BK, Hong HP, et al. Treadmill exercise and wheel exercise enhance expressions of neurotrophic factors in the hippocampus of lipopolysaccharide-injected rats. *Neurosci Lett* 2013; 538: 54-9.
9. Motl RW, Pilutti LA. The benefits of exercise training in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 2012; 8(9): 487-97.
10. Andreassen AK, Stenager E, Dalgas U. The effect of exercise therapy on fatigue in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2011; 17(9): 1041-54.
11. Coelho FG, Gobbi S, Andreatto CA, Corazza DI, Pedrosa RV, Santos-Galduroz RF. Physical exercise modulates peripheral levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF): A systematic review of experimental studies in the elderly. *Arch Gerontol Geriatr* 2013; 56(1): 10-5.
12. Knaepen K, Goekint M, Heyman EM, Meeusen R. Neuroplasticity - exercise-induced response of peripheral brain-derived neurotrophic factor: A systematic review of experimental studies in human subjects. *Sports Med* 2010; 40(9): 765-801.
13. Bansi J, Bloch W, Gamper U, Kesselring J. Training in MS: Influence of two different endurance training protocols (aquatic versus overland) on cytokine and neurotrophin concentrations during three week randomized controlled trial. *Mult Scler* 2013; 19(5): 613-21.
14. Aharoni R, Saada R, Eilam R, Hayardeny L, Sela M, Arnon R. Oral treatment with laquinimod augments regulatory T-cells and brain-derived neurotrophic factor expression and reduces injury in the CNS of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 2012; 251(1-2): 14-24.
15. Majidi-Zolbanin J, Doosti MH, Kosari-Nasab M, Salari AA. Prenatal maternal immune activation increases anxiety- and depressive-like behaviors in offspring with experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neuroscience* 2015; 294: 69-81.
16. Bernardes D, Brambilla R, Bracchi-Ricard V, Karmally S, Dellarole A, Carvalho-Tavares J, et al. Prior regular exercise improves clinical outcome and reduces demyelination and axonal injury in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurochem* 2016; 136(Suppl 1): 63-73.
17. Chen X, Hu X, Zou Y, Pi R, Liu M, Wang T, et al. Combined treatment with minocycline and prednisone attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis in C57 BL/6 mice. *J Neuroimmunol* 2009; 210(1-2): 22-9.
18. Castellano V, White LJ. Serum brain-derived neurotrophic factor response to aerobic exercise in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2008; 269(1-2): 85-91.
19. Frota ER, Rodrigues DH, Donadi EA, Brum DG, Maciel DR, Teixeira AL. Increased plasma levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) after multiple sclerosis relapse. *Neurosci Lett* 2009; 460(2): 130-2.
20. Liguori M, Fera F, Patitucci A, Manna I, Condino F, Valentino P, et al. A longitudinal observation of brain-derived neurotrophic factor mRNA levels in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Brain Res* 2009; 1256: 123-8.
21. Lalive PH, Kantengwa S, Benkhoucha M, Juillard C, Chofflon M. Interferon-beta induces brain-derived neurotrophic factor in peripheral blood mononuclear cells of multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 2008; 197(2): 147-51.
22. Azoulay D, Mausner-Fainberg K, Urshansky N, Fahoum F, Karni A. Interferon-beta therapy up-regulates BDNF secretion from PBMCs of MS

- patients through a CD40-dependent mechanism. *J Neuroimmunol* 2009; 211(1-2): 114-9.
23. Caggiula M, Batocchi AP, Frisullo G, Angelucci F, Patanella AK, Sanricca C, et al. Neurotrophic factors in relapsing remitting and secondary progressive multiple sclerosis patients during interferon beta therapy. *Clin Immunol* 2006; 118(1): 77-82.
 24. Sarchielli P, Zaffaroni M, Floridi A, Greco L, Candelieri A, Mattioni A, et al. Production of brain-derived neurotrophic factor by mononuclear cells of patients with multiple sclerosis treated with glatiramer acetate, interferon-beta 1a, and high doses of immunoglobulins. *Mult Scler* 2007; 13(3): 313-31.
 25. Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res* 1996; 726(1-2): 49-56.
 26. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: A behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci* 2002; 25(6): 295-301.
 27. Zhu W, Acosta C, MacNeil BJ, Klonisch T, Cortes C, Doupe M, et al. Spinal cord brain derived neurotrophic factor (BDNF) responsive cells in an experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) model of multiple sclerosis (MS): Implications in repair. *Res Immunol* 2014; 2014: 612604.
 28. Khan N, Gordon R, Woodruff TM, Smith MT. Antiallodynic effects of alpha lipoic acid in an optimized RR-EAE mouse model of MS-neuropathic pain are accompanied by attenuation of upregulated BDNF-TrkB-ERK signaling in the dorsal horn of the spinal cord. *Pharmacol Res Perspect* 2015; 3(3): e00137.
 29. Kim YM, Ji ES, Kim SH, Kim TW, Ko IG, Jin JJ, et al. Treadmill exercise improves short-term memory by enhancing hippocampal cell proliferation in quinolinic acid-induced Huntington's disease rats. *J Exerc Rehabil* 2015; 11(1): 5-11.
 30. Badowska-Szalewska E, Spodnik E, Klejbor I, Morys J. Effects of chronic forced swim stress on hippocampal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its receptor (TrkB) immunoreactive cells in juvenile and aged rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2010; 70(4): 370-81.
 31. Skup M, Dwornik A, Macias M, Sulejczak D, Wiater M, Czarkowska-Bauch J. Long-term locomotor training up-regulates TrkB(FL) receptor-like proteins, brain-derived neurotrophic factor, and neurotrophin 4 with different topographies of expression in oligodendroglia and neurons in the spinal cord. *Exp Neurol* 2002; 176(2): 289-307.
 32. Macias M, Dwornik A, Skup M, Czarkowska-Bauch J. Confocal visualization of the effect of short-term locomotor exercise on BDNF and TrkB distribution in the lumbar spinal cord of the rat: the enhancement of BDNF in dendrites? *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2005; 65(2): 177-82.
 33. Gomez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, Molteni R, Edgerton VR. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. *J Neurophysiol* 2002; 88(5): 2187-95.

The Effect of Four Weeks of Aerobic Swimming on the Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and Tyrosine Receptor Kinase B (TrkB) in the Brain of Animal Model of Experimental Autoimmune Encephalitis (EAE)

Mehdi Seyed-Alhosseini¹, Hamid Rajabi², Ata Allah Ghadiri³, Reza Gharakhanlou⁴, Alireza Sarkaki⁵

Original Article

Abstract

Background: Multiple sclerosis (MS) is known as a neuroimmunological disease in human being. The evidences show that brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its specific receptor, tyrosine receptor kinase B (TrkB) play a role in the development of multiple sclerosis. Previous studies demonstrated that various interventions affect the expression of these factors. This study aimed to investigate the effect of four weeks of aerobic swimming on the level of BDNF and TrkB in the brain of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) or animal model of multiple sclerosis.

Methods: A total number of 80 C57BL/6 mice, aging 10 to 12 weeks and weighing 20 ± 2 gram were divided into eight groups of 10, control, swimming (SW), EAE, EAE + SW, EAE + solvent (SOL), EAE + interferon-beta (IFN), EAE + environment (En) + SOL, and EAE + SW + IFN. On post-immunization day 9, animals received IFN (150 IU/g) or were subjected to swimming daily for 4 weeks (5 days/week). Brains were extracted and the levels of BDNF and TrkB were measured via enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The data were analyzed using one-way ANOVA.

Findings: EAE decreased BDNF and increased TrkB level in the brain of EAE-induced mice. Level of BDNF and TrkB increased in mice brain following swimming and IFN treatment; however these alterations were not significant.

Conclusion: These findings suggest that probably swimming is more effective than IFN to alter the level of BDNF and TrkB in the brain of EAE-induced mice.

Keywords: Experimental autoimmune encephalomyelitis, Brain-derived neurotrophic factor, Tyrosine receptor kinase B (TrkB) receptor, Swimming

Citation: Seyed-Alhosseini M, Rajabi H, Ghadiri AA, Gharakhanlou R, Sarkaki A. **The Effect of Four Weeks of Aerobic Swimming on the Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and Tyrosine Receptor Kinase B (TrkB) in the Brain of Animal Model of Experimental Autoimmune Encephalitis (EAE).** J Isfahan Med Sch 2017; 35(448): 1263-70.

1- PhD Student, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sports Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

2- Associate Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sports Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

3- Associate Professor, Cellular and Molecular Research Center, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

4- Professor, Department of Physical Education, School of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

5- Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Mehdi Seyed-Alhosseini, Email: smhosein2000@gmail.com

تفکیک بازه‌های زمانی بیداری از خواب مبتنی بر پردازش طیف مرتبه‌ی دوم سیگنال الکتروانسفالوگرام

احسان محمدی^۱، سعید کرمانی^۲، بابک امرا^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: تفکیک دقیق بازه‌های زمانی بیداری از خواب، باعث افزایش دقت طبقه‌بندی مراحل خواب و تعیین شاخص بازه خواب می‌گردد که از نظر تشخیصی از اهمیت بالایی برخوردار است. در این مقاله، سه ویژگی جدید از طیف مرتبه‌ی دوم سیگنال استخراج و از ترکیب آن‌ها با ویژگی خود همبستگی فاز جهت تفکیک خواب از بیداری استفاده گردید.

روش‌ها: از مقادیر طیف مرتبه‌ی دوم الکتروانسفالوگرام تصویر خاکستری ساخته شد و با آستانه‌گذاری Otsu به تصویر دو سطحی تبدیل گشت. سپس، از آن سه ویژگی تعداد بیت یک، نسبت تعداد بیت‌های یک بالای قطر فرعی به پایین آن و آنتروپی استخراج و با ترکیب این ویژگی‌ها با میانگین مقادیر خود همبستگی فاز، روش کارآمد و جدیدی برای تمایز خواب از بیداری پیشنهاد گردید.

یافته‌ها: میزان صحت، ویژگی و حساسیت برای نتایج محاسبه شد. با استفاده از ویژگی خود همبستگی فاز، بازه‌ی بیداری از خواب با دقت ۷۷/۵۳ درصد و ویژگی نسبت تعداد بیت یک در دو طرف قطر فرعی تصویر طیف مرتبه‌ی دوم با ۸۸/۱۲ درصد قابل تفکیک است. در نهایت، ترکیب این سه ویژگی با ویژگی خود همبستگی فاز، صحت تفکیک خواب از بیداری را به ۹۲/۴۲ و میزان حساسیت و ویژگی را به ۹۱/۸۲ و ۹۳/۱۰ رساند.

نتیجه‌گیری: ویژگی‌های پیشنهاد شده، کارایی لازم را برای استفاده در تعیین عمق خواب دارا بودند. روش ارائه شده جهت تمایز خواب از بیداری با ترکیب ویژگی‌های استخراج شده از تصویر طیف مرتبه‌ی دوم با خود همبستگی فاز، از روش‌های مشابه خود به جهت دقت بالاتر و پیچیدگی محاسباتی کمتر، کارا تر است.

واژگان کلیدی: مراحل خواب، الکتروانسفالوگرافی، تحلیل موجک، طبقه‌بندی

ارجاع: محمدی احسان، کرمانی سعید، امرا بابک. تفکیک بازه‌های زمانی بیداری از خواب مبتنی بر پردازش طیف مرتبه‌ی دوم سیگنال

الکتروانسفالوگرام. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۸): ۱۲۷۱-۱۲۷۱

مقدمه

تعیین عمق خواب به صورت دستی زمان‌بر است و احتمال انواع اشتباهات در آن زیاد است. برای تعیین اتوماتیک عمق خواب، ویژگی‌های گوناگونی نظیر پارامترهای مدل Autoregressive (AR)، ویژگی‌های طیفی، دو طیفی، زمان فرکانس، آنتروپی، تئوری آشوب و پیچیدگی از الکتروانسفالوگرام استخراج شده است (۴). برخی از روش‌ها نظیر پارامترهای مدل AR عملکرد ضعیفی دارند (۵) و محاسبه‌ی برخی نظیر نمایش‌های زمان فرکانس سخت و زمان‌گیر است. Sundaramoorthy و همکاران نشان داده‌اند که در صورت به کارگیری طیف‌های مرتبه‌ی بالا، می‌توان دقت تعیین عمق خواب را افزایش داد (۶). برای محاسبه‌ی طیف مرتبه‌ی دوم، راه‌های مختلفی وجود دارد که بسیاری از آن‌ها به علت وجود محاسبات پیچیده‌ی

انجام فرایند خواب کامل، نقش مهمی در سلامت انسان دارد (۱). بر اساس استاندارد Rechtschaffen and Kales (R & K) خواب به دو مرحله‌ی خواب با حرکات سریع چشم (خواب متناقض) و خواب بدون حرکات سریع چشم (خواب آرام) تقسیم می‌شود (۲). برای محاسبه‌ی میزان بیدار شدن‌های پیاپی هنگام خواب، برخی معیارهای رایج خواب‌نگاری نظیر زمان نهدگی خواب، سحرخیزی و همچنین برای به دست آوردن شاخص بازه خواب (طول زمان خواب تقسیم بر زمانی که شخص در تخت خواب خود قرار دارد)، لازم است تا بتوان بازه‌های زمانی حالت بیداری را از بازه‌های زمانی حالت خواب هنگامی که شخص در بستر است، تفکیک کرد (۳).

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوالکترونیک و مهندسی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه بیوالکترونیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- فوق تخصص بیماری‌های تنفسی و خواب، مرکز تحقیقات تنفسی بامداد و استاد، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: kermani@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤو: سعید کرمانی

موجک معرفی شد.

طیف مرتبه‌ی دوم بر اساس تبدیل موجک مطابق با رابطه‌ی ۱ تعریف می‌شود (۱۳):

$$B_W(s_1, s_2, t) = W_x(s_1, t) W_x(s_2, t) W_x\left(\frac{1}{s_1 + s_2}, t\right) \quad (1)$$

که $W_x(s, t)$ تبدیل موجک سیگنال x ، s_1 و s_2 میزان Scale، t زمان و B_W طیف مرتبه‌ی دوم مبتنی بر موجک را نشان می‌دهد. در این پژوهش، از ویولت گوسی مختلط استفاده گردید. میزان فاز دو طیفی لحظه‌ای، از فرمول زیر به دست می‌آید:

$$\varphi(s_1, s_2, t) = \alpha B_W(s_1, s_2, t) \quad (2)$$

میزان PAC از دو کانال x و y به این شکل به دست می‌آید (۸):

$$BiPhcor_{xy}(t) = \frac{\sum_{f_2} \sum_{f_1} \varphi_x(t, f_1, f_2) \varphi_y(t, f_1, f_2)}{\sqrt{\sum_{f_2} \sum_{f_1} \varphi_x(t, f_1, f_2) \varphi_x(t, f_1, f_2)} \cdot \sqrt{\sum_{f_2} \sum_{f_1} \varphi_y(t, f_1, f_2) \varphi_y(t, f_1, f_2)}} \quad (3)$$

می‌توان در فرمول (۳) به جای مقادیر f_1 و f_2 که فرکانس را نشان می‌دهند، از s_1 و s_2 که نشان دهنده‌ی مقیاس هستند، استفاده کرد. بدین ترتیب، دو تکه‌ی ۳۰ ثانیه‌ای وارد این الگوریتم می‌شود و یک سیگنال هم‌طول با آن دو، به نام PAC به دست می‌آید که از میانگین مقادیر آن، به عنوان یک ویژگی برای تفکیک خواب و بیداری استفاده گردید. برای استخراج ویژگی PAC از دو کانال Fpz-Cz و Pz-Oz استفاده شد.

از جمله بهترین طبقه‌بندی‌کننده‌ها در تعیین عمق خواب، می‌توان به طبقه‌بندی‌کننده‌ی Random forest (RF) اشاره کرد (۴). این طبقه‌بند، در زمان آموزش تعداد زیادی درخت تصمیم‌گیری ایجاد می‌کند (۱۴). در این پژوهش، تعداد درخت‌ها ۱۰۰ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این پژوهش، برای کار طبقه‌بندی، از هر تکه الکتروانسفالوگرام، ۴ ویژگی پیش‌گفته استخراج گردید. برای ارزیابی از روش اعتبارسنجی چند لایه‌ای K (fold) K با $K = 20$ استفاده شد. نسبت بین تعداد تکه‌های الکتروانسفالوگرام که درست برچسب‌گذاری شوند، به کل تکه‌های اعمال شده به طبقه‌بند، صحت را تعیین خواهد کرد. بازه‌ی زمانی بیداری را حالت مثبت و بازه‌ی خواب را منفی در نظر می‌گیریم. مطابق مرسوم بر همین اساس، حساسیت و ویژگی محاسبه شد. در شکل ۱، تغییرات میانگین ویژگی PAC برای دو حالت بیدار و خواب مشاهده می‌شود.

ماتریسی مثل ضرب ماتریس‌ها و یا وارون کردن ماتریس‌ها برای پیاده‌سازی با دشواری‌هایی روبه‌رو هستند (۵). محاسبه‌ی طیف مرتبه‌ی دوم به جز خواب در زمینه‌های مختلف دیگری نظیر محاسبه‌ی عمق بیهوشی، رادار، سونار و غیره کاربرد بسیاری دارد (۷). در این پژوهش، ویژگی‌های جدیدی از طیف مرتبه‌ی دوم استخراج خواهد شد که در عین ساده بودن محاسبه، بتوان از آن در تعیین عمق خواب استفاده کرد. به علاوه، از ویژگی دیگری به نام خود همبستگی فاز (Phase autocorrelation یا PAC) که روش جدیدی در بررسی فاز طیف مرتبه‌ی دوم سیگنال غیر ایستا می‌باشد (۸)، برای نخستین بار در تعیین وضعیت خواب استفاده گردید.

روش‌ها

مجموعه‌ی داده‌ها: مجموعه‌ی دادگان استفاده شده در این پژوهش، از ۸ نفر قفقازی با سن ۲۱-۳۵ سال که هیچ دارویی مصرف نکرده بودند، ثبت شد و شامل دو کانال الکتروانسفالوگرام با فرکانس نمونه‌برداری ۱۰۰ هرتز (کانال FPz-Cz و کانال Pz-Oz) و برچسب‌گذاری طبق استاندارد R & K برای هر تکه (Epoch) ۳۰ ثانیه‌ای از داده بود (۹). پس از حذف بخش‌های دارای برچسب درست‌نمایی حرکت چشم، ۱۵۱۷۴ تکه شامل ۸۰۴۱ تکه برای حالت بیداری و ۷۱۳۳ تکه برای خواب باقی ماند. تعداد تکه‌های مربوط به خواب بدون حرکات سریع چشم و تکه‌های مربوط به خواب متناقض به ترتیب برابر ۵۵۲۴ و ۱۶۰۹ بود.

استخراج ویژگی: بر اساس داده‌های جمع‌آوری شده، سیگنال الکتروانسفالوگرام به تکه‌های ۳۰۰۰ نمونه بخش‌بندی شد و طیف مرتبه‌ی دوم از روی تبدیل فوریه‌ی نمونه‌ها به دست آمد (۱۰). از روی دامنه‌ی طیف مرتبه‌ی دوم و نگاشت هشت بیتی آن‌ها، تصویر خاکستری ایجاد گردید. با توجه به بیشینه‌ی فرکانسی ۲۰ هرتز، ابعاد این ماتریس به ۶۰۰ در ۶۰۰ کاهش یافت. سپس، با استفاده از آستانه‌گذاری Otsu، تصویر خاکستری به تصویر دو سطحی (صفر و یک) تبدیل شد (۱۱) و از روی آن، سه ویژگی شامل تعداد پیکسل‌های با مقدار یک، نسبت تعداد پیکسل‌های با مقدار یک در بالای قطر فرعی به پایین آن و آنتروپی تصویر استخراج گردید. در این مطالعه، از آنتروپی تصویر طیف مرتبه‌ی دوم مطابق با مطالعه‌ی قبلی این محققان (۱۲) استفاده شد. جهت استخراج ویژگی از کانال Pz-Oz استفاده گردید.

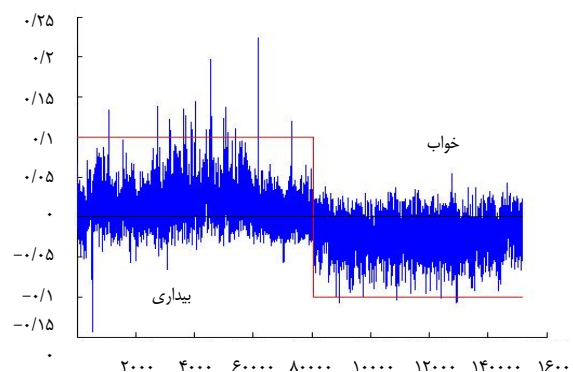
خود همبستگی فاز (Phase Autocorrelation) مبتنی بر

موجک: در این پژوهش، برای اولین بار برای تفکیک خواب و بیداری از ویژگی PAC (۸) استفاده گردید. برای تحلیل طیف مرتبه‌ی دوم، سیگنال‌های غیر ایستا و دو طیفی بر اساس تبدیل

مرتب‌بندی دوم سیگنال و قابل استفاده در بحث طبقه‌بندی عمق خواب، با روش جدیدی از طیف مرتبه‌ی دوم سیگنال استخراج ویژگی انجام شد. در روش پیشنهادی، سه ویژگی جدید از تصویر طیف مرتبه‌ی دوم استخراج و با ترکیب آن‌ها با میانگین مقادیر PAC، روش جدیدی برای تفکیک بیداری از خواب به وجود آمد. نسبت تعداد بیت با مقدار یک در دو طرف قطر فرعی در تصویر طیف مرتبه‌ی دوم، بهترین ویژگی برای تفکیک خواب از بیداری بر روی این مجموعه‌ی داده بود.

نتایج نشان می‌دهد که PAC و آنتروپی تصویر طیف مرتبه‌ی دوم نیز به خوبی قادر هستند حالت بیداری را از خواب تفکیک کنند. بدین ترتیب، با ترکیب این ویژگی‌ها با هم، روش جدیدی برای تفکیک حالت بیداری از خواب به وجود آمد که از روش‌های مشابه خود به جهت صحت و کارایی بیشتر، برتر است. بر این اساس، می‌توان با تقریب مناسبی گفت که میانگین ویژگی PAC در حالت بیداری مقداری مثبت و در حالت خواب مقداری منفی دارد. به نظر می‌رسد PAC توانایی زیادی در آشکارسازی مراحل خواب داشته باشد. نکته‌ی دیگر، تعداد کم ویژگی لازم جهت تفکیک خواب از بیداری است که با کاهش پیچیدگی طبقه‌بندی، احتمال مطابقت بیش از حد طبقه‌بندی کننده با داده‌های آموزشی را کاهش می‌دهد.

مقایسه با پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد که روش پیشنهادی قادر است نسبت به روش‌های موجود در کارهای قبلی محققین، منجر به صحت بیشتری در تفکیک خواب از بیداری شود. دو مورد از مطالعات قبلی با کار بر روی طیف توان (۱۷، ۱۵) و دیگری با استفاده از نمایش زمان فرکانس (۱۷) به تعیین عمق خواب پرداخته‌اند. نتایج، مؤید عملکرد بهتر ویژگی‌های پیشنهادی است. در نهایت، با استخراج سه ویژگی ناشی از تصویر طیف مرتبه‌ی دوم و استخراج میانگین مقادیر ویژگی PAC، روش جدیدی برای تفکیک حالت بیداری از خواب به وجود آمد که طبق جدول ۲، از لحاظ کارایی از روش‌های مشابه خود برتر است و بدین ترتیب، کارایی ویژگی‌های معرفی شده در تحلیل طیف مرتبه‌ی دوم تأیید می‌شود.



شکل ۱. تغییرات میانگین ویژگی (PAC) Phase autocorrelation

برای دو حالت بیدار و خواب

نتایج به دست آمده برای طبقه‌بندی خواب و بیداری بر روی دادگان پیش گفته، با استفاده از ۴ ویژگی پیشنهاد شده و به تفکیک هر کدام از آن‌ها به منظور تعیین بازه‌های بیدار از خواب، در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. ارزیابی عملکرد چهار ویژگی پیشنهادی جهت تفکیک بازه‌های بیداری از خواب

| شماره‌ی ویژگی‌های استفاده شده برای طبقه‌بندی | ۴-۱ | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|
| ویژگی | ۹۳/۱۰ | ۷۷/۱۸ | ۸۸/۸۱ | ۸۹/۴۹ | ۷۴/۴۱ |
| حساسیت | ۹۱/۸۲ | ۶۶/۵۷ | ۸۷/۵۱ | ۸۶/۲۰ | ۸۰/۳۰ |
| صحت | ۹۲/۴۲ | ۷۱/۵۶ | ۸۸/۱۲ | ۸۷/۷۴ | ۷۷/۵۳ |

در جدول ۲، نتایج به دست آمده، با برخی از کارهای قبلی که نتایج خوبی داشته‌اند و همگی بر روی همین مجموعه‌ی دادگان مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند، مقایسه شده است.

بحث

در این پژوهش، با معرفی چند ویژگی جدید استخراج شده از طیف

جدول ۲. مقایسه‌ی روش‌های این مطالعه با برخی از مطالعات قبلی بر روی مجموعه‌ی دادگان این پژوهش

| نام نویسنده (گان) | روش | دقت در تشخیص بیداری از بقیه‌ی مراحل خواب |
|---------------------------|--|--|
| Hsu و همکاران (۱۵) | ویژگی‌های مبتنی بر طیف توان و انرژی و استفاده از شبکه‌ی عصبی | ۷۰/۸۰ |
| Doroshenko و همکاران (۱۶) | تحلیل طیف توان و استفاده از k-means | ۵۱/۰۴ |
| Pachori و Bajaj (۱۷) | استخراج ۱۵ ویژگی از نمایش زمان فرکانس ویگنر ویل و طبقه‌بندی کننده‌ی SVM | ۸۸/۰۰ |
| پژوهش حاضر | ترکیب سه ویژگی استخراج شده از تصویر طیف مرتبه‌ی دوم با PAC و استفاده از RF | ۹۲/۴۲ |

SVM: Support vector machine; PAC: Phase autocorrelation; RF: Random forest

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۳۹۵۹۶۸ مصوب معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. نویسندگان از این معاونت جهت تأمین بودجه‌ی طرح تشکر و قدردانی می‌کنند.

در کارهای بعدی، می‌توان به جای میانگین‌گیری از PAC به شیوه‌های دیگر استخراج ویژگی انجام داد. همچنین، می‌توان سایر مراحل خواب آرام و متناقض را از هم تفکیک نمود. به علاوه، در تمام مواردی که از طیف مرتبه‌ی دوم سیگنال استفاده می‌شود و به ویژه در مورد بیهوشی، می‌توان الگوریتم پیشنهادی این مقاله را استفاده کرد.

References

1. Touchette E, Petit D, Seguin JR, Boivin M, Tremblay RE, Montplaisir JY. Associations between sleep duration patterns and behavioral/cognitive functioning at school entry. *Sleep* 2007; 30(9): 1213-9.
2. Rechtschaffen A, Kales A. A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Bethesda, MD: National Institute of Neurological Diseases and Blindness, Neurological Information Network; 1968.
3. Sadock BJ, Sadock VA. Kaplan and Sadock's synopsis of psychiatry: Behavioral sciences/clinical psychiatry. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2011.
4. Sen B, Peker M, Cavusoglu A, Celebi FV. A comparative study on classification of sleep stage based on EEG signals using feature selection and classification algorithms. *J Med Syst* 2014; 38(3): 18.
5. Venkatakrisnan P, Sangeetha S, Sukanesh R. Bispectral analysis of human electroencephalogram (EEG) signals during various sleep stages. *Proceedings of the New Trends in Audio and Video/Signal Processing Algorithms, Architectures, Arrangements, and Applications*; 2008 Sep 25-27; Poznan, Poland.
6. Sundaramoorthy G, Raghuvver MR, Dianat SA. Bispectral reconstruction of signals in noise: amplitude reconstruction issues. *IEEE Trans Acoust* 1990; 38(7): 1297-306.
7. Nikias CL, Raghuvver MR. Bispectrum estimation: A digital signal processing framework. *Proc IEEE* 1987; 75(7): 869-91.
8. Shabaniyan-Boroujeni T. Electroencephalogram analysis for diagnosis of mild cognitive [MSc Thesis]. Isfahan, Iran: School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences; 2016. [In Persian].
9. Goldberger AL, Amaral LAN, Glass L, Hausdorff JM, Ivanov PC, Mark RG, et al. PhysioBank, PhysioToolkit, and PhysioNet. *Circulation* 2000; 101(23): e215.
10. Chua KC, Chandran V, Acharya UR, Lim CM. Application of higher order statistics/spectra in biomedical signals--a review. *Med Eng Phys* 2010; 32(7): 679-89.
11. Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Trans Syst Man Cybern Syst* 1979; 9(1): 62-6.
12. Shabaniyan-Boroujeni T, Kermani S, Barekatin M, Kashefpoor M. Proposing an approach for diagnosis of mild cognitive impairment based on approximate entropy. *J Isfahan Med Sch* 2017; 34(407): 1356-61. [In Persian].
13. van Milligen BP, Sanchez E, Estrada T, Hidalgo C, Branas B, Carreras B, et al. Wavelet bicoherence: A new turbulence analysis tool. *Physics of Plasmas* 1995; 2(8): 3017-32.
14. Ho TK. Random decision forests. *Proceedings of the 3rd International Conference on Document Analysis and Recognition*; 1995 Aug 14-16; Montreal, Canada.
15. Hsu YL, Yang YT, Wang JS, Hsu CY. Automatic sleep stage recurrent neural classifier using energy features of EEG signals. *Neurocomputing* 2013; 104: 105-14.
16. Bajaj V, Pachori RB. Automatic classification of sleep stages based on the time-frequency image of EEG signals. *Comput Methods Programs Biomed* 2013; 112(3): 320-8.
17. Doroshenkov LG, Konyshev VA, Selishchev SV. Classification of human sleep stages based on EEG processing using hidden Markov models. *Biomed Eng* 2007; 41(1): 25-8.

Automatic Separation of Awakening from Sleep Epochs based on Bispectrum Analysis of Electroencephalogram Signals

Ehsan Mohammadi¹, Saeed Kermani², Babak Amra³

Original Article

Abstract

Background: Accurate separation of awakening from sleep increases the accuracy of detecting sleep stages and determining sleep efficiency index that is important for medical diagnosis. In this study, 3 new bispectrum-based features were extracted, and combination of them with Bi-Phase correlation was used to detect awakening from sleep.

Methods: A gray scale image was made of electroencephalogram bispectrum amounts and converted to binary image with Otsu's thresholding. Then, 3 features were extracted from it: total numbers of one bits, ratio of one bit in the above of the secondary diagonal to the down of it, and entropy. By combining these features with the average Bi-Phase correlation, an efficient and new way to distinguish the awakening of sleep was proposed.

Findings: The accuracy, specificity, and sensitivity were calculated. Awakening intervals could be distinguished from sleep using Bi-Phase correlation feature by the accuracy of 77.53%, and using ratio of one bit in the above of the secondary diagonal to the down of it, by the accuracy of 88.12%. Finally, combining 3 mentioned features with Bi-Phase correlation gave the ability to separate awakening from sleeping with the accuracy of 92.42%, sensitivity of 91.82%, and specificity of 93.10%.

Conclusion: New features have this capability to use in sleep staging. The proposed method in awakening and sleep discrimination, by combining bispectrum image-based features with Bi-Phase correlation, is better than other existing approaches because of high accuracy and low calculation complexity.

Keywords: Sleep stages, Electroencephalography, Wavelet analysis, Classification

Citation: Mohammadi E, Kermani S, Amra B. **Automatic Separation of Awakening from Sleep Epochs based on Bispectrum Analysis of Electroencephalogram Signals.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(448): 1271-5.

1- MSc Student, Department of Bioelectrics and Biomedical Engineering AND Student Research Committee, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Bioelectrics and Biomedical Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Pulmonologist and Somnologist, Bamdad Respiratory Research Center AND Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Saeed Kermani, Email: kermani@med.mui.ac.ir

بخش‌بندی سلول‌های مؤثر در سرطان میلوم متعدد با استفاده از مدل‌های تغییر شکل‌پذیر و خوشه‌بندی K-means

حدیث گل‌محمدی^۱، علیرضا ورد^۲، اردشیر طالبی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: میلوم متعدد (Multiple Myeloma)، دومین سرطان خونی شایع است. این بیماری، به علت سرطانی شدن دسته‌ای از سلول‌ها به نام پلاسماسل‌ها (Plasma cells) ایجاد می‌شود. شناسایی و شمارش پلاسماسل‌ها، اطلاعات ارزشمندی را به منظور تشخیص این بیماری برای پاتولوژیست‌ها فراهم می‌کند. فرایند شمارش و بررسی دستی پلاسماسل‌ها، زمان‌بر و با توجه به طبیعت خسته‌کننده‌ی آن، در معرض خطا می‌باشد. به همین دلیل، وجود ابزاری کامپیوتری در کنار پاتولوژیست به منظور کمک در بخش‌بندی و استخراج سلول‌ها، می‌تواند بسیار مفید باشد. از این رو، پژوهش حاضر با هدف ارایه‌ی یک ابزار کامپیوتری برای بخش‌بندی سلول‌های مؤثر در بیماری میلوم متعدد از روی تصاویر میکروسکوپی انجام شد.

روش‌ها: در روش پیشنهادی، پس از بهبود کیفیت تصاویر با استفاده از تطبیق هیستوگرام و فیلتر میانه، سلول‌ها با استفاده از مدل تغییر شکل‌پذیر Chan-Vese استخراج شدند. همچنین، برای بخش‌بندی سلول‌های به هم چسبیده، الگوریتم آب‌پخشان اصلاح شده، استفاده گردید. سپس، هسته‌ها با به کارگیری روش خوشه‌بندی K-means استخراج شدند.

یافته‌ها: روش پیشنهادی بر روی ۳۰ تصویر میکروسکوپی، شامل ۳۷۰ سلول مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج محاسبه شده از روش پیشنهادی، نشان داد که معیار ارزیابی، حساسیت، دقت، صحت و Dice Similarity Coefficient (DSC) به ترتیب ۰/۹۱، ۰/۹۲، ۰/۹۶، ۰/۹۸ و ۰/۹۵ درصد برای بخش‌بندی سلول و ۰/۹۱، ۰/۹۲، ۰/۹۶، ۰/۹۸ و ۰/۹۵ درصد برای بخش‌بندی هسته بودند.

نتیجه‌گیری: در این پژوهش، روش جدیدی جهت بخش‌بندی و استخراج سلول‌های مؤثر در تشخیص سرطان میلوم متعدد از تصاویر میکروسکوپی با استفاده از مدل‌های تغییر شکل‌پذیر و روش خوشه‌بندی ارایه شد. نتایج ارزیابی نشان می‌دهد که الگوریتم پیشنهادی، عملکرد بخش‌بندی را در مقایسه با روش‌های قبلی بهبود داده است.

واژگان کلیدی: میلوم متعدد، پلاسماسل، پردازش تصویر

ارجاع: گل‌محمدی حدیث، ورد علیرضا، طالبی اردشیر. بخش‌بندی سلول‌های مؤثر در سرطان میلوم متعدد با استفاده از مدل‌های تغییر شکل‌پذیر و

خوشه‌بندی K-means. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۸): ۱۲۷۶-۱۲۸۲

مقدمه

میلوم متعدد (Multiple myeloma)، دومین سرطان خونی شایع است که منشأ آن از سلول‌های خونی شروع می‌گردد. این بیماری، به علت سرطانی شدن دسته‌ای از سلول‌ها به نام پلاسماسل‌ها (Plasma cells) ایجاد می‌شود. پلاسماسل‌ها، از نوعی گلبول سفید خون به نام لئوسیت B ساخته می‌شوند که وظیفه‌ی آن‌ها ترشح آنتی‌بادی است. بر اثر سرطانی شدن این سلول‌ها، مقادیر زیادی آنتی‌بادی غیر طبیعی در بدن تولید می‌شود (۱-۲).

روش سنتی برای تشخیص سرطان خون، نیازمند مشاهده‌ی با دقت خون محیطی و نمونه‌های مغز استخوان زیر میکروسکوپ است که فرایندی زمان‌بر است و به مهارت و تجربه‌ی فرد متخصص وابسته است. اگر چه تکنیک‌های پیچیده‌تری مانند آنالیز سطح آنتی‌ژن توسط فلوسایتومتری نیز وجود دارد که نتایج دقیق‌تری را تولید می‌کند، اما این تکنیک‌ها، به شدت هزینه‌ی تشخیص را افزایش می‌دهند. در مقابل، روش‌های کامپیوتری مبتنی بر پردازش تصاویر میکروسکوپی که یک چارچوب خودکار را فراهم می‌کنند، می‌توانند با غلبه بر این

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوالکترونیک و مهندسی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه بیوالکترونیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: vard@amt.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤو: علیرضا ورد

و منجر به تشخیص نادرست پلاسماسل‌ها از سایر سلول‌ها می‌گردد (۹). پژوهش حاضر، با هدف بخش‌بندی دقیق‌تر سلول‌های مؤثر در سرطان میلوم متعدد در تصاویر میکروسکوپی اسپیراسیون مغز استخوان با استفاده از تکنیک‌های نوین پردازش تصویر انجام شد.

در این تحقیق، به منظور بخش‌بندی دقیق‌تر سلول‌های مؤثر در سرطان میلوم متعدد در تصاویر میکروسکوپی اسپیراسیون مغز استخوان، روش جدیدی مبتنی بر به کارگیری روش‌های مختلف پردازش تصویر ارائه شد. در روش پیشنهادی، ابتدا با استفاده از تکنیک‌های بهبود تصویر، کنتراست تصاویر افزایش و خش (Noise) های آن کاهش داده می‌شود. سپس، الگوریتم پیشنهادی مبتنی بر روش‌های تغییر شکل‌پذیر، الگوریتم آب‌پخشان و خوشه‌بندی k-means برای بخش‌بندی و استخراج سلول‌ها و هسته‌ها به کار گرفته می‌شود. روش پیشنهادی بر روی ۳۰ تصویر میکروسکوپی اعمال شد و برای بررسی عملکرد آن، سلول‌های بخش‌بندی شده توسط الگوریتم پیشنهادی با سلول‌هایی که توسط پزشک متخصص بخش‌بندی دستی شده بودند، مقایسه گردید؛ نتایج به دست آمده، کارایی بالای روش پیشنهادی را نشان می‌دهد.

روش‌ها

در این پژوهش، از اسمیرهای به دست آمده از افراد سالم و افراد مبتلا به بیماری میلوم متعدد، توسط دوربین دیجیتال Nikon V1 که بر روی میکروسکوپ نوری Nikon Eclipse 50i با بزرگ‌نمایی (Magnification) نهایی ۱۰۰۰ نصب شده بود، ۳۰ تصویر رنگی با وضوح 2593×3872 پیکسل و با فرمت JPG ذخیره و سپس، برای پردازش به کامپیوتر منتقل شد (۹). آن گاه، یک الگوریتم پردازش تصویر سه مرحله‌ای (شکل ۱) برای بخش‌بندی و استخراج سلول‌های مؤثر در سرطان میلوم متعدد پیشنهاد گردید که در ادامه ی این بخش توضیح داده می‌شوند.

مشکلات، به عنوان یک ابزار کمک تشخیصی برای متخصصین بسیار سودمند باشند. یک سیستم پردازش تصویر میکروسکوپی، به طور معمول از قسمت‌های مختلفی مانند اخذ تصویر، پیش‌پردازش، بخش‌بندی، استخراج ویژگی و طبقه‌بندی تشکیل می‌شود.

بخش‌بندی، یکی از اساسی‌ترین قسمت‌ها در یک سیستم پردازش تصویر است که عملکرد کل سیستم تا حد زیادی به الگوریتم‌ها و روش‌های این قسمت بستگی دارد. در این راستا، آرایه‌ی یک روش مناسب برای بخش‌بندی تصاویر میکروسکوپی گرفته شده از مغز استخوان که بتواند به فرایند تشخیص خودکار سلول‌های سرطانی کمک کند، بسیار سودمند خواهد بود. همچنین، بعد از این مرحله، مکان آن وجود دارد که از سلول‌های بخش‌بندی شده، ویژگی‌هایی استخراج و سلول‌های سرطانی از سالم تمایز داده شوند. بنابراین، وجود یک الگوریتم بخش‌بندی برای انجام دقیق تصمیم‌گیری بسیار مهم و ضروری است.

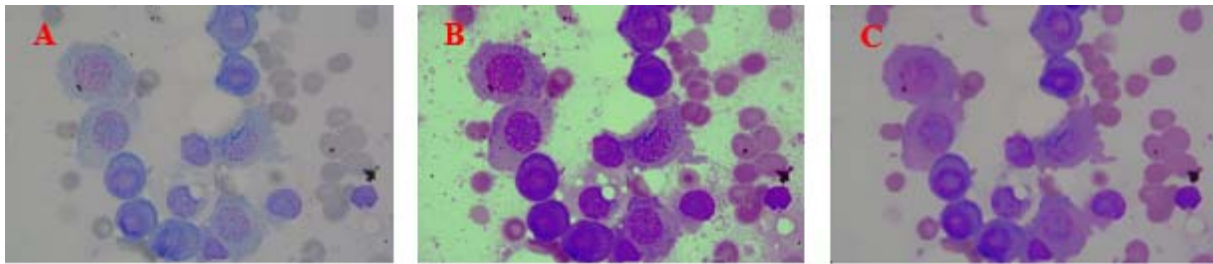
در چند سال اخیر، پژوهش‌هایی در زمینه‌ی بخش‌بندی کلی گلبول‌های سفید خون به روش‌های مختلف انجام گرفته است (۳-۵). قانع و همکاران، گلبول‌های سفید خون در تصاویر مربوط به بیماران سالم را با استفاده از روش‌های k-means و آب‌پخشان کنترل شده با نشانگر بخش‌بندی نمودند (۶). Li و همکاران، برای بخش‌بندی گلبول‌های سفید در تصاویر مربوط به سرطان لوسمی حاد لنفوتییدی (Acute lymphocytic leukemia یا ALL) از دو مرحله‌ی آستانه‌گذاری استفاده کردند (۷). صراف‌زاده و دهنوی، برای بخش‌بندی هسته و سیتوپلاسم گلبول‌های سفید خون، از روش خوشه‌بندی k-means و رشد ناحیه (Region growing) استفاده نمودند (۸).

به طور خاص، در زمینه‌ی بخش‌بندی سلول‌های مؤثر در میلوم متعدد، تنها مطالعه‌ی سعیدی‌زاده و همکاران یافت شد که برای بخش‌بندی و استخراج رده‌ی پلاسماسل در تصاویر مربوط به سرطان میلوم متعدد، از روش خوشه‌بندی k-means و آب‌پخشان کنترل شده با نشانگر استفاده نمودند که در برخی تصاویر، بخش‌بندی به طور نادرست انجام می‌گرفت



شکل ۱. الگوریتم پیشنهادی برای استخراج هسته و سلول‌های مؤثر در سرطان میلوم متعدد

RGB: Red-Green-Blue



شکل ۲. نتایج پیش‌پردازش: (A): تصویر اصلی، (B): بعد از تطبیق هیستوگرام، (C): بعد از اعمال فیلتر میانه و بهبود کنتراست

تصویر I_E به دست می‌آید (۱۳، ۱۰). تابع انرژی مدل Chan-Vese، مطابق با معادله ۲ تعریف می‌شود که در آن، $Length(C)$ طول مرز، $I(x,y)$ تصویر مورد نظر، C مرز کانتور، $C1$ میانگین پیکسل‌های درون کانتور و $C2$ میانگین پیکسل‌های خارج کانتور می‌باشند و ضرایب ثابتی هستند که باید توسط کاربر تعیین شوند. مقادیر مناسب برای این پارامترها در این مطالعه، به صورت در نظر گرفته شدند. در نهایت، تابع انرژی با به کارگیری روش‌های $Level\ set$ و گرادین کاهنده، کمینه می‌شود و مرزهای سلول‌ها استخراج می‌شوند (۱۳).

(۲)

$$E^{CV} = \mu \cdot Length(C) + \lambda_1 \int_{inside(C)} |I(x,y) - c_1|^2 dx dy + \lambda_2 \int_{outside(C)} |I(x,y) - c_2|^2 dx dy$$

با اعمال کانتور فعال مدل Chan-Vese بر روی تصویر I_E و عملگرهای ریخت‌شناسی برای حذف اشیاء با مساحت کمتر از ۱۰۰ پیکسل، ماسک سلول با دقت بیشتری به دست آمد. در انتها، برای جداسازی سلول‌های به هم چسبیده، از الگوریتم آب‌پخشان کنترل شده با نشانگر استفاده گردید (۱۴، ۶). نتایج حاصل از بخش‌بندی سلول‌ها در شکل ۳ آمده است.

بخش‌بندی هسته‌ها: یکی از ویژگی‌های مهم در تشخیص

پلاسماسل‌ها از سایر سلول‌ها، ویژگی نسبت هسته به سیتوپلاسم می‌باشد. بدین منظور، برای بخش‌بندی و استخراج هسته‌های سلول‌ها، ابتدا ماسک سلول در تصویر اصلی رنگی ضرب شد. در ادامه، تصویر از فضای رنگ RGB به فضای رنگ L^*a^*b انتقال داده شد. سپس، روش بخش‌بندی k-means با سه کلاس بر روی دو زیر باند a و b اعمال گردید (۹-۸). با توجه به رنگ هسته‌های تصویر که آبی تیره‌ی مایل به بنفش هستند، کلاسی که کمترین میانگین در زیر باند سبز را داشت، متعلق به هسته‌ها بود. در گام بعدی، به منظور کاهش نویز نقطه‌ای و یکنواخت نمودن ماسک هسته، روی تصویر هسته، عملگرهای ریخت‌شناسی باز کردن (Opening) و بسته کردن (Closing) با یک فیلتر دیسکی شکل به قطرهای ۴ و ۶ پیکسل اعمال گردید.

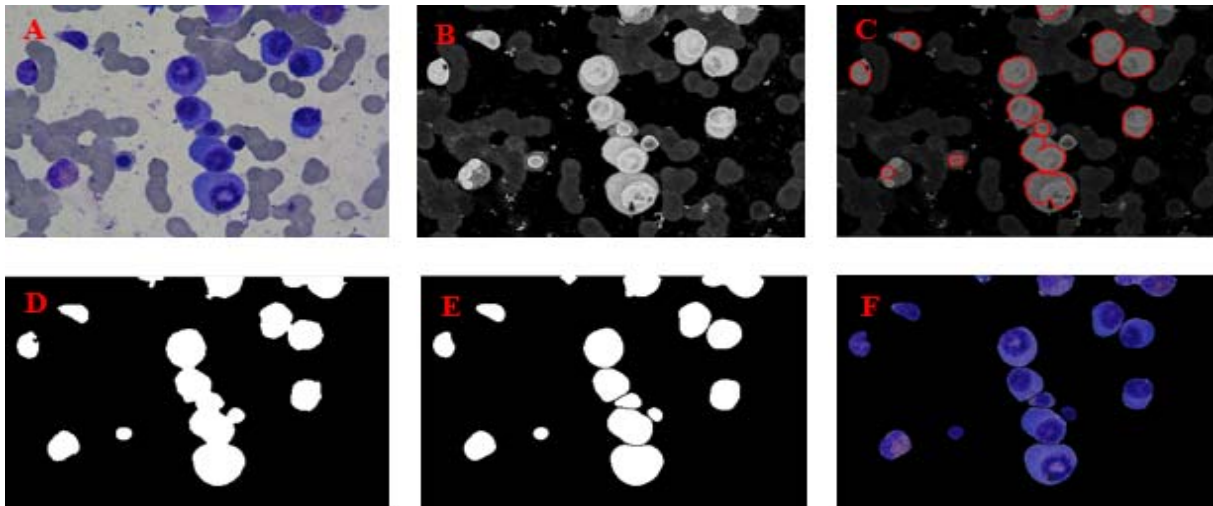
پیش‌پردازش: از آن جایی که تصاویر به دست آمده از میکروسکوپ با توجه به نحوه‌ی تهیه‌ی لام و شرایط نورپردازی دارای سطح روشنایی متفاوتی هستند، از روش تطبیق هیستوگرام (Histogram matching) برای رسیدن به تصاویر یکسان از لحاظ سطح روشنایی استفاده گردید (۱۰). بدین منظور، هیستوگرام زیر باند سبز تصویر رنگی Red-Green-Blue (RGB) در تصاویر روشن، با هیستوگرام زیر باند سبز در تصاویر تیره تطبیق داده شد. سپس، به منظور کاهش نویز نقطه‌ای در تصویر به دست آمده، یک فیلتر میانه (Median filter) بر روی تصویر رنگی اعمال گردید. نتایج حاصل از اعمال تطبیق هیستوگرام و فیلتر میانه در شکل ۲ آمده است.

بخش‌بندی سلول: پس از بهبود کیفیت تصویر، برای بخش‌بندی سلول‌ها، از ترکیب روش‌های تغییر شکل‌پذیر و الگوریتم آب‌پخشان کنترل شده با نشانگر استفاده شد. ابتدا، با توجه به این که کنتراست بین پس‌زمینه و پیش‌زمینه در باند آبی تصویر رنگی بالا بود و همچنین، بالا بودن کنتراست بین سلول‌های مد نظر و پس‌زمینه در باند سبز تصویر رنگی، از یک تبدیل فضای رنگ جدید مطابق با معادله (۱) استفاده شد که در آن، I_B باند آبی و I_G باند سبز تصویر رنگی و I_E تصویر بهبود یافته می‌باشد.

$$I_E(x,y) = I_B(x,y) - I_G(x,y) \quad (1)$$

پس، برای بخش‌بندی سلول‌ها، از الگوریتم کانتور فعال استفاده گردید. مدل‌های کانتور فعال، نمونه‌ای از مدل‌های تغییر شکل‌پذیر هستند که از کمینه کردن تابع انرژی برای بخش‌بندی تصویر استفاده می‌کنند. در این روش، کانتور اولیه توسط کاربر یا به صورت خودکار تعریف می‌شود. سپس، منحنی کانتور تحت تأثیر یک تابع انرژی تغییر شکل می‌دهد تا بر مرزهای شیء هدف منطبق شود (۱۲-۱۱).

در این تحقیق از روش کانتور Chan-Vese استفاده می‌شود که مبتنی بر ویژگی میانگین‌های شدت روشنایی نواحی داخل و خارج کانتور کار می‌کند. همچنین، کانتور اولیه برای الگوریتم مدل کانتور فعال در روش پیشنهادی با استفاده از آستانه‌گذاری Otsu بر روی



شکل ۳. نتایج بخش بندی سلول ها: (A): تصویر اصلی، (B): پس از تبدیل رنگ، (C): کانتور اولیه (به دست آمده از آستانه گذاری، کانتور قرمز)، (D): ماسک سلول ها پس از اعمال کانتور فعال، (E): ماسک باینری سلول های جدا از هم با استفاده از الگوریتم آب پخشان و (F): تصویر رنگی سلول های جدا شده

با توجه به معادله های (۳) تا (۷) به صورت زیر محاسبه شدند (۱۶-۱۵).

$$(3) \text{ معیار شباهت} = 100 \times \frac{A_{\text{automatic}} * A_{\text{manual}}}{\max(A_{\text{automatic}}, A_{\text{manual}})}$$

$$(4) \text{ حساسیت} = \frac{T_p}{T_p + F_n}$$

$$(5) \text{ دقت} = \frac{T_p}{T_p + F_p}$$

$$(6) \text{ صحت} = \frac{T_p + T_n}{T_p + T_n + F_p + F_n}$$

$$(7) \text{ DSC} = \frac{2T_p}{2T_p + F_p + F_n}$$

T_p : تعداد پیکسل هایی که به درستی توسط الگوریتم جزء ناحیه ی سلول (هسته) بخش بندی شده اند.

F_p : تعداد پیکسل هایی که نادرست توسط الگوریتم جزء ناحیه ی سلول (هسته) بخش بندی شده اند.

F_n : تعداد پیکسل هایی که جزء ناحیه ی سلول (هسته) بوده اند، اما توسط الگوریتم بخش بندی نشده اند.

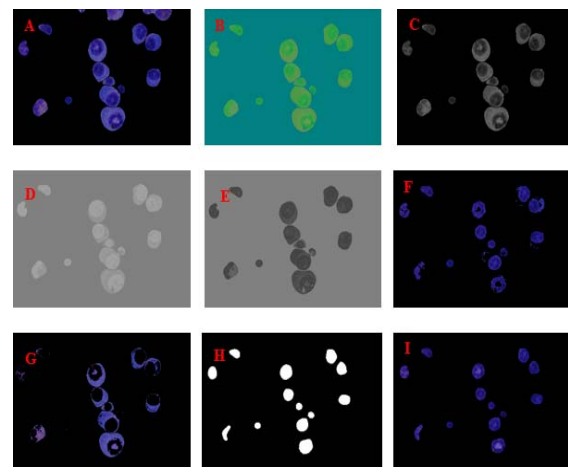
T_n : تعداد پیکسل هایی که جزء ناحیه ی سلول (هسته) نبودند و به درستی توسط الگوریتم بخش بندی شده اند.

$A_{\text{automatic}}$: مساحت تصویر باینری به دست آمده از الگوریتم بخش بندی اعمال شده است.

A_{manual} : مساحت تصویر باینری به دست آمده از بخش بندی دستی است.

بالا بودن معیارهای پیش گفته، نشانه ی عملکرد خوب روش پیشنهادی می باشد. نتایج حاصل از ارزیابی بخش بندی هسته و سلول ها، توسط الگوریتم پیشنهادی و روش سعیدی زاده و همکاران (۹) با بخش بندی دستی در جدول ۱ آمده است.

در انتها، اشیا یی که مساحتی کمتر از ۱۰۰ پیکسل داشتند، از تصویر حذف شدند و به این ترتیب، ماسک هسته ها ساخته شد. نتایج حاصل از بخش بندی هسته ها در شکل ۴ آمده است.



شکل ۴. نتایج بخش بندی هسته ها: (A): تصویر رنگی سلول ها (Red-Green-Blue یا RGB)، (B): تصویر $L^*a^*b^*$ ، (C): زیر باند L^* ، (D) زیر باند a^* ، (E): زیر باند b^* ، (F): خوشه ی ۱: هسته ها، (G): خوشه ی ۲: سیتوپلاسم، (H): ماسک باینری هسته ها بعد از عملیات ریخت شناسی، (I): تصویر رنگی هسته ها

یافته ها

برای ارزیابی کارایی، روش پیشنهادی با بخش بندی دستی انجام گرفته توسط پزشک متخصص، مورد مقایسه قرار گرفت. بدین منظور، پارامترهای آماری شامل معیار شباهت، حساسیت، دقت، صحت و Dice Similarity Coefficient (DSC) (۱۴) استفاده شدند. این مقادیر،

جدول ۱. مقایسه نتایج بخش‌بندی سلول‌ها توسط الگوریتم پیشنهادی و الگوریتم سعیدی زاده و همکاران با بخش‌بندی دستی

| نتایج ارزیابی الگوریتم‌های بخش‌بندی با بخش‌بندی دستی | | | | پارامترهای ارزیابی |
|--|----------------|--|----------------|--------------------|
| الگوریتم پیشنهادی | | الگوریتم مطالعه‌ی سعیدی‌زاده و همکاران (۹) | | |
| سلول‌ها (درصد) | هسته‌ها (درصد) | سلول‌ها (درصد) | هسته‌ها (درصد) | |
| ۸۹/۰۱ | ۹۱/۴۳ | ۸۲/۶۷ | ۷۵/۹۸ | معیار شباهت |
| ۸۹/۹۵ | ۹۲/۴۸ | ۸۳/۱۷ | ۷۸/۸۹ | حساسیت |
| ۹۷/۷۱ | ۹۶/۱۳ | ۹۴/۸۱ | ۸۲/۶۷ | دقت |
| ۹۸/۶۳ | ۹۸/۵۳ | ۹۶/۹۳ | ۸۶/۶۱ | صحت |
| ۹۳/۸۶ | ۹۵/۴۷ | ۸۷/۶۳ | ۸۱/۰۶ | DSC |

DSC: Dice similarity coefficient

برای بخش‌بندی هسته بود که بیانگر کارایی بالای روش پیشنهادی برای بخش‌بندی می‌باشد.

با توجه به نتایج قابل قبول الگوریتم پیشنهادی برای بخش‌بندی و استخراج سلول‌ها، برای مطالعات آینده، افزایش تعداد تصاویر جهت تکمیل پایگاه داده، استخراج ویژگی‌های مناسب و استفاده از طبقه‌بندی کننده‌ی مناسب برای تشخیص سالم یا سرطانی بودن سلول‌های استخراج شده، انجام خواهد گرفت. همچنین، در صورت تهیه‌ی اسکتر لام مناسب، کل فرایند اخذ تصویر تا پردازش نهایی و تشخیص، می‌تواند به صورت تمام خودکار انجام گیرد که در این صورت، می‌تواند به عنوان یک ابزار کمک تشخیصی کارا برای متخصصان در تشخیص این نوع از سرطان بسیار مفید باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب به شماره ی ۳۹۴۱۰۰۳ در دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد.

بحث

در این مقاله، روشی نیمه خودکار برای بخش‌بندی و استخراج سلول‌های مؤثر در سرطان میلوم متعدد ارائه گردید. در روش ارائه شده، با استفاده از تکنیک‌های افزایش کنتراست و روش‌های بخش‌بندی تغییر شکل‌پذیر و الگوریتم آب‌پخشان کنترل شده با نشانگر، ماسک سلول‌ها و با به کارگیری روش خوشه‌بندی *k-means*، ماسک هسته‌ها از سایر اجزای تصویر استخراج گردید.

نتایج ارائه شده در جدول ۱، نشان می‌دهد که در مقایسه با روش سعیدی‌زاده و همکاران (۹،۱۳) که تنها مطالعه‌ی انجام گرفته بر روی داده‌های مشترک می‌باشد، عملکرد بخش‌بندی بهبود یافته است. نتایج محاسبه شده از روش پیشنهادی در مقایسه با بخش‌بندی دستی انجام گرفته توسط پزشک متخصص، نشان می‌دهد که معیار ارزیابی، حساسیت، دقت، صحت و DSC به ترتیب ۸۹/۰۱، ۸۹/۹۵، ۹۷/۷۱، ۹۸/۶۳ و ۹۳/۸۶ درصد برای بخش‌بندی سلول و ۹۱/۴۳، ۹۲/۴۸، ۹۶/۱۳، ۹۸/۵۳ و ۹۵/۴۷ درصد

References

- Hall J. Guyton and Hall textbook of medical physiology. vol. 53. 12th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2011.
- Chen-Kiang S. Biology of plasma cells. Best Pract Res Clin Haematol 2005; 18(4): 493-507.
- Sadr A, Jahed M, Salehian P, Eslami A. Leukocyte's nucleus segmentation using active contour in YCbCr colour space. Proceedings of 2010 IEEE EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences (IECBES 2010); 2010 Nov 30-2 Dec; Kuala Lumpur, Malaysia. p. 257-60.
- Prinyakupt J, Pluempitiwiriwawej C. Segmentation of white blood cells and comparison of cell morphology by linear and naive Bayes classifiers. Biomed Eng Online 2015; 14: 63.
- Eom S, Kim S, Shin V, Ahn B. Leukocyte segmentation in blood smear images using region-based active contours. In: Blanc-Talon J, Philips W, Popescu D, Scheunders P, editors. Advanced Concepts for Intelligent Vision Systems: 8th International Conference, ACIVS 2006, Antwerp, Belgium, September 18-21, 2006. Berlin, Germany: Springer; 2006. p. 867-76.
- Ghane N, Vard A, Talebi A, Nematollahy P. Segmentation of white blood cells from microscopic images using a novel combination of K-means clustering and modified watershed algorithm. J Med Signals Sens 2017; 7(2): 92-101.
- Li Y, Zhu R, Mi L, Cao Y, Yao D. Segmentation of white blood cell from acute lymphoblastic leukemia images using dual-threshold method. Comput Math Methods Med 2016; 2016: 9514707.
- Sarrafzadeh O, Dehnavi AM. Nucleus and cytoplasm segmentation in microscopic images using K-means clustering and region growing. Adv Biomed Res 2015; 4: 174.
- Saeedizadeh Z, Talebi A, Mehri-Dehnavi A, Rabbani H, Sarrafzadeh O. Extraction and recognition of

- myeloma cells in microscopic images of bone marrow aspiration. *J Isfahan Med Sch* 2015; 32(310): 1976-84. [In Persian].
10. Gonzalez RC, Woods RE. *Digital image processing*. vol. 49. Upper Saddle River, NJ: Pearson; 2008.
 11. Kass M, Witkin A, Terzopoulos D. Snakes - Active contour models. *Int J Comput Vis* 1987; 1(4): 321-31.
 12. Vard AR, Nilchi ARN, Moallem P. Object detection and image segmentation using texture pressure energy in parametric active contour models. *J Chin Inst Eng* 2008; 31(4): 649-57.
 13. Chan TF, Vese LA. Active contours without edges. *IEEE Trans Image Process* 2001; 10(2): 266-77.
 14. Dice LR. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 1945; 26(3): 297-302.
 15. Saeezadeh Z, Mehri DA, Talebi A, Rabbani H, Sarrafzadeh O, Vard A. Automatic recognition of myeloma cells in microscopic images using bottleneck algorithm, modified watershed and SVM classifier. *J Microsc* 2016; 261(1): 46-56.
 16. Glas AS, Lijmer JG, Prins MH, Bossel GJ, Bossuyt PM. The diagnostic odds ratio: a single indicator of test performance. *J Clin Epidemiol* 2003; 56(11): 1129-35.

Segmentation of Effective Cells in Multiple Myeloma Cancer Using Deformable Models and K-means Clustering

Hadis Golmohammadi¹, Alireza Vard², Ardashir Talebi³

Original Article

Abstract

Background: Multiple myeloma is the second most common hematopoietic cancer. This disease is caused by the cancerous category of cells called plasma cells. Detecting and counting plasma cells provide valuable information for pathologists to diagnose this disease. The manual counting and considering of plasma cells are time consuming and due to the tedious nature of this process, it is subject to error. Thus, a computer-aided tool for pathologists to help in the diagnostic process can be very useful. For this purpose, this research presented a computer tool for segmentation of effective cells in multiple myeloma from microscopic images.

Methods: In proposed method, after improving the quality of the images using histogram matching and median filter, the cells were extracted using the Chan-Vese deformable model. In addition, for splitting touching cells, the Modified Watershed algorithm was used. Then, the nuclei were extracted applying the k-means clustering method.

Findings: The proposed method was evaluated on 30 microscopic images containing 370 cells. The calculated results of the proposed method showed that similarity measures, sensitivity, precision, accuracy and Dice Similarity Coefficient (DSC) respectively were 89.01%, 89.95%, 97.71%, 98.63%, and 93.86% for cell segmentation, and 91.43%, 92.48%, 96.13%, 98.53%, and 95.47% for nucleus segmentation.

Conclusion: In this research, a novel method was presented for segmentation and extraction of effective cells in the diagnosis of multiple myeloma cancer from microscopic images using deformable models and clustering method. The evaluation results show that the proposed algorithm have improved segmentation performance compared to the previous methods.

Keywords: Multiple myeloma, Plasma cells, Image processing

Citation: Golmohammadi H, Vard A, Talebi A. **Segmentation of Effective Cells in Multiple Myeloma Cancer Using Deformable Models and K-means Clustering.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(448): 1276-82.

1- MSc Student, Department of Bioelectrics and Biomedical Engineering AND Student Research Committee, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Bioelectrics and Biomedical Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Alireza Vard, Email: vard@amt.mui.ac.ir

آلودگی به ویروس هپاتیت E در بیماران پیوند کلیه در شهر اصفهان بر اساس ردیابی مولکولی ویروس

بهروز عطایی^۱، مریم کیهانی^۲، مرتضی پوراحمد^۳، شهرام طاهری^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ویروس هپاتیت E وابسته به خانواده‌ی هپه‌ویریده‌ها و تنها گونه‌ی جنس هپه‌ویروس‌ها می‌باشد. این ویروس، ۴ گونه دارد که گونه‌های ۳ و ۴ آن، می‌تواند باعث بروز عفونت مزمن به خصوص در بیماران مبتلا به نقص ایمنی (مثل بیماران پیوند کبد و کلیه) بشود. این مطالعه، با هدف بررسی فراوانی آلودگی به این ویروس در بیماران پیوند کلیه، انجام شد.

روش‌ها: این مطالعه‌ی مقطعی در سال ۱۳۹۵ در شهر اصفهان بر روی ۱۰۰ بیمار دریافت کننده‌ی پیوند کلیه که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند، انجام شد. پس از خون‌گیری از بیماران انتخاب شده، RNA ویروس Hepatitis E (HEV) با روش Real time polymerase chain reaction (Real time PCR) ردیابی شد.

یافته‌ها: میانگین سنی بیماران $44/2 \pm 48/2$ و ۶۳ درصد آن‌ها مرد بودند. بر اساس بررسی انجام شده، هیچ کدام از ۱۰۰ بیمار بررسی شده از نظر آلودگی به ژنوم ویروس HEV مثبت نبودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه، می‌توان گفت که آلودگی به ویروس HEV در بیماران پیوند کلیه در اصفهان قابل توجه نمی‌باشد. از این رو، غربالگری بیماران با توجه به هزینه‌ی بالای این آزمایش، لزومی ندارد و توصیه نمی‌شود.

واژگان کلیدی: هپاتیت E، پیوند کلیه، هپاتیت مزمن

ارجاع: عطایی بهروز، کیهانی مریم، پوراحمد مرتضی، طاهری شهرام. آلودگی به ویروس هپاتیت E در بیماران پیوند کلیه در شهر اصفهان بر اساس ردیابی مولکولی ویروس. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۸): ۱۲۸۳-۱۲۸۸

مقدمه

ویروس هپاتیت E (Hepatitis E یا HEV) متعلق به خانواده‌ی هپه‌ویریده‌ها می‌باشد و تنها عضو جنس هپه‌ویروس‌ها می‌باشد. شیوع این بیماری، ۳/۲ درصد در کشورهای پیشرفته و حدود ۱۰-۳۵ درصد در کشورهای در حال پیشرفت می‌باشد (۱). در آسیا، ویروس هپاتیت E به عنوان شایع‌ترین عامل هپاتیت حاد در بالغین شناخته شده است و در خاور میانه، پس از هپاتیت B، دومین عامل شناخته شده‌ی هپاتیت حاد در بالغین می‌باشد (۲). در کشورهای همچون کشورهای آسیایی و آفریقایی با سطح پایین بهداشت محیط، این ویروس از نظر بهداشتی بیشتر قابل توجه است (۳). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که اگر چه این ویروس اغلب از راه دهانی-مدفوعی منتقل

می‌گردد، اما می‌تواند از طرق خونی هم قابل انتقال باشد (۴). ایران یکی از کشورهای آسیایی است و به عنوان یکی از مناطق اندمیک هپاتیت E شناخته شده است (۵)؛ به طوری که شیوع آلودگی به این ویروس در جمعیت معمول این کشور حدود ۱۳-۸ درصد برآورد گردیده است (۶، ۳).

ویروس هپاتیت E، یکی از عوامل شناخته شده‌ی هپاتیت حاد ویروسی است که اغلب خود محدود شونده است، اما باید دانست که این ویروس، می‌تواند باعث هپاتیت فولمینانت در بیماران با زمینه‌ی بیماری کبدی، افراد سالمند و خانم‌های حامله شود (۲). از طرف دیگر، امروزه ثابت شده است که در شرایط خاصی، این عفونت می‌تواند به حالت مزمن در بیاید (۴).

۱- استاد، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- متخصص بیماری‌های عفونی گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشیار، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات بیماری‌های کلیوی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: mortezapourahmad@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤؤل: مرتضی پوراحمد

ژنوتیپ‌های ۳ و ۴ ارایه شده است که با نارسایی حاد کبدی، سیروز و هیپاتیت مزمن در بیماران همراه بوده است (۱۷، ۱۲).

در خاور میانه، ایران یکی از مناطق اندمیک شناخته شده برای هیپاتیت E می‌باشد (۵). شیوع سرولوژیکی این ویروس (Anti-HEV IgG) بین ۱۱/۵-۲/۳ درصد در جای جای این کشور اعلام شده است (۲۱-۱۸).

علاوه بر این، در بیماران پیوند کلیه‌ی ایرانی، نشان داده شده است که شیوع سرولوژی مثبت هیپاتیت E (HEV IgG antibody) به طور معنی‌داری بیشتر از شیوع آن در بیماران تحت همودیالیز و یا جمعیت طبیعی کشور است (۲۲).

این نتایج، اغلب از مطالعات سرولوژیک انجام شده در کشور به دست آمده است و اطلاعات مربوط به ژنوتیپ‌های ویروس HEV بسیار کم است.

با توجه به مسایل مطرح شده در این مطالعه، تصمیم بر آن شد که بیماران پیوند کلیه در شهر اصفهان از نظر HEV با روش‌های ملکولی بررسی شوند تا بتوان به دو سؤال پژوهشی پاسخ داد: اول آن که «آیا عفونت با ویروس HEV در بیماران پیوند کلیه چقدر اهمیت دارد؟» و دوم این که «کدام ژنوتیپ بیشتر عامل عفونت در این بیماران است؟».

روش‌ها

این مطالعه، به روش مقطعی و بر روی بیماران دریافت‌کننده پیوند کبد در سال ۱۳۹۵ در اصفهان انجام گرفت. در این مطالعه، ۱۱۱ بیمار پیوند کلیه وارد مطالعه شدند. انتخاب بیماران به صورت تصادفی و از بین تمامی بیماران دریافت‌کننده پیوند کلیه بود که ۱۱ بیمار برای انجام مطالعه رضایت ندادند و در نهایت، ۱۰۰ بیمار تا پایان مطالعه شرکت داشتند.

در ابتدا، اطلاعات دموگرافیک بیماران ثبت گردید و مقدار ۵ سی‌سی خون از حفره‌ی کویبتال آنان کشیده شد و کد گذاری گردید. سپس، سرم نمونه‌ها جدا گردید و در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد.

پس از تکمیل نمونه‌برداری، تمامی نمونه‌ها با کمک روش Real time PCR بررسی شدند. در این بررسی، از پرایمر و پروب تهیه شده از شرکت آلمانی آلتونا (Realstar® HEVRT-PCR Kit 1.0) استفاده شد و RNA ویروس و (cDNA) complementary DNA به طور جداگانه تهیه و بررسی انجام شد.

تمام اطلاعات به دست آمده از بیماران با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) آنالیز و تحلیل شد.

از نظر اپیدمیولوژی، عفونت با ویروس هیپاتیت E به دو دسته‌ی اپیدمیک (Epidemic) و اندمیک (Autochthonous) تقسیم‌بندی می‌شود. در نوع اپیدمیک که بر اثر ژنوتیپ‌های ۱ و ۲ ویروس به وجود می‌آید، عفونت مزمن ایجاد نمی‌شود و این بیماری، خاص انسان است. این نوع هیپاتیت E، یکی از مسایل مهم بهداشتی در کشورهای در حال پیشرفت در آسیا و آفریقا و به خصوص در کشورهایی است که از نظر مسایل بهداشتی در سطح پایینی قرار دارند (۲).

نوع اندمیک هیپاتیت E در اثر ژنوتیپ‌های ۳ و ۴ به وجود می‌آید که در بین مردان و سالمندان شایع‌تر است. این نوع هیپاتیت E، یک بیماری مشترک بین انسان و دام است و می‌تواند در انسان باعث عفونت مزمن بشود. این نوع عفونت، به طور اسپورادیک اتفاق می‌افتد و با خوک ارتباط نزدیک دارد؛ اگر چه در سایر دام‌ها از جمله گوسفند، گاو، گوزن و خرگوش نیز گزارش شده است.

گزارش‌های زیادی از بروز هیپاتیت حاد و مزمن با ژنوتیپ‌های ۳ و ۴ ویروس هیپاتیت E در کشورهای ژاپن، چین، هند، پاکستان و مکزیک ارایه شده است (۵).

عفونت مزمن با ویروس هیپاتیت E، ممکن است در بیماران نقص ایمنی و بیماران Human immunodeficiency virus (HIV) (۷)، بیماران تحت شیمی‌درمانی (۸) و بیماران دریافت‌کننده پیوند (۹) دیده شود. در عفونت مزمن با ویروس هیپاتیت E، افزایش آنزیم‌های کبدی همراه با مثبت بودن Polymerase chain reaction (PCR) در مدفوع و یا سرم برای حداقل ۶ ماه ادامه دارد (۱۰). در بعضی از گزارش‌ها، گفته شده است که بروز هیپاتیت مزمن با این ویروس بدون وجود نقص ایمنی هم امکان دارد (۱۱).

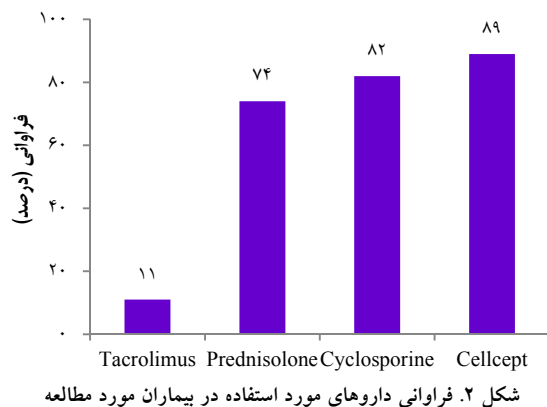
مطالعات قبلی که بر روی بیماران گیرنده پیوند کلیه انجام شده است، حاکی از مثبت بودن حدود ۶-۱۵/۶ درصد این بیماران از نظر سرولوژی (Anti-HEV IgG یا Anti-HEV Immunoglobulin G) بوده است (۱۴-۱۲). در یک مطالعه‌ی گذشته‌نگر که در ۱۷ مرکز درمانی انجام شده است، ۸۵ بیمار مبتلا به عفونت HEV پی‌گیری شده‌اند و معلوم شده است که ۶۶ درصد آن‌ها (۵۶ نفر) مبتلا به هیپاتیت مزمن شده‌اند. لازم به ذکر است که ۴۷ نفر از بیماران پیوند کلیه و ۲۶ نفر پیوند کبد دریافت کرده بودند و بقیه پیوندهای دیگر (قلب، ریه و لوزالمعده) دریافت کرده بودند (۹).

بیماران مبتلا به هیپاتیت مزمن E، دچار مشکلات متعدد سیستم اعصاب مرکزی، کبدی، خونی و کلیوی می‌شوند (۱۵) و بر اساس مطالعات بالینی انجام شده، به نظر می‌رسد ریبوویرین و پک اینترفرون و یا ترکیبی از این دو دارو می‌تواند در بهبودی بیماران تأثیرگذار باشد (۱۶).

در سال‌های اخیر، گزارش‌هایی از گرفتاری بیماران با

برای ایجاد سرکوب ایمنی در بیماران، داروهای Tacrolimus، Cyclosporine، Mycophenolate mofetil و Prednisolone استفاده شد.

اغلب بیماران (۵۳ درصد) رژیم درمانی سه‌تایی (Prednisolone و Cyclosporine، Mycophenolate mofetil) دریافت می‌کردند. ۲۳ نفر (۲۳ درصد) ترکیب دوتایی (Cyclosporine و Mycophenolate mofetil) و ۵ بیمار ترکیب سه‌تایی (Prednisolone، Mycophenolate mofetil و Tacrolimus) و ۴ بیمار ترکیب سیکلوسپورین و پردنیزولون دریافت کردند. شکل ۲، فراوانی داروهای مورد استفاده در بیماران مطالعه شده را نشان می‌دهد.



در نهایت، نمونه‌ی خون گرفته شده از کلیه‌ی بیماران مورد مطالعه با استفاده از روش HEV RT-PCR از نظر وجود ژنوم ویروس هیپاتیت E بررسی شدند و هیچ یک از نمونه‌ها مثبت نشدند.

بحث

آسیب کبدی، یکی از اتفاقات نادری است که در اثر عفونت مزمن هیپاتیت E بروز می‌کند، اما گزارش‌هایی دال بر بروز این اتفاق در بیماران دریافت کننده‌ی پیوند عضو وجود دارد. بنابراین، طراحی راهنمای مراقبت این بیماران ضروری به نظر می‌رسد (۹). با این حال، هیپاتیت مزمن E مسأله‌ی بسیار مهمی در بیماران دریافت کننده‌ی پیوند عضو نمی‌باشد. گزارش‌هایی که از بروز این عفونت در بیماران دریافت کننده‌ی پیوند عضو در دست است، نشان دهنده‌ی شیوع پایین این عفونت می‌باشد. در مطالعه‌ای که بر روی بیماران دریافت کننده‌ی پیوند قلب انجام شده است، ۱۱/۵ درصد افراد از نظر Anti-HEV-IgG و ۱/۵ درصد آن‌ها از نظر HEV-RNA مثبت بوده‌اند (۲۳). در مطالعه‌ی دیگری که بر روی ۳۳۱ بیمار دریافت

یافته‌ها

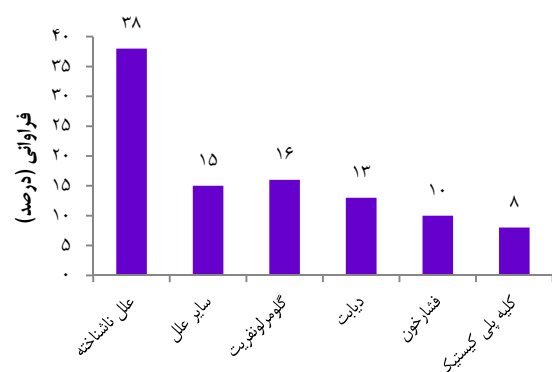
در این مطالعه‌ی مقطعی، تعداد ۱۰۰ بیمار بررسی شدند که در این بررسی، اطلاعات دموگرافیک و اطلاعات مربوط به وضعیت بیوشیمی خون بررسی شد و در نهایت، همه‌ی نمونه‌ها از نظر وجود ژن هیپاتیت E با استفاده از روش PCR تحت بررسی قرار گرفتند. ۶۳ درصد بیماران مرد و بقیه زن بودند. ۷۱ درصد بیماران دریافت کننده‌ی پیوند از دهنده‌ی زنده کلیه دریافت کرده بودند و ۲۹ درصد آن‌ها، از جسد کلیه دریافت کرده بودند. متوسط زمانی پیوند کلیه ۷/۱ ماه برآورد گردید (جدول ۱).

جدول ۱. خصوصیات بیماران مطالعه شده

| متغیر | میانگین ± انحراف معیار |
|---------------------------------------|-------------------------------|
| سن بیماران (سال) | ۴۸/۲ ± ۱۴/۲ |
| جنس | مرد [تعداد (درصد)] ۶۳ (۶۳) |
| | زن [تعداد (درصد)] ۳۷ (۳۷) |
| سابقه‌ی مثبت تزریق خون [تعداد (درصد)] | ۵۵ (۵۵) |
| مدت زمانی که از پیوند می‌گذشت (ماه) | ۷/۱ ± ۴/۷ |
| اهدا کننده‌ی فرد زنده [تعداد (درصد)] | ۷۱ (۷۱) |
| پیوند جسد [تعداد (درصد)] | ۲۹ (۲۹) |
| میانگین سرمی AST (U/I) | ۱۹/۹ ± ۶/۴ |
| میانگین سرمی ALT (U/I) | ۲۰/۱ ± ۹/۸ |
| میانگین سرمی ALP (U/I) | ۲۲۴/۲ ± ۷۶/۴ |
| میانگین سرمی کراتینین (Mg/dl) | ۱/۳ ± ۰/۳ |

AST: Aspartate transaminase; ALT: Alanine transaminase; ALP: Alkaline phosphatase

عوامل شایع نارسایی کلیه در این بیماران گلوبولونفریت (۱۶ نفر)، دیابت شیرین (۱۳ نفر) و کلیه‌ی پلی‌کیستیک (۸ نفر) بوده است (شکل ۱).



شکل ۱. علل نارسایی کلیه در بیماران مطالعه شده

به نتایج این مطالعه تکیه شود، باید گفت که عفونت هپاتیت E در بیماران دریافت کننده پیوند کلیه در اصفهان خطر مهمی به حساب نمی آید. البته، ژنوتیپ های ۳ و ۴ ویروس هپاتیت E، بیشتر باعث بیماری مشترک بین انسان و دام می گردند و شاید اگر انتخاب بیماران با تأکید بر شغل آن ها انجام می شد و به خصوص افرادی که دارای شغل قصابی یا دامداری و یا شغل های دیگر که در ارتباط با دام می باشد، انتخاب می شدند، شانس یافتن موارد مثبت بیشتر می شد.

با توجه به مطالب پیش گفته، پیشنهاد می شود مطالعه ای برای بررسی آلودگی جمعیت ایرانی به ژنوتیپ های ۳ و ۴ ویروس هپاتیت E انجام شود و بهتر است این کار در بیماران پر خطر (شامل قصاب ها، دام پزشکان و دامداران) انجام شود.

نتیجه گیری نهایی این که عفونت هپاتیت E، مشکل مهمی در بیماران دریافت کننده پیوند کلیه در این شهر نمی باشد، اما شاید اگر روزی تعداد پیوند کلیه در این شهر به حد قابل توجهی برسد، به عنوان مشکل مهمی مطرح شود.

البته، شاید بهتر باشد که در طراحی مطالعه، ابتدا سطح ایمونوگلوبولین اندازه گیری شود و آزمایش پر هزینه ی PCR به صورت هدفمندتر بر روی بیماران سرپوزیتیو (Seropositive) صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه ی دانشجویی دوره ی دستیاری به شماره ی ۳۹۴۷۵۹ می باشد که با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گرفته است. نویسندگان بر خود لازم می دانند از کلیه ی افرادی که به نحوی در انجام این مطالعه همکاری کرده اند، تشکر و قدردانی نمایند. همچنین، از آقای دکتر یاران و پرسنل محترم آزمایشگاه یاران که در تهیه ی اطلاعات آزمایشگاهی کمک شایانی کرده اند، سپاسگزاری می گردد.

کننده ی پیوند کبد انجام شده است، فقط یک بیمار از نظر HEV-RNA مثبت بوده است (۲۴) و در مطالعه ی حاضر، این عدد صفر بوده است.

امروزه، پیشنهاد می شود که در بیماران مبتلا به هپاتیت E، درمان سرکوبگر ایمنی کاهش یابد، اما این خود می تواند برای بیمار خطرساز باشد و باعث رد پیوند گردد. امروزه، به نظر می رسد که تاکرولیموس یکی از عوامل مهم به وجود آمدن هپاتیت مزمن در بیماران باشد (۹). در بعضی کشورها از جمله ژاپن، هند، چین، پاکستان و مکزیک، ژنوتیپ های ۳ و ۴ علل بروز هپاتیت E حاد و مزمن بوده اند. از طرف دیگر، در بعضی از کشورها، عفونت با ژنوتیپ های ۱ و ۲ بیشتر دیده می شود (۵).

در ایران، اگر چه مطالعات سرولوزیکی نشان داده است که عفونت هپاتیت E به کرات اتفاق می افتد، اما متأسفانه از ژنوتیپ هایی که در ایران بیماری ایجاد می کنند، اطلاعاتی در دست نیست. عطایی و همکاران در اصفهان، مطالعه ای بر روی جمعیت سالم انجام داده اند و مشاهده کرده اند که ۳/۸ درصد مردم از نظر سرولوزی هپاتیت E مثبت بوده اند (۱۹). عصارزادگان و همکاران، مشخص کرده اند که حدود ۱۱/۵ درصد مردم استان خوزستان از نظر HEV IgG antibody مثبت بوده اند (۱۸).

در مطالعه ای در شمال شرقی ایران، پارسا و همکاران مشخص کرده اند که از ۵۰ بیمار مثبت از نظر سرولوزی هپاتیت E، ۷ نفر از نظر PCR مثبت بوده اند و ژنوتیپ آن ها همگی از نوع ۱ بوده است (۲۵). در حقیقت، این مطالعه نشان داد که عفونت هپاتیت E نمی تواند برای بیماران دریافت کننده ی پیوند کلیه خطرساز باشد؛ چرا که ژنوتیپ از نوع ۱ می باشد و در این بیماران، عفونت هپاتیت E به فرم مزمن در نمی آید.

در مطالعه ی حاضر، هیچ کدام از بیماران دریافت کننده ی پیوند کلیه از نظر HEV PCR مثبت نشده اند. البته، باید توجه داشت که تعداد پیوند کلیه در شهر اصفهان سالانه حدود ۲۰۰ نفر می باشد. اگر

References

1. Boutrouille A, Bakkali-Kassimi L, Cruciere C, Pavio N. Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in French blood donors. *J Clin Microbiol* 2007; 45(6): 2009-10.
2. Nazer M, Darvishi M, Dadashi A. Serologic Prevalence of Hepatitis E in Iran and the Risk of Bioterrorism. *Ann Mil Health Sci Res*. 2011; 9 (3):209-17. [In Persian].
3. Taremi M, Gachkar L, MahmoudArabi S, Kheradpezhoh M, Khoshbaten M. Prevalence of antibodies to hepatitis E virus among male blood donors in Tabriz, Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J* 2007; 13(1): 98-102.
4. Levitsky J, Doucette K. Viral hepatitis in solid organ transplantation. *Am J Transplant* 2013; 13(Suppl 4): 147-68.
5. Aggarwal R, Naik S. Epidemiology of hepatitis E: current status. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24(9): 1484-93.
6. Sotoodeh JA, Pourahmad M. Hepatitis E virus and serum level aminotransferases in blood donors. *Rep Biochem Mol Biol* 2013; 2(1): 48-51.
7. Dalton HR, Bendall RP, Keane FE, Tedder RS, Ijaz S. Persistent carriage of hepatitis E virus in patients with HIV infection. *N Engl J Med* 2009; 361(10): 1025-7.

8. Ollier L, Tieulie N, Sanderson F, Heudier P, Giordanengo V, Fuzibet JG, et al. Chronic hepatitis after hepatitis E virus infection in a patient with non-Hodgkin lymphoma taking rituximab. *Ann Intern Med* 2009; 150(6): 430-1.
9. Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, Garrigue V, Pischke S, Chauvet C, et al. Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. *Gastroenterology* 2011; 140(5): 1481-9.
10. Hoofnagle JH, Nelson KE, Purcell RH. Hepatitis E. *N Engl J Med* 2012; 367(13): 1237-44.
11. Gonzalez Tallon AI, Moreira V, V, Mateos Lindemann ML, Achecar Justo LM. Chronic hepatitis E in an immunocompetent patient. *Gastroenterol Hepatol* 2011; 34(6): 398-400. [In Spanish].
12. Kamar N, Selves J, Mansuy JM, Ouezzani L, Peron JM, Guitard J, et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med* 2008; 358(8): 811-7.
13. Buffet C, Laurent-Puig P, Chandot S, Laurian Y, Charpentier B, Briantais MJ, et al. A high hepatitis E virus seroprevalence among renal transplantation and haemophilia patient populations. *J Hepatol* 1996; 24(1): 122-5.
14. Ibarra H, Riedemann S, Reinhardt G, Ardiles L, Calvo M, Siegel F. Anti-HEV in dialysis and renal transplant patients in an endemic region in Chile. *Clin Nephrol* 1998; 50(4): 267-8.
15. Wedemeyer H, Pischke S, Manns MP. Pathogenesis and treatment of hepatitis e virus infection. *Gastroenterology* 2012; 142(6): 1388-97.
16. Chaillon A, Sirinelli A, De MA, Nicand E, d'Alteroche L, Goudeau A. Sustained virologic response with ribavirin in chronic hepatitis E virus infection in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2011; 30(7): 841-3.
17. Peron JM, Bureau C, Poirson H, Mansuy JM, Alric L, Selves J, et al. Fulminant liver failure from acute autochthonous hepatitis E in France: description of seven patients with acute hepatitis E and encephalopathy. *J Viral Hepat* 2007; 14(5): 298-303.
18. Assarehzadegan MA, Shakerinejad G, Amini A, Rezaee SA. Seroprevalence of hepatitis E virus in blood donors in Khuzestan Province, southwest Iran. *Int J Infect Dis* 2008; 12(4): 387-90.
19. Ataei B, Nokhodian Z, Javadi AA, Kassaian N, Shoaie P, Farajzadegan Z, et al. Hepatitis E virus in Isfahan Province: a population-based study. *Int J Infect Dis* 2009; 13(1): 67-71.
20. Saffar MJ, Farhadi R, Ajami A, Khalilian AR, Babamahmodi F, Saffar H. Seroprevalence of hepatitis E virus infection in 2-25-year-olds in Sari district, Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J* 2009; 15(1): 136-42.
21. Alizadeh AH, Ranjbar M, Ansari S, MirArab A, Alavian SM, Mohammad K, et al. Seroprevalence of hepatitis B in Nahavand, Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J* 2006; 12(5): 528-37.
22. Rostamzadeh KZ, Sepehrvand N, Masudi S. Seroprevalence of hepatitis E among Iranian renal transplant recipients. *Hepat Mon* 2011; 11(8): 646-51.
23. Pischke S, Stiefel P, Franz B, Bremer B, Suneetha PV, Heim A, et al. Chronic hepatitis e in heart transplant recipients. *Am J Transplant* 2012; 12(11): 3128-33.
24. Haagsma EB, Niesters HG, van den Berg AP, Riezebos-Brilman A, Porte RJ, Vennema H, et al. Prevalence of hepatitis E virus infection in liver transplant recipients. *Liver Transpl* 2009; 15(10): 1225-8.
25. Parsa R, Adibzadeh S, Behzad BA, Farhadi A, Yaghobi R, Rafiei Dehbidi GR, et al. Detection of Hepatitis E Virus Genotype 1 Among Blood Donors From Southwest of Iran. *Hepat Mon* 2016; 16(6): e34202.

The Frequency of Hepatitis E in Renal Transplant Recipients in Isfahan City, Iran, on the Basis of Molecular Evaluation

Behrooz Ataei¹, Maryam Keihani², Morteza Pourahmad³, Shahram Taheri⁴

Original Article

Abstract

Background: Hepatitis E virus (HEV) belongs to the family of Hepeviridae and is the sole member of the genus Hepevirus. HEV infection by genotypes 3 and 4 may tend to chronic infection, especially in immunocompromised patients such as liver and renal transplant patients. This study aimed to assess the frequency of HEV infection in kidney transplant recipients.

Methods: This was a cross-sectional study on kidney transplant recipients in Isfahan City, Iran, in 2016. 100 renal transplant recipients were randomly selected and reviewed in Alzahra hospital. Blood samples were obtained from 100 eligible patients. Serum samples were screened for HEV RNA by using real-time polymerase chain reaction (PCR).

Findings: Mean age of the patients was 48.2 ± 14.2 years and 63% of them were men. Based on molecular evaluation, all off 100 studied patients had negative results for HEV.

Conclusion: HEV infection is not an important problem in renal transplant recipient. It is recommended to check the patients with renal transplant for HEV when liver enzyme is elevated and it is not recommended as a routine lab test.

Keywords: Hepatitis E, Kidney transplantation, Chronic hepatitis

Citation: Ataei B, Keihani M, Pourahmad M, Taheri S. **The Frequency of Hepatitis E in Renal Transplant Recipients in Isfahan City, Iran, on the Basis of Molecular Evaluation.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(448): 1283-8.

1- Professor, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Infectious Diseases and Tropical Medicine Specialist, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

3- Associate Professor, Nosocomial Infections Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Associate Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine AND Kidney Disease Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Morteza Pourahmad, Email: mortezapourahmad@yahoo.com

بررسی اثرات کارودیلول و ویتامین E بر ناهنجاری‌های اسکلتی ناشی از والپروات سدیم در جنین موش صحرایی

رضا رنجبر^۱، فاطمه حسینی سیاهی^۲، محمود خاکساری مهابادی^۱، حسین نجف‌زاده ورزی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: داروی ضد تشنج والپروات سدیم، دارای اثرات تراتوژنیک روی سیستم اسکلتی انسان و حیوانات از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو می‌باشد. کارودیلول بتالاکری، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی دارد و در بیماری‌هایی مانند دیابت و نارسایی کلیه مفید است و در مدل‌های تجربی ایجاد کننده‌ی استرس اکسیداتیو، اثر حفاظتی داشته است. هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، مقایسه‌ی نقش کارودیلول و ویتامین E (به عنوان آنتی‌اکسیدان شاخص) در کاهش یا پیش‌گیری از ناهنجاری‌های اسکلتی ناشی از والپروات سدیم در جنین موش صحرایی بود.

روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر، بر روی ۳۰ سر موش صحرایی آبستن در ۴ گروه انجام شد. در روزهای ۸ و ۹ آبستنی گروه اول (گروه شاهد) تا چهارم به ترتیب نرمال‌سالین، والپروات سدیم به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، والپروات سدیم و کارودیلول به میزان ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و والپروات سدیم و ویتامین E به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم داخل صفاقی تجویز شد. روز ۲۰ آبستنی پس از آسان‌کشی تمامی موش‌ها و استخراج جنین‌ها، طول و وزن آن‌ها تعیین و با آلیزارین قرمز-آلسین آبی رنگ‌آمیزی شد و سیستم اسکلتی جنین‌ها در زیر استریومیکروسکوپ مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: درصد ناهنجاری‌های اگزوسفالی، شکاف کام، مهره‌ی شکاف‌دار و آملوسل در گروه دریافت کننده‌ی والپروات سدیم به تنهایی به ترتیب ۱۴/۵۸، ۱۴/۵۸، ۱۶/۶۶ و ۱۰/۴۱ درصد بود؛ در حالی که درصد این ناهنجاری‌ها توسط کارودیلول با دز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به ترتیب ۶/۵۵، ۸/۱۹ و ۶/۵۵ درصد و توسط ویتامین E با دز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به ترتیب به ۳/۵۰، ۸/۷۷ و ۳/۵۰ درصد کاهش یافت. میانگین طول جنین‌ها در گروه والپروات سدیم همراه با کارودیلول و گروه والپروات سدیم به اضافه‌ی ویتامین E نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کمتر بود، اما اختلاف معنی‌داری نداشتند. میانگین وزن جنین‌ها در گروه والپروات سدیم به اضافه‌ی ویتامین E، به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های والپروات سدیم و گروه والپروات سدیم به اضافه‌ی کارودیلول بود، اما نسبت به گروه شاهد کمتر بود.

نتیجه‌گیری: کارودیلول بر روی ناهنجاری‌های اسکلتی ناشی از والپروات سدیم و تغییرات طول جنین‌ها به اندازه‌ی ویتامین E تأثیر داشت، اما ویتامین E بر روی تغییرات وزن جنین‌ها اثر محافظتی بیشتری داشت.

واژگان کلیدی: والپروات سدیم، کارودیلول، ویتامین E، ناهنجاری‌های ناشی از دارو، آبستنی

ارجاع: رنجبر رضا، حسینی سیاهی فاطمه، خاکساری مهابادی محمود، نجف‌زاده ورزی حسین. بررسی اثرات کارودیلول و ویتامین E بر ناهنجاری‌های اسکلتی ناشی از والپروات سدیم در جنین موش صحرایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۸): ۱۲۹۷-۱۲۸۹

مقدمه

آنتی‌اکسیدانی همانند آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و منابعی مثل گلوتاتیون و استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد، موجب ناهنجاری‌های جنینی مانند ناهنجاری‌های اسکلتی شوند. یکی از مکانیسم‌های تراتوژنی والپروئیک اسید، ایجاد رادیکال‌های آزاد و افزایش کفه‌ی تعادل به سمت استرس اکسیداتیو می‌باشد (۱-۳). بر اساس تحقیقات، استفاده از داروی ضد صرع حین بارداری، باعث

داروی ضد تشنج والپروات سدیم که برای درمان انواع مختلف صرع استفاده می‌شود، در انسان و حیوانات دارای اثرات تراتوژنیک شامل نقایص لوله‌ی عصبی و ناهنجاری‌های مادرزادی می‌باشد. مواد و داروهایی که با آسیب به غشاهای سلولی نظیر جفت و سلول‌های در حال تمایز و تکثیر جنین، می‌توانند با ایجاد عدم تعادل بین دفاع

۱- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دکتری حرفه‌ای دام‌پزشکی، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- استاد، گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(۱۴). ویتامین E در داخل غشای چربی به منظور جلوگیری از اکسیداسیون و تشکیل رادیکال‌های آزاد که می‌تواند غشای سلولی را آسیب برساند، عمل می‌کند. استرس اکسیداتیو به طور معمول در میان افراد مصرف کننده سیگار، بیماران مبتلا به دیابت، بیماران مبتلا به سرطان و افراد مبتلا به بیماری قلبی - عروقی افزایش می‌یابد. تحقیقات نشان می‌دهد که دزهای بالای ویتامین E در پیش‌گیری از بیماری‌های قلبی - عروقی و سرطان با عمل آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی ایفا می‌کنند. گزارش‌هایی وجود دارد مبنی بر این که مصرف دزهای بالای ویتامین E در سه ماهه اول بارداری، با افزایش خطر ابتلا به ناهنجاری‌های عمده همراه نیست، اما ممکن است با کاهش وزن همراه باشد (۱۵).

از آن جایی که مقایسه‌ی کارودیلول و ویتامین E بر روی ناهنجاری‌های اسکلتی ناشی از والپروات سدیم در جنین موش صحرایی بررسی نشده بود، مطالعه‌ی حاضر با هدف ارزیابی نقش این داروها در کاهش یا پیش‌گیری از ناهنجاری‌های اسکلتی ناشی از والپروات سدیم در جنین موش صحرایی انجام شد.

روش‌ها

داروها: داروهای مورد استفاده در مطالعه‌ی حاضر شامل والپروات سدیم تهیه شده از شرکت روز داروی تهران، آمپول ویتامین E تهیه شده از شرکت دارویی اسوه و کارودیلول تهیه شده از شرکت داروسازی عبیدی بودند.

حیوانات: در این مطالعه، از موش‌های صحرایی نر و ماده‌ی نژاد Wistar که از مرکز تحقیقات و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز تهیه شدند، استفاده گردید. موش‌های صحرایی با سن حدود ۳-۴ ماهگی و میانگین وزنی 20 ± 200 گرم، حدود یک هفته به منظور تطابق با شرایط محیطی در خانه‌ی حیوانات به طور مجزا از یکدیگر، تحت دمای 21 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد و دوره‌ی ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی، شرایط یکسان تغذیه‌ای و محیطی نگهداری شدند. شیوه‌نامه‌های تجربی مورد استفاده توسط کمیته‌ی اخلاق دانشکده‌ی دام‌پزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز مطابق با دستورالعمل‌های بین‌المللی آزمایش‌های حیوانی مورد استفاده قرار گرفت. برای کاهش درد و رنج حیوانات، از حداقل تعداد حیوان جهت به دست آوردن داده‌های قابل اطمینان استفاده شد.

برای انجام عمل جفت‌گیری، هر سه سر موش صحرایی ماده با یک سر موش صحرایی نر کنار یکدیگر قرار داده شدند و روز بعد با مشاهده‌ی پلاک واژنی، روز صفر آبستنی تعیین گردید. موش‌های صحرایی آبستن در ۴ گروه مجزا و در هر گروه به طور میانگین ۵ سر

افزایش شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد و آسیب اکسیداتیو سلول می‌گردد و می‌تواند نقش مهمی در پیشرفت صرع ایفا کند (۴). عوارض این دارو، به خصوص ناهنجاری‌زایی آن در مطالعات متعدد به اثبات رسیده است. از این رو، پیش‌گیری از این عوارض، می‌تواند استفاده از این دارو را در بیماران مفیدتر نماید. تجویز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم والپروات سدیم به صورت داخل صفاقی در یکی از روزهای ۷ و ۸ آبستنی، باعث ایجاد ناهنجاری‌های اسکلتی جنین موش سوری می‌شود (۵).

Menegola و همکاران، در دو مطالعه‌ی جداگانه گزارش کردند که تجویز والپروات سدیم به ترتیب با دز ۳۰۰-۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت زیر جلدی در یکی از روزهای ۱۱-۹ آبستنی در موش سفید کوچک و موش صحرایی، باعث ناهنجاری‌های اسکلتی نظیر ناهنجاری‌هایی در استخوان جناغ، مهره‌ها و دنده‌ها می‌شود (۶-۷). در مطالعات دیگر، تجویز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی از والپروات سدیم به ترتیب در روزهای ۹ (سه بار) و ۸ آبستنی، باعث ایجاد ناهنجاری‌های سیستم اسکلتی در موش سفید کوچک و موش صحرایی شده است (۸).

در مطالعه‌ی خاکساری مهابادی و همکاران، تجویز والپروات سدیم با دز ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی، در روزهای ۸ و ۹ آبستنی، باعث ایجاد ناهنجاری‌های شکاف کام، مهره‌ی شکاف‌دار و آگزنسفال شذ (۹). در مطالعه‌ی Abdel Salam و Abd Alaziz Allam بیان شده است که تجویز والپروات سدیم با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت گساوژ در روزهای ۲۰-۱ آبستنی، باعث ایجاد تأخیر تکامل و استخوانی شدن در اسکلت محوری و زایده‌ای جنین موش صحرایی می‌شود (۱۰).

کارودیلول، آنتاگونیست گیرنده‌ی بتا است. هر چند این دارو به طور عمده در بیماری‌های قلبی کاربرد دارد، اما برای آن اثرات محافظتی علیه عوامل اکسیدان نیز برشمرده‌اند (۱۱). همچنین، متابولیت هیدروکسیله‌ی آن، توان قوی‌تری از خود کارودیلول دارد. این دارو، با جمع کردن رادیکال‌های آزاد از پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی جلوگیری می‌نماید (۱۲). خاکساری و همکاران گزارش کردند که تجویز کارودیلول با دز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی در روز ۱۳ آبستنی، ناهنجاری‌های سیستم اسکلتی ناشی از سیکلوفسفامید در جنین موش را کاهش داد (۴). کارودیلول با دز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم، از طریق خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند اثرات مخرب تزریق طولانی مدت D-گالاکتوز را که سبب پیری و کاهش یادگیری و حافظه می‌شود، بهبود بخشد (۱۳).

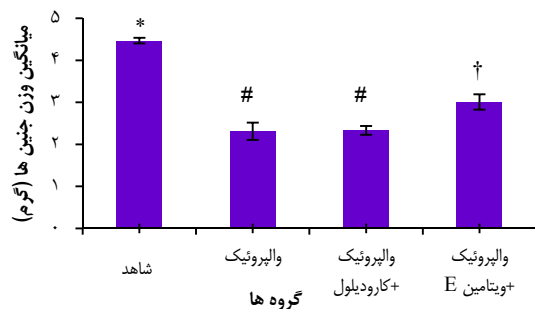
ویتامین E نیز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی شناخته شده است

معنی دار تلقی شد. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد در نمودار و جداول نشان داده شدند.

یافته‌ها

تعداد کل موش‌های مادر آبستن در گروه‌های مختلف، ۳۰ سر و تعداد جنین‌های به دست آمده ۲۲۵ سر بود که به تفکیک در گروه‌های مختلف در جدول ۱ آمده است. بررسی نتایج آماری نشان داد که درصد جنین‌های زنده و جذب شده در گروه‌های مختلف با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشت.

وزن جنین‌ها: وزن هر جنین بر حسب گرم تعیین شد و میانگین وزن جنین‌های هر گروه در شکل ۱ مشخص گردید. میانگین وزن جنین‌ها در گروه‌های شاهد، والپروات سدیم، والپروات سدیم به همراه کارودیلول و والپروات سدیم به همراه ویتامین E به ترتیب $0/46 \pm 0/20$ ، $0/30 \pm 0/10$ ، $0/33 \pm 0/18$ ، $0/46 \pm 0/20$ گرم محاسبه شد. با توجه به شکل ۱، میانگین وزن جنین‌ها در گروه دریافت‌کننده والپروات سدیم به طور معنی‌داری ($P < 0/001$) کمتر از میانگین وزن جنین‌های سایر گروه‌ها به استثنای گروه دریافت‌کننده والپروات سدیم به همراه کارودیلول ($P > 0/050$) بود.



شکل ۱. مقایسه‌ی میانگین \pm انحراف معیار وزن (گرم) در جنین‌های گروه‌های مختلف تحت مطالعه

* نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار ($P < 0/050$) وزن گروه شاهد با سایر گروه‌ها می‌باشد.
نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار ($P < 0/050$) وزن گروه والپروئیک و والپروئیک به همراه کارودیلول با سایر گروه‌ها می‌باشد.
† نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار ($P < 0/050$) وزن گروه والپروئیک و والپروئیک به همراه ویتامین E با سایر گروه‌ها می‌باشد.

موش صحرایی آبستن نگه‌داری شد. نحوه‌ی مصرف داروها به صورتی بود که برای موش‌های گروه اول (گروه شاهد)، در روزهای ۸ و ۹ آبستنی به صورت هم‌حجم والپروات سدیم و نرمال‌سالین به شکل داخل صفاقی تجویز شد. برای موش‌های گروه دوم (گروه والپروات سدیم) در روزهای ۸ و ۹ آبستنی (۹، ۱۶-۱۷) والپروات سدیم به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد. برای موش‌های گروه سوم (گروه والپروات سدیم و کارودیلول)، والپروات سدیم، به همراه کارودیلول به میزان ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد (۱۸) و برای موش‌های گروه چهارم (گروه والپروات سدیم و ویتامین E)، والپروات سدیم، به همراه ویتامین E به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد (۱۹).

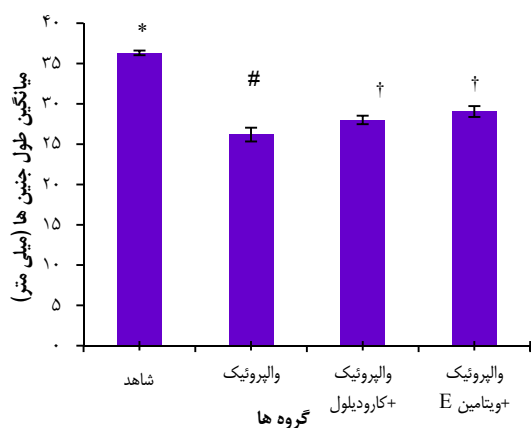
نمونه‌گیری: در روز ۲۰ آبستنی، تمام موش‌های صحرایی دریافت‌کننده دارو به روش بیهوشی با کلروفورم، آسان‌کشی شدند و پس از باز کردن محوطه‌ی شکمی و برش شاخ رحم، جنین‌ها از رحم موش صحرایی مادر خارج گردیدند (۱۰). بلافاصله، جنین‌ها از کیسه‌ی آمیون خارج شدند. در مورد هر موش صحرایی، تعداد جنین‌های زنده و جذب شده شمارش شد و سپس، وزن و طول جنین‌های زنده با استفاده از ترازو و کولیس اندازه‌گیری شد. پس از مشاهده‌ی ظاهری و مطالعه‌ی دقیق آن‌ها، پس از پوست‌کشی و احشاء‌زدایی، جنین‌ها در الکل ۹۶ درجه تثبیت شدند و سپس، در مخلوطی از آلسین آبی ۱۴/۵ درصد و آلیزارین قرمز ۱۲/۵ درصد در اتانول و اسید استیک گلاسیال قرار گرفتند و بعد از قرار گرفتن در محلول پتاس با گلیسرین و آب مقطر شفاف شستشو و در نهایت، در محلول گلیسرین خالص قرار داده شدند (۲۰). نمونه‌ها با استفاده از استریومیکروسکوپ (Nikon SMZ 800 Japan) از نظر ناهنجاری‌های سیستم اسکلتی محوری و زائده‌ای، مورد بررسی دقیق قرار گرفتند.

آنالیز آماری: داده‌های به دست‌آمده از گروه‌های مختلف مورد مطالعه، در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۷ (version 17, SPSS Inc., Chicago, IL) ثبت شدند. جهت واکاوی داده‌ها، از آزمون One-way ANOVA و سپس، آزمون (LSD) Least significant difference (جهت تعیین اختلاف داده‌ها) استفاده شد. تفاوت میانگین‌ها در سطح $P < 0/050$

جدول ۱. تعداد موش‌های صحرایی آبستن، جنین‌های زنده و جذب شده در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

| گروه‌ها | تعداد موش آبستن | تعداد جنین‌های زنده (درصد) | تعداد جنین‌های جذب شده (درصد) |
|---------------------------|-----------------|----------------------------|-------------------------------|
| شاهد | ۸ | ۵۹ (۹۶/۷۳) | ۲ (۳/۲۷) |
| والپروات سدیم | ۷ | ۴۸ (۸۸/۸۹) | ۶ (۱۱/۱۱) |
| والپروات سدیم + کارودیلول | ۸ | ۶۱ (۹۳/۸۵) | ۴ (۶/۱۵) |
| والپروات سدیم + ویتامین E | ۷ | ۵۷ (۹۵/۰۰) | ۳ (۵/۰۰) |

بود (شکل های ۸-۳). تعداد و میانگین درصد ناهنجاری‌های مشاهده شده در گروه‌های دریافت کننده دارو در جدول ۲ آمده است. نتایج آماری نشان داد درصد وقوع ناهنجاری‌ها در گروه دریافت کننده‌ی والپروات سدیم دارای اختلاف معنی داری ($P < 0/001$) با سایر گروه‌ها است. اگر چه میزان کاهش ناهنجاری‌ها در گروه دریافت کننده‌ی والپروات سدیم به همراه ویتامین E نسبت به گروه دریافت کننده‌ی والپروات سدیم به همراه کارودیلول بیشتر بود، اما اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند ($P > 0/050$).



شکل ۲. مقایسه‌ی میانگین \pm انحراف معیار طول (میلی متر) جنین‌های گروه‌های مختلف تحت مطالعه

* نشان دهنده‌ی اختلاف معنی دار ($P < 0/050$) گروه شاهد با سایر گروه‌ها می‌باشد.
نشان دهنده‌ی اختلاف معنی دار ($P < 0/050$) گروه والپروئیک با سایر گروه‌ها می‌باشد.
† نشان دهنده‌ی اختلاف معنی دار ($P < 0/050$) گروه والپروئیک به همراه کارودیلول و والپروئیک به همراه ویتامین E با سایر گروه‌ها می‌باشد.

همچنین، میانگین وزن جنین‌ها در گروه شاهد به طور معنی داری ($P < 0/001$) بیشتر از میانگین وزن جنین‌ها در سایر گروه‌ها بود. میانگین وزن جنین‌ها در گروه دریافت کننده‌ی والپروات سدیم به همراه ویتامین E به طور معنی داری ($P < 0/001$) بیشتر از میانگین وزن جنین‌ها در گروه‌های دریافت کننده‌ی والپروات سدیم و والپروات سدیم به همراه کارودیلول و کمتر از میانگین وزن جنین‌ها در گروه شاهد بود.

طول جنین‌ها: همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، میانگین طول جنین‌ها در گروه‌های شاهد، والپروات سدیم، والپروات سدیم به همراه کارودیلول و والپروات سدیم به همراه ویتامین E به ترتیب $0/28 \pm 0/36$ ، $0/19 \pm 0/26$ ، $0/52 \pm 0/28$ ، $0/84 \pm 0/31$ و $0/67 \pm 0/29$ میلی متر محاسبه شد. میانگین طول جنین‌ها در گروه دریافت کننده‌ی والپروات سدیم به طور معنی داری ($P < 0/001$) کمتر از میانگین طول جنین‌های سایر گروه‌ها بود. همچنین، میانگین طول جنین‌ها در گروه دریافت کننده‌ی والپروات سدیم به همراه کارودیلول و گروه دریافت کننده‌ی والپروات سدیم به همراه ویتامین E نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری ($P < 0/001$) کمتر بود. میانگین طول جنین‌ها در گروه دریافت کننده‌ی والپروات سدیم به همراه کارودیلول، با میانگین طول جنین‌ها در گروه دریافت کننده‌ی والپروات سدیم به همراه ویتامین E اختلاف معنی داری نداشت.

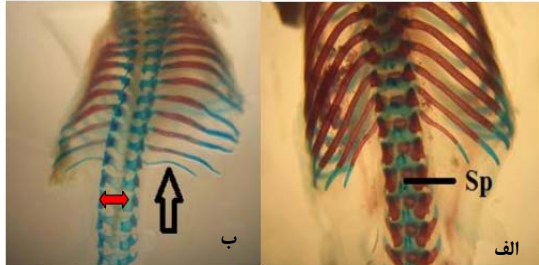
ناهنجاری‌های اسکلتی: ناهنجاری مشاهده شده در جنین‌ها به دنبال مصرف والپروات سدیم به صورت جذب شدن جنین، آمفالوسل، اگزوسفالی، شکاف کام، مهره‌ی شکاف دار، به هم چسبیدن مرکز بدنه‌ی مهره‌ها، استخوانی نشدن مهره‌های جناغ و دنده‌ی ناقص

جدول ۲. تعداد و میانگین درصد ناهنجاری‌های مشاهده شده در جنین‌های گروه‌های مختلف

| گروه‌ها | ناهنجاری‌ها تعداد (درصد) | | | | |
|---------------------------|--------------------------|-----------------|-----------|----------|-----------------------|
| | شکاف کام | مهره‌ی شکاف دار | اگزوسفالی | آمفالوسل | عدم استخوانی شدن جناغ |
| شاهد | # | # | # | † | # |
| والپروات سدیم | * | * | * | * | * |
| والپروات سدیم + کارودیلول | # | # | #* | #* | #* |
| والپروات سدیم + ویتامین E | # | #* | # | #* | # |

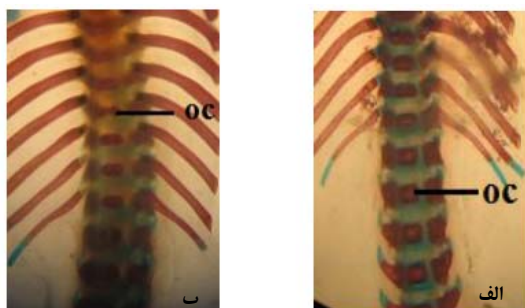
*, # و † نشان دهنده‌ی اختلاف معنی دار ($P < 0/050$) ناهنجاری‌ها بین گروه‌ها در هر ستون می‌باشد.

و والپروات سدیم به همراه ویتامین E اختلاف معنی‌داری نداشتند، اما نسبت به میانگین طول در گروه دریافت‌کننده والپروات سدیم به طور معنی‌داری کمتر بود.



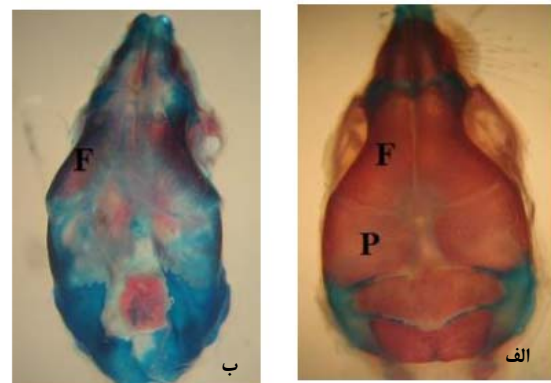
شکل 5. تصویر استریومیکروسکوپی نمای پشتی ستون مهره‌ی جنین ۲۰ روزه‌ی موش صحرایی (رنگ‌آمیزی آلزارین قرمز-آلسین آبی). الف) نمای پشتی ستون مهره‌ی جنین سالم موش صحرایی (زیاده‌ی شوکی: SP)؛ ب) مهره‌ی شکاف‌دار (اسپاینا بیفیدا) با پیکان قرمز رنگ و عدم استخوانی شدن دنده‌ی آخر با پیکان سیاه مشاهده می‌شود.

همچنین، اگر چه میزان کاهش ناهنجاری‌ها در گروه دریافت‌کننده والپروات سدیم به همراه ویتامین E نسبت به گروه دریافت‌کننده والپروات سدیم به همراه کارودیلول بیشتر بود، اما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.



شکل 6. تصویر استریومیکروسکوپی نمای شکمی ستون مهره‌ی جنین ۲۰ روزه‌ی موش صحرایی (رنگ‌آمیزی آلزارین قرمز-آلسین آبی). الف) بدنه‌ی مهره‌های ستون مهره‌ی جنین سالم موش صحرایی دارای یک مرکز استخوان‌سازی است. ب) بدنه‌ی مهره‌های جنین ناهنجار، دارای حداقل دو مرکز استخوان‌سازی است که به یکدیگر جوش خورده‌اند.

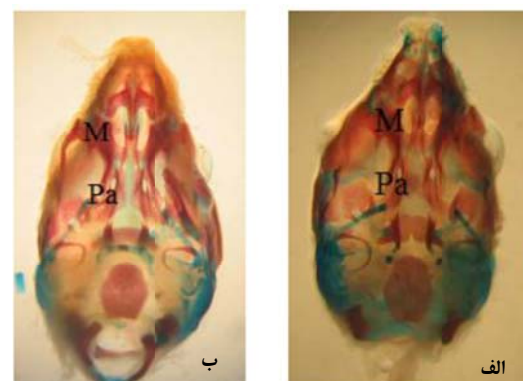
همچنین، بر اساس نتایج به دست آمده، مشخص گردید بیشترین درصد ناهنجاری در گروه دریافت‌کننده والپروات سدیم مربوط به مهره‌ی شکاف‌دار بود، اما پس از تجویز کارودیلول همراه با والپروات سدیم و ویتامین E همراه با والپروات سدیم، بیشترین درصد ناهنجاری مربوط به شکاف کام بود. با توجه به تشکیل مهره و تزریق



شکل 3. تصویر استریومیکروسکوپی نمای پشتی جمجمه‌ی جنین ۲۰ روزه‌ی موش صحرایی (رنگ‌آمیزی آلزارین قرمز-آلسین آبی). الف) در نمای پشتی جمجمه‌ی سالم جنین موش صحرایی استخوان‌های پیشانی (F) و آهیانه‌ی (P) به صورت طبیعی مشاهده می‌شوند. ب) این استخوان‌ها به صورت کامل تشکیل نشده است و مغز به راحتی از آن بیرون می‌زند و موجب اگزوسفال می‌شود.

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، مشاهده گردید که استفاده از والپروات سدیم، به طور معنی‌داری باعث کاهش وزن و طول جنین‌ها گردید.



شکل 4. تصویر استریومیکروسکوپی سطح شکمی جمجمه‌ی جنین ۲۰ روزه‌ی موش صحرایی پس از برداشتن فک پایین (رنگ‌آمیزی آلزارین قرمز-آلسین آبی). الف) نمای شکمی جمجمه‌ی جنین سالم موش صحرایی (استخوان کام: Pa و فک بالا: M)؛ ب) نمای شکمی جمجمه‌ی جنین دارای ناهنجاری شکاف کام (شکاف بین دو قسمت Pa) مشاهده می‌شود.

میانگین وزن جنین‌ها در گروه دریافت‌کننده والپروات سدیم به همراه ویتامین E به طور معنی‌داری بیشتر از میانگین وزن جنین‌ها در سایر گروه‌ها بود. همچنین، مشاهده شد اگر چه میانگین طول جنین‌ها در گروه دریافت‌کننده والپروات سدیم به همراه کارودیلول

والپروات سدیم، تجویز این دارو تأثیر بیشتری روی تشکیل مهره‌ی شکاف‌دار داشت.

والپروات سدیم، تجویز این دارو تأثیر بیشتری روی تشکیل مهره‌ی شکاف‌دار داشت.

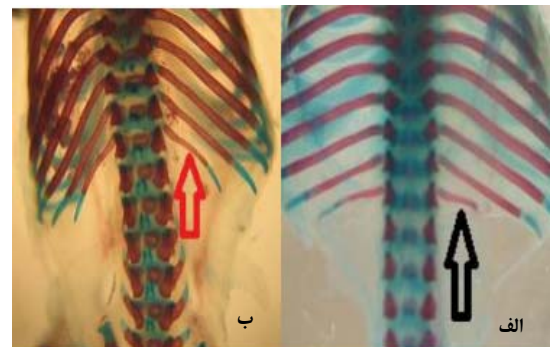
ساختمان غشاهای جفتی که تحت تأثیر والپروات سدیم ایجاد شده است، علت جذب شدن جنین‌ها باشد (۲۲).
Massa و همکاران، مطالعه‌ای بر روی موش‌های سوری آبستن از نظر ناهنجاری اسکلتی ناشی از والپروئیک اسید انجام دادند و گزارش نمودند که تجویز دارو در روز ۸/۵ پس از جفت‌گیری با دز ۲/۷۲ یا ۱/۳۶ مول/کیلوگرم والپروات سدیم به صورت داخل صفاقی باعث بروز ناهنجاری‌های اسکلتی می‌شود (۲۳) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد.

Faiella و همکاران بیان کردند که تجویز داروی والپروات سدیم با دز ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش در روزهای ۸ و ۹ آبستنی، باعث کاهش وزن و ایجاد ناهنجاری اسکلتی از قبیل شکاف کام، ناهنجاری در اندام مانند اسپینایفیدا و ناهنجاری در دنده می‌شود (۱۷) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد.

خاکساری مهابادی و همکاران، اثر پیش‌گیری‌کننده‌ی ملاتونین و کارودیلول در ایجاد شکاف کام و ناهنجاری‌های اسکلتی ایجاد شده توسط سیکلوسفامید را در جنین موش مورد مطالعه قرار دادند. در روز ۱۰ آبستنی، سیکلوسفامید با دز ۲۰ میلی‌گرم، ملاتونین با دز ۱۰ میلی‌گرم و کارودیلول با دز ۵ میلی‌گرم در روز ۱۰ آبستنی تزریق شد. درصد بروز شکاف کام در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی ملاتونین و کارودیلول کاهش یافت. ناهنجاری‌های اسکلتی ایجاد شده شامل نقص مهره‌ای و نقص در جناغ بود که در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی ملاتونین و کارودیلول کاهش یافت. همچنین، بیان شد که کارودیلول اثر پروفیلاکتیک بیشتری برای مهار سیکلوسفامید در ایجاد شکاف کام و ناهنجاری‌های اسکلتی دارد (۴).

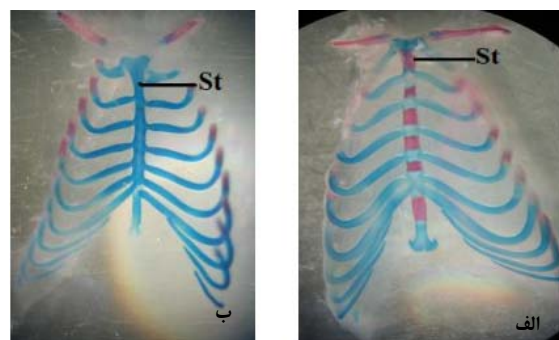
خواص آنتی‌اکسیدانی کارودیلول در مطالعات متعدد به اثبات رسیده است. به عنوان مثال، رشیدی و همکاران در بررسی اثر کارودیلول و اسانس باریجه بر روی ناهنجاری‌های سیستم اسکلتی ناشی از کافئین در جنین موش صحرایی، گزارش نمودند که درصد ناهنجاری‌های شکاف کام، در گروه دریافت‌کننده‌ی کافئین با دز ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش ۳۳/۳۳ درصد بود. میزان وقوع این ناهنجاری در گروه دریافت‌کننده‌ی کافئین همراه با کارودیلول به ۲/۸۵ درصد و در گروه دریافت‌کننده‌ی کافئین همراه با باریجه به ۸/۳ درصد کاهش یافت. میانگین وزن جنین‌ها در گروه دریافت‌کننده‌ی کافئین همراه با کارودیلول و کافئین همراه با باریجه، به طور معنی‌داری بیشتر از گروه دریافت‌کننده‌ی کافئین به تنهایی بود (۲۴).

همچنین بیان شده است که تجویز کارودیلول با دز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، باعث ایجاد ناهنجاری‌های ظاهری و اسکلتی در جنین موش‌ها نشده است (۴). همچنین، Singh و



شکل ۷. تصویر استریومیکروسکوپی نمای پشتی ستون مهره و دنده‌های شناور جنین ۲۰ روزه‌ی موش صحرایی (رنگ‌آمیزی آلزاین قرمز-آلسین آبی). الف) دنده‌ی سیزدهم به صورت ناقص (غضروف دنده‌ای تشکیل نشده است) با پیکان سیاه و ب) دنده‌ی سیزدهم به صورت کامل با پیکان قرمز رنگ نشان داده شده است.

مطالعات متعددی در مورد ناهنجاری‌های اسکلتی در جنین به دنبال استفاده از والپروات سدیم انجام شده است. برای مثال، Ehlers و همکاران (۸) و نیز Finnell و همکاران (۲۱)، در بررسی اساس تراژونزیسته والپروئیک اسید در موش آزمایشگاهی، مشاهده کردند که تجویز والپروئیک اسید در روز ۸/۵ آبستنی، علاوه بر ناهنجاری‌ها در اندام‌ها از جمله سین‌داکتیلی، اسپینایفیدا و اولیگوداکتیلی، منجر به عدم موفقیت در بسته شدن طناب عصبی جمجمه‌ای گردید که با برخی از نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد.



شکل ۸. تصویر استریومیکروسکوپی جناغ جنین ۲۰ روزه‌ی موش صحرایی (رنگ‌آمیزی آلزاین قرمز-آلسین آبی). الف) مهره‌های جناغی (St) در جنین سالم ۲۰ روزه‌ی موش صحرایی؛ ب) عدم استخوانی شدن مهره‌های جناغ به خوبی قابل مشاهده می‌باشد.

Elmazar و همکاران بیان داشته‌اند که ممکن است اثر سمی مستقیم دارو یا وضع نامناسب جنین‌ها در اثر تغییرات دژنراتیو

کردند که ویتامین E با دز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، وقوع شکاف کام ناشی از فنی‌توئین را به طور معنی‌داری کاهش داد. آن‌ها وقوع شکاف کام را در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی فنی‌توئین ۱۶/۶۶ درصد گزارش کردند؛ در حالی‌که با مصرف ویتامین E، این مقدار به ۲/۷۷ درصد کاهش یافت. تجویز ویتامین E با این دز، هیچ‌گونه ناهنجاری اسکلتی را در جنین موش‌ها نشان نداد (۲۶).

خاکساری مهابادی و همکاران، با بررسی اثر پیش‌گیری‌کننده‌ی ملاتونین ویتامین E بر روی ناهنجاری‌های اسکلتی ناشی از آرسنیک در جنین موش صحرائی، گزارش نمودند که ویتامین E با دز ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، درصد وقوع ناهنجاری‌های جنینی ناشی از آرسنیک را به شکل معنی‌داری کاهش داد. درصد ناهنجاری‌های شکاف کام، مهره‌ی شکاف‌دار، چسبیدن دنده‌ها و ناهنجاری جناغ در گروه دریافت‌کننده‌ی آرسنیک به ترتیب ۵۰، ۵۰ و ۲۰ درصد گزارش گردید؛ در حالی‌که میزان این ناهنجاری‌ها در گروه دریافت‌کننده‌ی ویتامین E به ۲۲/۲۲، ۱۸/۵۰، صفر و ۲۲/۲۲ درصد کاهش یافت. همچنین، تجویز ویتامین E با این دز، هیچ‌گونه ناهنجاری ظاهری و اسکلتی را در جنین موش‌ها نشان نداد (۱۶).

در مطالعه‌ی حاضر، مشخص شد که تجویز کارودیلول و ویتامین E اگر چه منجر به کاهش درصد ناهنجاری‌های اسکلتی جنین موش صحرائی گردید، اما این کاهش در گروه دریافت‌کننده‌ی والپروات سدیم به همراه ویتامین E نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی والپروات سدیم به همراه کارودیلول بیشتر بود و این اختلاف از نظر آماری معنی‌داری نبود، اما ویتامین E بر روی تغییرات وزن جنین‌ها اثر محافظتی بیشتری داشت.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر، برگرفته از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکتری حرفه‌ای دام‌پزشکی با کد ۹۴۷۹۱۰۳۷ می‌باشد. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به دلیل تأمین اعتبار مالی این مطالعه سپاسگزاری می‌گردد.

همکاران در مطالعه‌ی خود بیان نمودند که کارودیلول با دز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، می‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کند (۱۸). Morsy و همکاران، بیان نمودند که تجویز کارودیلول با دزهای ۱۰ و ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود، نفروپاتی ناشی از دیابت ایجاد شده با استرپتوزوتوسین با دز ۶۵ میلی‌گرم/کیلوگرم را کاهش داد (۲۵).

خاکساری مهابادی و همکاران، اثر پیش‌گیری‌کننده‌ی ملاتونین و کارودیلول در ایجاد شکاف کام و ناهنجاری‌های اسکلتی ایجاد شده توسط سیکلوسفامید در جنین موش صحرائی را مورد مطالعه قرار دادند. در روز ۱۰ آبستنی، سیکلوسفامید با دز ۲۰ میلی‌گرم، ملاتونین با دز ۱۰ میلی‌گرم و کارودیلول با دز ۵ میلی‌گرم در روز ۱۰ آبستنی تزریق شد. درصد بروز شکاف کام در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی ملاتونین و کارودیلول کاهش یافت. ناهنجاری‌های اسکلتی ایجاد شده، شامل نقص مهره‌ای و نقص در جناغ بود که در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی ملاتونین و کارودیلول کاهش یافت. همچنین، بیان شد کارودیلول اثر پروفیلکتیک بیشتری برای مهار سیکلوسفامید در ایجاد شکاف کام و ناهنجاری‌های اسکلتی دارد (۴) که در این مطالعه نیز کارودیلول با دز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم توانست ناهنجاری‌های ناشی از سدیم والپروات را کاهش دهد.

Kumar و همکاران، گزارش کردند که کارودیلول به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود، اگر به میزان ۲ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن موش صحرائی به صورت داخل صفاقی تجویز شود، از مسمومیت کلیوی ناشی از مصرف جنتامایسین با دز ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن جلوگیری می‌کند (۱۳).

در مطالعه‌ی حاضر، ویتامین E توانست ناهنجاری‌های جنینی ناشی از والپروات سدیم را کاهش دهد که این تأثیر در مطالعات دیگران هم گزارش گردید. به عنوان مثال، خاکساری مهابادی و نجف‌زاده در مقایسه‌ی اثر ویتامین E و سیلیمارین بر روی ناهنجاری‌های جنینی ناشی از فنی‌توئین در موش صحرائی مشاهده

References

1. Defoort EN, Kim PM, Winn LM. Valproic acid increases conservative homologous recombination frequency and reactive oxygen species formation: A potential mechanism for valproic acid-induced neural tube defects. *Mol Pharmacol* 2006; 69(4): 1304-10.
2. Giavini E, Menegola E. Gene-teratogen interactions in chemically induced congenital malformations. *Biol Neonate* 2004; 85(2): 73-81.
3. Lloyd KA. A scientific review: Mechanisms of valproate-mediated teratogenesis. *Biosci Horiz* 2013; 6: hzt003.
4. Khaksary Mahabady M, Najafzadeh Varzi H, Bakhtiari E. The effects of cyclophosphamide, melatonin and carvedilol on neural tube and skeletal system of mice fetuses in prenatal period. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* 2011; 193(5): 459-65.
5. Rengasamy P, Padmanabhan RR. Experimental studies on cervical and lumbar ribs in mouse embryos. *Congenit Anom (Kyoto)* 2004; 44(3): 156-71.
6. Menegola E, Broccia ML, Prati M, Giavini E. Stage-dependent skeletal malformations induced by valproic acid in rat. *Int J Dev Biol* 1998; 42(1): 99-102.
7. Menegola E, Broccia ML, Di RF, Giavini E.

- Comparative study of sodium valproate-induced skeletal malformations using single or double staining methods. *Reprod Toxicol* 2002; 16(6): 815-23.
8. Ehlers K, Sturje H, Merker HJ, Nau H. Valproic acid-induced spina bifida: A mouse model. *Teratology* 1992; 45(2): 145-54.
 9. Khaksary Mahabady M, Najafzadeh Varzi H, Ranjbar R, Rahgazar O. Prophylactic effects of melatonin on sodium valproate-induced neural tube defects and skeletal malformations in rat embryos. *Am J Appl Sc* 2011; 8(5): 413-9.
 10. Abdel Salam G, Abd Alaziz Allam O. The effects of valproic acid on the skeletal development and the ameliorative effects of combined use of folic acid and vitamin E in pregnant albino rats. *Int J Clin Dev Anat* 2015; 1(3): 70-8.
 11. Pecivova J, Macickova T, Lojek A, Gallova L, Ciz M, Nosal' R, et al. Effect of carvedilol on reactive oxygen species and enzymes linking innate and adaptive immunity. *Neuro Endocrinol Lett* 2006; 27(Suppl 2): 160-3.
 12. Yoshioka T, Iwamoto N, Tsukahara F, Irie K, Urakawa I, Muraki T. Anti-NO action of carvedilol in cell-free system and in vascular endothelial cells. *Br J Pharmacol* 2000; 129(7): 1530-5.
 13. Kumar A, Dogra S, Prakash A. Effect of carvedilol on behavioral, mitochondrial dysfunction, and oxidative damage against D-galactose induced senescence in mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2009; 380(5): 431-41.
 14. Yue TL, McKenna PJ, Lysko PG, Ruffolo RR, Jr., Feuerstein GZ. Carvedilol, a new antihypertensive, prevents oxidation of human low density lipoprotein by macrophages and copper. *Atherosclerosis* 1992; 97(2-3): 209-16.
 15. Boskovic R, Gargaun L, Oren D, Djulus J, Koren G. Pregnancy outcome following high doses of Vitamin E supplementation. *Reprod Toxicol* 2005; 20(1): 85-8.
 16. Khaksary Mahabady M, Najafzadeh Varzi H, Ranjbar R, Mehrzadi S. Melatonin and vitamin E protects against sodium arsenite-induced skeletal malformations in rats. *Am-Euras J Toxicol Sci* 2011; 3(3): 184-9.
 17. Faiella A, Wernig M, Consalez GG, Hostick U, Hofmann C, Hustert E, et al. A mouse model for valproate teratogenicity: Parental effects, homeotic transformations, and altered HOX expression. *Hum Mol Genet* 2000; 9(2): 227-36.
 18. Singh A, Naidu PS, Gupta S, Kulkarni SK. Effect of natural and synthetic antioxidants in a mouse model of chronic fatigue syndrome. *J Med Food* 2002; 5(4): 211-20.
 19. Aksoy N, Vural H, Sabuncu T, Arslan O, Aksoy S. Beneficial effects of vitamins C and E against oxidative stress in diabetic rats. *Nutr Res* 2005; 25(6): 625-30.
 20. Cruz YP. *Laboratory exercises in developmental biology*. New York, NY: Academic Press; 1993.
 21. Finnell RH, Bennett GD, Karras SB, Mohl VK. Common hierarchies of susceptibility to the induction of neural tube defects in mouse embryos by valproic acid and its 4-propyl-4-pentenoic acid metabolite. *Teratology* 1988; 38(4): 313-20.
 22. Elmazar MM, Thiel R, Nau H. Effect of supplementation with folic acid, vitamin B6, and vitamin B12 on valproic acid-induced teratogenesis in mice. *Fundam Appl Toxicol* 1992; 18(3): 389-94.
 23. Massa V, Cabrera RM, Menegola E, Giavini E, Finnell RH. Valproic acid-induced skeletal malformations: associated gene expression cascades. *Pharmacogenet Genomics* 2005; 15(11): 787-800.
 24. Rashidi F, Khaksary-Mahabady M, Ranjbar R, Najafzadeh-Varzi H. The effects of essential oil of galbanum on caffeine induced-cleft palate in rat embryos. *Zahedan J Res Med Sci* 2014; 16(2): 37-41.
 25. Morsy MA, Ibrahim SA, Amin EF, Kamel MY, Abdelwahab SA, Hassan MK. Carvedilol ameliorates early diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *BioMed Res Int* 2014; 2014: 105214.
 26. Khaksary Mahabady M, Najafzadeh Varzi H. A compression study of effects of vitamin E and silymarin on phenytoin-induced cleft palate in rats. *J Biol Sci* 2009; 9(4): 381-4.

The Effects of Carvedilol and Vitamin E on Sodium Valproate-Induced Skeletal Teratogenicity in Rat Fetuses

Reza Ranjbar¹, Fatemeh Hosseini-Siahi², Mahmood Khaksary-Mahabady², Hossein Njafzadeh-Varzi³

Original Article

Abstract

Background: Sodium valproate, an anticonvulsant drug, has teratogenic effects on humans' and animals' skeletal system via causing free radicals and oxidative stress. Carvedilol has beta-blocker, antioxidant and anti-inflammatory effects and was the benefit in diseases such as diabetes and renal failure and has protective effect in experimental oxidative stress models. The aim of this study was to compare the roles of carvedilol and vitamin E (a well-known antioxidant) in reducing or preventing skeletal abnormalities from sodium valproate in rat fetuses.

Methods: This study was performed on 30 pregnant rats in four groups. On 8th and 9th days of pregnancy, for first (control) to fourth groups, intraperitoneal normal saline, sodium valproate (300 mg/kg), sodium valproate (300 mg/kg) plus carvedilol (5 mg/kg), and valproate sodium (300 mg/kg) plus vitamins E (100 mg/kg) were administrated, respectively. On the 20th day of pregnancy, all rats were euthanized and fetuses were extracted. Weight and height were determined, skeletal system samples were stained by Alizarin red-alcian blue method, and skeletal system was examined by stereomicroscope.

Findings: In fetuses of sodium valproate group, the incidence rates of exencephaly, cleft palate, spina bifida, and omphalocele were 14.58%, 14.58%, 16.66%, and 10.41%, respectively. However, it decreased to 6.55%, 8.19%, 6.55%, and 8.19% by carvedilol and so to 3.5%, 8.75%, 3.5%, and 3.5% by vitamin E, respectively. The mean length of fetuses in sodium valproate group plus carvedilol and sodium valproate plus vitamin E was significantly less than the mean length in the control group but did not have significant differences with each other. The mean fetal weight in sodium valproate plus vitamin E group was significantly more than sodium valproate and sodium valproate plus carvedilol, although it was lower than the control group.

Conclusion: Carvedilol and vitamin E had similar effects on fetal skeletal abnormality and changes of fetal length caused by sodium valproate; but vitamin E was more protective against fetal weight changes.

Keywords: Valproate, Carvedilol, Vitamin E, Drug-induced abnormalities, Gestation

Citation: Ranjbar R, Hosseini-Siahi F, Khaksary-Mahabady M, Njafzadeh-Varzi H. **The Effects of Carvedilol and Vitamin E on Sodium Valproate-Induced Skeletal Teratogenicity in Rat Fetuses.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(448): 1289-97.

1- Associate Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- DVM, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3- Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Reza Ranjbar, Email: dabir120@yahoo.com

بررسی اپیدمیولوژیک عوامل جمعیت‌شناختی و پایه‌ای بالینی مبتلایان به بیماری مزمن کلیوی شهر اصفهان در

بازه‌ی زمانی ۹۰-۱۳۷۵

شهرزاد شهیدی^۱، اسماعیل هادی‌زاده^۲، پوریا شعبانی^۲، آوات فیضی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیماری مزمن کلیوی (Chronic kidney disease یا CKD) یک بیماری پیش‌رونده است. به دنبال افزایش بیش از پیش چاقی و دیابت، شیوع CKD در حال افزایش است. شیوع CKD در ایران، ۶/۵-۲۳/۷ برآورد شده است. پیشرفت CKD به طور عمده به خاطر عوامل ثانویه‌ای می‌باشد که اغلب ارتباطی به فعالیت بیماری اولیه ندارند. عوامل ثانویه، شامل عوامل جمعیت‌شناختی، عوامل بالینی و الگوی مصرف داروهای کاهنده‌ی فشار خون می‌باشد. این مطالعه، با هدف بررسی اپیدمیولوژیک عوامل جمعیت‌شناختی و پایه‌ای بالینی مبتلایان به بیماری مزمن کلیوی در شهر اصفهان در سال‌های ۹۰-۱۳۷۵ انجام شد.

روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر، یک مطالعه‌ی مقطعی بود که بر روی ۵۰۴ بیمار مبتلا به بیماری مزمن کلیوی در پاییز سال ۱۳۹۴ انجام شد. با استفاده از پرسش‌نامه، اطلاعات مربوط به وزن، قد و شاخص توده‌ی بدنی، داروهای کاهنده‌ی فشار خون، فشار خون پایه و سالیانه‌ی بیمار، بیماری زمینه‌ای، پروتئینوری، میزان کراتینین و فیلتراسیون گلومرولی تخمین زده شده از پرونده‌ی بیماران استخراج شد.

یافته‌ها: از ۵۰۴ شرکت کننده، ۴۸/۶ درصد مرد و ۵۱/۴ درصد زن بودند. میانگین سنی جمعیت ۱۷/۰۶ ± ۴۶/۶۴ سال بود. میانگین فیلتراسیون گلومرولی برآورد شده‌ی اولیه در بیماران ۳۲/۰۵ ± ۷۳/۳۳ میلی‌لیتر/دقیقه/۱/۷۳ مترمربع بود. ۵۵/۴ درصد بیماران پروتئینوری داشتند. ۳۲/۱ درصد افراد مبتلا به دیابت بودند. گروه دارویی Vasodilator و ACE inhibitor (Angiotensin converting enzyme inhibitors) به ترتیب با توزیع فراوانی ۷۶/۹ و ۰/۶ درصد، پرمصرف‌ترین و کم‌مصرف‌ترین داروها بودند.

نتیجه‌گیری: ویژگی‌های جمعیت‌شناختی و پایه‌ای بالینی در این مطالعه به طور تقریبی مشابه سایر مطالعات انجام شده در کشور بود؛ با این تفاوت اساسی که درصد قابل توجهی از بیماران را افراد جوان‌تر تشکیل می‌دادند. شیوع دیابت و گلومرولونفریت از اغلب آمارهای ذکر شده در ایران بیشتر بود. الگوی مصرف داروهای کاهنده‌ی فشار خون نیز با الگوی ذکر شده در راهنماها مطابقت بیشتری داشت. سرعت کاهش Estimated glomerular filtration rate (eGFR) سالانه به طور قابل توجهی کند می‌باشد که قابل توجه است.

واژگان کلیدی: بیماری مزمن کلیه، عوامل جمعیت‌شناختی، عوامل بالینی

ارجاع: شهیدی شهرزاد، هادی‌زاده اسماعیل، شعبانی پوریا، فیضی آوات. بررسی اپیدمیولوژیک عوامل جمعیت‌شناختی و پایه‌ای بالینی مبتلایان به

بیماری مزمن کلیوی شهر اصفهان در بازه‌ی زمانی ۹۰-۱۳۷۵. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۸): ۱۳۰۸-۱۲۹۸

eGFR بیمار کمتر از ۶۰ میلی‌لیتر/دقیقه/۱/۷۳ مترمربع باشد، یا این که یافته‌ای مبنی بر آسیب کلیه مانند پروتئینوری، تن‌نشست ادراری غیر طبیعی، پاتولوژی یا یافته‌ی تصویربرداری غیر طبیعی بافت کلیه به مدت بیشتر از سه ماه وجود داشته باشد، بیمار مبتلا به CKD تلقی می‌شود (۱-۳).

احتمال می‌رود به دنبال افزایش بیش از پیش چاقی و دیابت،

مقدمه

بیماری مزمن کلیوی (Chronic kidney disease یا CKD) یک بیماری پیش‌رونده و به ندرت قابل برگشت است. طبق یکی از معروف‌ترین تقسیم‌بندی‌ها، CKD بر اساس میزان فیلتراسیون گلومرولی تخمین زده شده (Estimated glomerular filtration rate یا eGFR) و وجود آسیب کلیوی تعریف می‌گردد. در صورتی که

۱- استاد، مرکز تحقیقات بیماری‌های کلیه و گروه نفرولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۳- دانشیار، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

بیماران وجود دارد. مطالعات کمی در ارتباط با تعدادی از دارو های کاهنده ی فشار خون مصرفی و میزان کنترل فشار در بیماران CKD وجود دارد (۲۲-۱۸).

از دیگر عوامل ثانویه ی مؤثر در روند بیماری مزمن کلیوی، می توان به عوامل جمعیت شناختی اشاره نمود. برای مثال، مصرف سیگار به عنوان یک عامل خطر برای بیماری مزمن کلیوی به خصوص در افراد مبتلا به دیابت محسوب می شود؛ هر چند که خطر آن به صورت دقیق تعیین نشده است (۲۴-۲۳). چاقی و شاخص توده ی بدنی بالا نیز عوامل دیگری هستند که با پیشرفت بیماری مزمن کلیوی به مرحله ی سه و بالاتر در هر دو جنس مرتبط می باشند (۲۵). جنسیت نیز از سایر عوامل جمعیت شناختی مؤثر می باشد؛ برای مثال، شیوع این بیماری در زنان مبتلا به دیابت در مقایسه با مردان مبتلا به دیابت بیشتر است (۲۶).

با توجه به این که عوامل ثانویه نظیر عوامل جمعیت شناختی، عوامل بالینی و همچنین، الگوی مصرف داروهای کاهنده ی فشار خون در روند بیماری مزمن کلیوی اهمیت به سزایی دارند و اطلاعات محدودی از این عوامل در جمعیت ایرانی موجود می باشد، مطالعه ی حاضر با هدف بررسی برخی از این عوامل در یک جمعیت ایرانی مبتلا به CKD انجام شد.

روش ها

نوع مطالعه و شرکت کنندگان: مطالعه ی حاضر، یک مطالعه ی مقطعی توصیفی - تحلیلی بود که به صورت گذشته نگر در سال ۱۳۹۴ بر روی ۵۰۴ بیمار مبتلا به بیماری مزمن کلیوی که طی سال های ۹۰-۱۳۷۵ به یک درمانگاه نفرولوژی در شهر اصفهان مراجعه کرده بودند، انجام شد. در ابتدا، با استفاده از پرسش نامه، اطلاعات مورد نظر از پرونده ی بیماران استخراج شد. پرونده ی بیمارانی که زمان ورودشان به درمانگاه در سال های ۹۰-۱۳۷۵ بود و یکی از معیارهای CKD را داشتند، یعنی برای بیشتر از سه ماه میزان eGFR کمتر از ۶۰ میلی لیتر/دقیقه/۱/۷۳ مترمربع بود یا شواهدی از آسیب کلیوی (مانند پروتئینوری، ته نشین ادراری غیر طبیعی، پاتولوژی یا یافته ی تصویربرداری غیر طبیعی بافت کلیه) داشتند (۳)، مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات هر بیمار در صورت وجود معیار ورود، تا سال ۱۳۹۴ یا تا زمانی که بیمار پیوند کلیه یا دیالیز شود، وارد پرسش نامه می شد. در این پرسش نامه، اطلاعات دموگرافیک بیمار شامل سن (سال)، جنسیت (مرد یا زن)، وزن (کیلوگرم)، قد (متر)، شاخص توده ی بدنی (Body mass index یا BMI) و مصرف یا عدم مصرف سیگار ثبت گردید.

در این پرسش نامه، اطلاعات بیماران در پنج حوزه ی اصلی شامل

شیوع CKD در حال افزایش است؛ به طوری که مطالعات اخیر نشان داده اند که در ایالات متحده، بین ۱۴/۵-۱۱/۵ درصد از بالغین در مراحل ابتدایی تا پیشرفته ای از CKD قرار دارند (۴). همچنین، شیوع مرحله ی انتهایی بیماری کلیوی (End stage renal disease یا ESRD) نیز در حال افزایش است (۵). شیوع CKD در مناطق مختلف دنیا متفاوت است؛ به طوری که شیوع CKD در ایران ۶/۵-۲۳/۷ درصد و در مکزیک، تا ۳۳ درصد برآورد شده است (۶-۷). با این افزایش شیوع چشم گیر، بار تحمیلی به سیستم بهداشتی نیز افزایش می یابد و بیماران ESRD هزینه ی درمانی بسیار زیادی را باید متقبل شوند؛ برای مثال، هزینه ی این بیماران فقط در ایالات متحده ی امریکا در سال ۲۰۱۱ نزدیک به ۴۹ میلیارد دلار بوده است (۸-۹).

بیماری مزمن کلیوی، در زمینه ی بیماری های متفاوتی شامل گلوومرولونفریت مزمن، نفروپاتی دیابتی و بیماری کلیه ی پلی کیستیک به سمت ESRD پیشرفت می کند. البته؛ اختلالات دیگری نیز CKD را همراهی می کنند، مانند اختلالات متابولیکی که شامل هایپرفسفاتمی، کمبود ویتامین D و اسیدوز متابولیک می باشند. اگر چه این مشکلات زمینه ای را نمی توان درمان کرد، اما مطالعات گسترده بر روی حیوانات آزمایشگاهی و انسان ها نشان داده اند که پیشرفت CKD ممکن است به طور عمده به خاطر عوامل ثانویه ای باشد که اغلب هم ارتباطی به فعالیت بیماری اولیه ندارند. این عوامل، شامل فشار خون سیستمیک بالا و اینترا گلوومرولار، هایپرتروفی گلوومرولار، هایپرلیپیدمی، پروتئینوری و رسوب کلسیم فسفات داخل کلیوی هستند. شواهد زیادی حاکی از آن است که بیمارانی که پیشرفت CKD در آن ها سریع تر بوده است، ویژگی های بالینی خاصی داشته اند که از جمله ی آن ها، می توان به بیماری پرفشاری خون اشاره نمود. این بیماری، به عنوان دومین عامل خطر قابل تغییر مؤثر در پیشرفت بیماری شناخته شده است و عامل مستقلی در پیش بینی سرعت پیشرفت CKD می باشد (۱۶-۱۰).

با توجه به مطالب پیش گفته، داروهای کاهنده ی فشار خون با سه هدف کاهش فشار خون در بیماران، کاهش خطر بیماری های قلبی - عروقی (Cardiovascular diseases یا CVDs) و کاهش پیشرفت بیماری در این بیماران مورد استفاده قرار می گیرند؛ به طوری که با مصرف این داروها، میزان پیشرفت CKD ۳۰-۵۰ درصد کاهش می یابد و نیز احتمال CVD ۴۰-۷۰ درصد کاهش می یابد (۱۷). بنابراین، فشار خون $\geq 130/80$ میلی متر جیوه در این بیماران در حضور پروتئینوری توصیه می شود (۳). با وجود اثر مهم داروهای کاهنده ی فشار خون در بیماران CKD و اثر آن ها در کند کردن سیر بیماری، اطلاعات کمی در مورد الگوی مصرف این داروها در این

(۱) اطلاعات مربوط به وزن، قد و شاخص توده بدنی، (۲) اطلاعات مربوط به فشار خون پایه و سالیانه‌ی بیمار، (۳) اطلاعات مربوط به داروهای کاهنده‌ی فشار خون، (۴) اطلاعات مربوط به بیماری‌های زمینه‌ای شامل دیابت، بیماری پرفشاری خون، گلوپرونیفریت، بیماری‌های خود ایمنی مانند لوپوس و بیماری‌های کیستیک کلیوی و (۵) میزان کراتینین و فیلتراسیون گلوبولینی تخمین زده شده با فرمول Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) ثبت گردید. این مقادیر در بدو ورود، شش ماه بعد و سپس تا ۵ سال سالانه و در نهایت تا زمان خروج از مطالعه هر سه سال یک بار ثبت گردید (۲۸-۲۷):

$$eGFR = 141 \times \min(S_{Cr}/\kappa, 1)^{\alpha} \times \max(S_{Cr}/\kappa, 1)^{-1.209} \times 0.993^{Age} \times 1.018 \text{ [if female]}$$

در فرمول بالا، S_{Cr} میزان کراتینین سرم بیمار است و میزان κ برای مردان ۰/۹ و برای زنان ۰/۷ می باشد، میزان α برای مردان ۰/۴۱۱- و برای زنان ۰/۳۲۹- است. منظور از \min کمترین میزان S_{Cr}/κ یا ۱ و منظور از \max بیشترین میزان S_{Cr}/κ یا ۱ می باشد. منظور از age نیز سن بیمار مورد نظر است.

پایش فشار خون: در صورتی که بیمار سابقه‌ی بیماری پرفشاری خون را ذکر می‌کرد یا سابقه‌ی مصرف داروی کاهنده‌ی فشار خون داشت، یا در اولین ویزیت در دو نوبت فشار خون سیستول ≤ 140 میلی‌متر جیوه و یا فشار خون دیاستول ≤ 90 میلی‌متر جیوه ثبت می‌شد، بیمار در بدو ورود، مبتلا به بیماری پرفشاری خون تلقی می‌شد. همچنین، در بررسی سالانه در هر ویزیت، میزان فشار خون سیستول و دیاستول بیماران ثبت گردید.

اطلاعات مربوط به ۹ گروه دارویی و ۲۲ داروی کاهنده‌ی فشار خون ثبت گردید. برای هر دارو زمان آغاز، دز مصرفی، زمان اتمام مصرف دارو و دز دارو در زمان قطع ثبت گردید.

جهت تعیین BMI (کیلوگرم/مترمربع) از وزن بیماران به کیلوگرم و قد به متر استفاده شد و به سه دسته‌ی $BMI > 18.5$ ، $18.5 \leq BMI < 24.9$ و $BMI \leq 18.5$ تقسیم‌بندی گردید. پروتئینوری بیماران نیز با استفاده از مشاهده‌ی کامل ادرار تعیین گردید و پس از رد علل مثبت کاذب پروتئینوری (از جمله pH ادراری بیشتر از ۷، ادرار بسیار غلیظ یا ادرار بسیار رقیق و همچنین، ادرار آلوده به خون) در سه سطح +۱، +۲ و $\leq +3$ در بدو ورود بیماران ثبت شد. سایر موارد ذکر شده در تعریف بیماری مزمن کلیوی مانند سایر اختلالات ته نشست ادراری، تنها جهت تشخیص بیماری و ورود بیماران به مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. تنها پروتئینوری بیماران جهت بررسی بیشتر در پرسش‌نامه ثبت گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹

یافته‌ها

این مطالعه، بر روی ۵۰۴ بیمار مبتلا به بیماری مزمن کلیوی انجام شد. از بین شرکت کنندگان در مطالعه، ۴۸/۶ درصد (۲۴۵ نفر) مرد و ۵۱/۴ درصد (۲۵۹ نفر) زن بودند. میانگین سنی جمعیت ۱۷/۰۶ \pm ۴۶/۶۴ سال بود. همچنین، میانگین فیلتراسیون گلوبولینی تخمین زده شده‌ی اولیه در بیماران ۳۲/۰۵ \pm ۷۳/۳۳ میلی‌لیتر/دقیقه/۱/۷۳ مترمربع بود.

گزارش سایر متغیرهای جمعیت‌شناختی و پایه‌ای بالینی در کل جمعیت، به تفکیک گروه‌های سنی و به تفکیک جنسیت در جدول ۱ آمده است. شیوع دیابت و بیماری پرفشاری خون به طور معنی‌داری ($P < 0.001$) در هر دو مورد) با افزایش سن افزایش یافت و شیوع گلوبولونفریت ($P < 0.020$) و بیماری خود ایمنی ($P < 0.001$)، به طور معنی‌داری با افزایش سن کاهش پیدا کرد. مقایسه‌ی شیوع گلوبولونفریت ($P = 0.030$) و بیماری خود ایمنی ($P = 0.010$) در زنان و مردان نشان داد که شیوع این بیماری‌ها به طور معنی‌داری در زنان بیشتر بود.

همچنین، ۵۵/۴ درصد (۲۷۹ نفر) بیماران پروتئینوری داشتند که از این تعداد به ترتیب ۹/۳، ۱۱/۵ و ۷۹/۲ درصد بیماران پروتئینوری ۱ تا ۳+ داشتند و ۴۴/۶ درصد (۲۲۵ نفر) بیماران، فاقد پروتئینوری بودند.

جدول ۲، میانگین متغیرهای سن، وزن و BMI را در سطوح مختلف متغیرهای بالینی بیماران نشان می‌دهد. میانگین سن در افراد دارای پروتئینوری ($P = 0.020$)، مبتلایان به دیابت، مبتلایان به پرفشاری خون (هر دو با $P < 0.001$) به طور معنی‌داری بیشتر و در مبتلایان به بیماری خود ایمنی به طور معنی‌داری ($P < 0.001$) کمتر از غیر مبتلایان بود. میانگین وزن در مبتلایان به دیابت ($P = 0.010$) و پرفشاری خون ($P < 0.001$) به طور معنی‌داری بیشتر و در مبتلایان به بیماری خود ایمنی به طور معنی‌داری ($P < 0.001$) کمتر از غیر مبتلایان بود.

جدول ۱. گزارش متغیرهای جمعیت‌شناختی و پایه‌ای بالینی در بیماران

| جنسیت | سن (سال) | | | | | | | | کل نمونه | P مقدار |
|---------------------|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------|
| | زن | مرد | > ۶۰ | ۵۰-۶۰ | ۴۰-۵۰ | ۳۰-۴۰ | < ۳۰ | ۵۰±۵۰* | | |
| | ۲۵۹ (۵۱/۴) | ۲۴۵ (۴۸/۶) | ۱۳۳ (۲۴/۶) | ۹۲ (۱۸/۳) | ۹۳ (۱۸/۵) | ۹۱ (۱۸/۱) | ۹۵ (۱۸/۸) | | | |
| جنسیت (مرد) | - | - | ۰/۶۶۰ | ۵۳/۴ | ۴۶/۷ | ۵۰/۵ | ۴۶/۲ | ۴۴/۲ | ۴۸/۶ | |
| سن* | ۰/۱۶۰ | ۴۵/۶۰ ± ۱۶/۸۱ | ۴۷/۷۴ ± ۱۷/۳۹ | ۶۸/۳۹ ± ۶/۴۲ | ۵۴/۴۳ ± ۲/۵۹ | ۴۴/۱۷ ± ۲/۹۳ | ۳۴/۵۴ ± ۲/۹۲ | ۲۲/۶۵ ± ۴/۳۷ | ۴۶/۶۴ ± ۱۷/۰۶ | |
| سیگار (بلی) | < ۰/۰۰۱ | ۰/۴ | ۸/۶ | ۵/۳ | ۴/۳ | ۵/۴ | ۴/۴ | ۲/۱ | ۴/۴ | |
| وزن* | < ۰/۰۰۱ | ۶۳/۹۰ ± ۱۳/۰۸ | ۷۲/۵۱ ± ۱۳/۳۳ | ۶۷/۱۲ ± ۱۲/۹۲ | ۷۱/۴۳ ± ۱۳/۸۴ | ۷۱/۶۶ ± ۱۱/۷۷ | ۶۹/۰۸ ± ۱۲/۰۸ | ۶۱/۷۴ ± ۱۶/۳۶ | ۶۸/۰۹ ± ۱۳/۸۷ | |
| *BMI | ۰/۹۱۰ | ۲۵/۷۱ ± ۵/۲۰ | ۲۵/۷۹ ± ۴/۵۱ | ۲۶/۶۹ ± ۴/۵۹ | ۲۶/۸۵ ± ۴/۶۰ | ۲۶/۶۹ ± ۴/۲۳ | ۲۶/۱۱ ± ۴/۷۴ | ۲۲/۹۵ ± ۵/۱۹ | ۲۵/۷۵ ± ۴/۸۹ | |
| پروتئینوری | ۰/۸۷۰ | ۷۹/۴ | ۷۹/۰ | ۷۰/۸ | ۷۴/۶ | ۹۲/۷ | ۷۹/۲ | ۸۳/۶ | ۷۹/۲ | +۱ |
| | | ۱۰/۶ | ۱۲/۳ | ۱۳/۸ | ۱۳/۶ | ۲/۴ | ۱۷/۰ | ۸/۲ | ۱۱/۵ | +۲ |
| | | ۹/۹ | ۸/۷ | ۱۵/۴ | ۱۱/۹ | ۴/۹ | ۳/۸ | ۸/۲ | ۹/۳ | +۳ |
| فشار خون بالا (بلی) | ۰/۳۶۰ | ۵۷/۱ | ۵۳/۱ | ۷۴/۶ | ۷۵/۸ | ۶۳/۹ | ۳۸/۵ | ۲۱/۲ | ۵۵/۲ | |
| دیابت | ۰/۵۳۰ | ۳۰/۹ | ۳۳/۵ | ۴۹/۲ | ۴۹/۵ | ۲۸/۹ | ۱۶/۷ | ۱۲/۵ | ۳۲/۱ | |
| بیماری کیستیک کلیه | ۰/۳۲۰ | ۸/۹ | ۶/۵ | ۳/۳ | ۶/۱ | ۱۰/۸ | ۱۳/۵ | ۶/۷ | ۷/۷ | |
| گلوومرولونفریت | ۰/۰۳۰ | ۱۵/۴ | ۲۳/۳ | ۲۰/۵ | ۱۳/۱ | ۱۴/۵ | ۱۶/۷ | ۲۹/۸ | ۱۹/۲ | |
| بیماری خود ایمنی | ۰/۰۱۰ | ۸/۹ | ۳/۳ | ۱/۶ | ۳/۰ | ۲/۴ | ۶/۳ | ۱۷/۳ | ۶/۲ | |

BMI: Body mass index

در مورد این سه متغیر، اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است و در مورد سایر متغیرها، به صورت تعداد (درصد) آمده است؛ ** عدد ذکر شده تعداد کل می باشد.

جدول ۲. میانگین متغیرهای سن و وزن و شاخص توده بدنی در سطوح مختلف متغیرهای پایه ای بالینی بیماران

| شاخص توده بدنی | وزن | | سن | | میانگین \pm انحراف معیار | مقدار P | |
|--------------------|----------------------------|---------|----------------------------|---------|----------------------------|---------|-----|
| | میانگین \pm انحراف معیار | مقدار P | میانگین \pm انحراف معیار | مقدار P | | | |
| پروتئینوری | ۲۵/۸۴ \pm ۴/۹۰ | ۰/۵۰۰ | ۶۹/۵۳ \pm ۱۴/۲۴ | ۰/۰۲۰ | ۴۴/۸۸ \pm ۱۶/۶۳ | | +۱ |
| | ۲۶/۳۰ \pm ۵/۱۲ | | ۶۶/۹۰ \pm ۱۲/۸۶ | | ۴۷/۵۳ \pm ۱۷/۸۲ | | +۲ |
| | ۲۷/۱۱ \pm ۳/۲۱ | | ۶۷/۲۸ \pm ۱۳/۶۶ | | ۵۴/۵۰ \pm ۱۹/۴۷ | | +۳ |
| دیابت | ۲۶/۳۸ \pm ۵/۲۸ | ۰/۰۱۰ | ۷۰/۳۹ \pm ۱۲/۲۷ | < ۰/۰۰۱ | ۵۴/۵۳ \pm ۹۳/۱۴ | | بلی |
| | ۲۵/۵۰ \pm ۴/۷۳ | | ۶۷/۰۶ \pm ۱۴/۴۳ | | ۴۲/۹۰ \pm ۱۶/۷۵ | | خیر |
| بیماری کیستیک کلیه | ۲۳/۹۰ \pm ۴/۰۸ | ۰/۲۵۰ | ۶۵/۶۱ \pm ۱۰/۳۳ | ۰/۱۰۰ | ۴۲/۳۳ \pm ۱۴/۰۴ | | بلی |
| | ۲۵/۹۴ \pm ۴/۹۴ | | ۶۸/۳۱ \pm ۱۴/۱۲ | | ۴۷/۰۰ \pm ۱۷/۲۵ | | خیر |
| گلوومرولونفریت | ۲۴/۸۸ \pm ۳/۹۹ | ۰/۴۲۰ | ۶۷/۰۵ \pm ۱۱/۶۵ | ۰/۷۰۰ | ۴۳/۷۹ \pm ۱۸/۴۴ | | بلی |
| | ۲۵/۹۱ \pm ۵/۰۳ | | ۶۸/۳۴ \pm ۱۴/۳۵ | | ۴۷/۳۲ \pm ۱۶/۶۷ | | خیر |
| بیماری خود ایمنی | ۲۲/۶۲ \pm ۴/۹۷ | < ۰/۰۰۱ | ۵۹/۳۷ \pm ۱۱/۹۷ | < ۰/۰۰۱ | ۳۲/۳۸ \pm ۱۴/۳۸ | | بلی |
| | ۲۶/۰۰ \pm ۴/۸۱ | | ۶۸/۶۸ \pm ۱۳/۸۰ | | ۴۷/۵۷ \pm ۱۶/۸۲ | | خیر |
| فشار خون بالا | ۲۷/۰۰ \pm ۴/۹۵ | < ۰/۰۰۱ | ۷۰/۳۲ \pm ۱۳/۸۷ | < ۰/۰۰۱ | ۵۲/۹۷ \pm ۱۴/۹۸ | | بلی |
| | ۲۴/۵۳ \pm ۴/۵۴ | | ۶۵/۳۸ \pm ۱۳/۴۱ | | ۳۸/۸۵ \pm ۱۶/۲۵ | | خیر |

انجام شد. همچنین، این مطالعه اولین مطالعه در ایران می باشد که در ارتباط با الگوی مصرف انواع داروهای کاهنده ی فشار خون در بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیوی انجام شده است.

میانگین سنی بیماران در بدو ورود $17/06 \pm 46/64$ سال بود. عمده ی بیماران سن بیشتر از ۶۰ سال ($26/4$ درصد) داشتند و در سایر گروه های سنی میزان توزیع برابر و حدود ۱۸ درصد بود. در مطالعه ی نجفی و همکاران بر روی ۳۶۱ بیمار مبتلا به بیماری مزمن کلیوی در استان گلستان، میانگین سن بیماران $12/04 \pm 56/76$ سال بوده است و تنها $3/05$ درصد افراد زیر ۳۰ سال بودند و $60/11$ درصد آن ها سن بالای ۶۰ سال داشتند (۲۹).

هر چند معیار ورود بیماران در این مطالعه نیز مشابه مطالعه ی حاضر بوده است، اما جمعیت مورد مطالعه ی حاضر، به طور محسوسی جوان تر می باشد. همچنین، در مطالعه ی مروری که توسط نفر و همکاران بر روی جمعیت ایرانی انجام شد، تعداد افراد مبتلا به CKD در ایران ۷۰۰۰۰۰ نفر و میانگین سنی بیماران $46/6$ سال تخمین زده شد (۳۰). البته، در مطالعه ی پیش گفته، معیار ورود تنها بر اساس میزان فیلتراسیون گلوومرولی بوده است و مثبت بودن نشانگرهایی که بیان کننده ی آسیب کلیوی می باشد، در نظر گرفته نشده است.

در مطالعه ی دیگری که توسط خواجه دهی و همکاران در شیراز انجام شد، میانگین سن ۱۰۸۰ بیمار مبتلا به مراحل سوم تا پنجم CKD $51/0 \pm 15/6$ سال بوده است (۳۱). در مطالعه ی گذشته نگر Sonawane و همکاران که بر اساس بانک اطلاعاتی NHANES انجام شد، $53/97$ درصد بیماران سن بالاتر از ۶۰ سال داشتند (۳۲)، که به طور قابل توجهی مسن تر از جمعیت مورد بررسی مطالعه ی حاضر می باشد.

جدول ۳، توزیع فراوانی مصرف انواع داروهای کاهنده فشار خون را در کل جمعیت و در سطوح مختلف سنی، جنسی و پروتئینوری پرمصرف ترین و کم مصرف ترین داروها بودند. انالاپریل با توزیع فراوانی $46/8$ درصد، پرمصرف ترین دارو و ماینوکسیدیل، وراپامیل، لیزینوپریل و متوپرولول با توزیع فراوانی صفر، کمترین میزان مصرف را داشتند. تنها توزیع فراوانی ترازوسین در زنان و مردان تفاوت معنی داری داشت و در مردان بیشتر بود ($P = 0/010$). تنها توزیع فراوانی متیل دوبا ($P = 0/010$), فورزماید ($P < 0/001$) و نیفیدپین ($P < 0/001$) در سطوح بالاتر پروتئینوری به طور معنی داری بیشتر بود. همچنین، توزیع فراوانی مصرف دیورتیک ها در افراد مسن تر ($P < 0/001$) و همین طور در سطوح بالاتر پروتئینوری ($P < 0/001$) به طور معنی داری بیشتر بود.

جدول ۴، میانگین تغییرات فشار خون و شاخص های کلیوی را در کل جمعیت مورد بررسی در طی ۵ سال نشان می دهد. تغییرات میانگین فشار خون سیستول و دیاستول با روند نزولی در طی ۵ سال معنی دار بود ($P < 0/001$). در این مطالعه، میانگین eGFR در طی ۵ سال از $32/05 \pm 13/33$ به $29/82 \pm 65/07$ میلی لیتر/دقیقه/۱/۷۳ مترمربع رسید. همچنین، میانگین تغییرات eGFR در طی ۵ سال با روند نزولی معنی دار بود ($P < 0/001$). تغییرات میانگین cr با روند افزایشی در طی این مدت معنی دار بود ($P = 0/010$).

بحث

این مطالعه به منظور بررسی برخی عوامل جمعیت شناسختی و پایه ای بالینی در ۵۰۴ بیمار مبتلا به بیماری مزمن کلیوی که در طی سال های ۹۰-۱۳۷۵ در شهر اصفهان تحت درمان بودند، برای نخستین بار

جدول ۳. توزیع مصرف انواع داروهای کاهنده فشار خون در گروه‌های مختلف جمعیت‌شناختی و پایه‌ای بالینی بیماران

| پروتئینوری | جنسیت | | | سن | | | | | کل جمعیت | | | | | |
|------------|---------|------|------|--------|---------|------|--------|---------|----------|------|------|-------|-------|---------------------------------|
| | مقدار P | +۳ | +۲ | +۱ | مقدار P | زن | مرد | مقدار P | | | <۶۰ | ۵۰-۶۰ | ۴۰-۵۰ | ۳۰-۴۰ |
| ۰/۸۸۰ | ۰ | ۰ | ۰/۵ | ۰/۵۹۰ | ۰/۸ | ۰/۴ | ۰/۶۶۰ | ۰ | ۱/۱ | ۱/۱ | ۰ | ۱/۱ | ۰/۶ | Vasodilators |
| ۰/۸۸۰ | ۰ | ۰ | ۰/۵ | ۰/۵۹۰ | ۰/۸ | ۰/۴ | ۰/۶۶۰ | ۰ | ۱/۱ | ۱/۱ | ۰ | ۱/۱ | ۰/۶ | Hydralazine |
| >۰/۹۹۹ | ۰ | ۰ | ۰ | >۰/۹۹۹ | ۰ | ۰ | >۰/۹۹۹ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | Minoxidil |
| ۰/۱۱۰ | ۵۰/۰ | ۴۰/۶ | ۳۱/۲ | ۰/۱۱۰ | ۳۱/۳ | ۳۸/۰ | <۰/۰۰۱ | ۵۵/۶ | ۴۲/۴ | ۳۶/۶ | ۱۸/۷ | ۱۰/۵ | ۳۴/۵ | Alphablocker |
| ۰/۷۲۰ | ۵۰/۰ | ۳۷/۵ | ۲۹ | ۰/۲۰۰ | ۲۸/۶ | ۳۳/۹ | <۰/۰۰۱ | ۵۴/۱ | ۳۵/۹ | ۳۰/۱ | ۱۶/۵ | ۹/۵ | ۳۱/۲ | Prazocin |
| ۰/۴۹۰ | ۳/۸ | ۱۲/۵ | ۸/۱ | ۰/۱۰۰ | ۶/۶ | ۱۳/۹ | ۰/۱۶۰ | ۹/۰ | ۱۶/۳ | ۱۰/۸ | ۹/۹ | ۵/۳ | ۱۰/۱ | Terazosin |
| ۰/۱۳۰ | ۳/۸ | ۰ | ۰/۵ | ۰/۵۳۰ | ۰/۴ | ۰/۸ | ۰/۰۸۰ | ۲/۳ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۶ | AlphaAgonists |
| ۰/۱۳۰ | ۳/۸ | ۰ | ۰/۵ | ۰/۵۳۰ | ۰/۴ | ۰/۸ | ۰/۰۸۰ | ۲/۳ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۶ | Clonidine |
| ۰/۰۱۰ | ۳/۸ | ۰ | ۰ | ۰/۳۰۰ | ۰ | ۰/۴ | ۰/۵۹۰ | ۰/۸ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۲ | Methyldopa |
| <۰/۰۰۱ | ۸۴/۶ | ۶۲/۵ | ۵۱/۱ | ۰/۹۲۰ | ۵۶/۸ | ۵۶/۳ | <۰/۰۰۱ | ۷۶/۷ | ۶۳/۰ | ۴۸/۴ | ۴۲/۹ | ۴۳/۲ | ۵۶/۵ | Diuretic |
| <۰/۰۰۱ | ۷۳/۱ | ۵۰/۰ | ۳۴/۴ | ۰/۱۴۰ | ۳۱/۷ | ۳۸/۰ | <۰/۰۰۱ | ۵۴/۹ | ۴۱/۳ | ۲۴/۷ | ۲۰/۹ | ۲۳/۲ | ۳۴/۷ | Furosemide |
| ۰/۷۱۰ | ۳۸/۵ | ۲۸/۱ | ۳۳/۰ | ۰/۶۳۰ | ۳۵/۹ | ۳۳/۹ | ۰/۳۱۰ | ۳۹/۱ | ۳۸/۰ | ۳۷/۶ | ۳۰/۸ | ۲۷/۴ | ۳۴/۹ | Hydrochlorothiazide |
| ۳/۸۰۰ | ۳/۸ | ۶/۳ | ۲/۷ | ۰/۰۶۰ | ۵/۸ | ۲/۴ | ۰/۱۷۰ | ۲/۳ | ۶/۵ | ۶/۵ | ۵/۵ | ۱/۱ | ۴/۲ | Triamterene-H |
| ۰/۹۵۰ | ۱۱/۵ | ۹/۴ | ۹/۵ | ۰/۵۸۰ | ۱۰/۴ | ۹/۰ | <۰/۰۰۱ | ۱۸/۰ | ۱۵/۲ | ۸/۴ | ۲/۱ | ۲/۹ | ۹/۷ | Dihydropyridine (ccb) |
| ۰/۸۱۰ | ۷/۷ | ۶/۳ | ۹/۵ | ۰/۵۴۰ | ۹/۷ | ۸/۶ | <۰/۰۰۱ | ۱۶/۵ | ۱۶/۳ | ۵/۴ | ۲/۲ | ۲/۱ | ۹/۱ | Amlodipine |
| ۰/۰۲۰ | ۳/۸ | ۳/۱ | ۰ | ۰/۳۴۰ | ۱/۲ | ۰/۴ | ۰/۴۴۰ | ۰/۸ | ۲/۲ | ۰ | ۰ | ۱/۱ | ۰/۸ | Nifedipine |
| ۰/۶۰۰ | ۵۳/۸ | ۴۰/۶ | ۴۶/۲ | ۰/۶۰۰ | ۴۵/۲ | ۴۲/۹ | ۰/۰۲۰ | ۴۳/۴ | ۵۱/۵ | ۴۸/۲ | ۴۲/۷ | ۳۵/۶ | ۴۴/۰ | Ndihydropyridine (ccb) |
| ۰/۶۰۰ | ۵۳/۸ | ۴۰/۶ | ۴۶/۲ | ۰/۶۰۰ | ۴۵/۲ | ۴۲/۹ | ۰/۲۴۰ | ۴۲/۹ | ۵۲/۲ | ۴۸/۴ | ۳۹/۶ | ۳۷/۹ | ۴۴/۰ | Diltiazem |
| >۰/۹۹۹ | ۰ | ۰ | ۰ | >۰/۹۹۹ | ۰ | ۰ | ۰/۴۴۰ | ۰/۸ | ۲/۲ | ۰ | ۰ | ۱/۱ | ۰ | Verapamil |
| ۰/۶۰۰ | ۴۲/۳ | ۳۷/۵ | ۵۷ | ۰/۳۵۰ | ۴۹ | ۴۴/۹ | ۰/۱۹۰ | ۴۱/۸ | ۵۱/۵ | ۴۷ | ۵۵/۲ | ۴۱/۳ | ۴۷/۰ | Angiotensin II receptor blocker |
| ۰/۳۹۰ | ۰ | ۶/۳ | ۶/۸ | ۰/۲۴۰ | ۳/۹ | ۶/۱ | ۰/۴۶۰ | ۴/۵ | ۵/۴ | ۳/۲ | ۳/۳ | ۸/۴ | ۵/۰ | Valsartan |
| ۰/۰۵۰ | ۴۲/۳ | ۳۴/۴ | ۵۵/۷ | ۰/۱۴۰ | ۴۸/۶ | ۴۲ | ۰/۲۰۰ | ۳۹/۸ | ۵۱/۱ | ۵۰/۵ | ۴۹/۵ | ۳۸/۹ | ۴۵/۴ | Losartan |
| >۰/۹۹۹ | ۸۰/۸ | ۸۱/۳ | ۸۱/۰ | ۰/۳۷۰ | ۷۵/۳ | ۷۸/۷ | ۰/۲۲۰ | ۷۴/۶ | ۷۷/۶ | ۷۵/۹ | ۸۵/۴ | ۷۲/۱ | ۷۶/۹ | ACEinhibitor |
| ۰/۱۲۰ | ۶۹/۲ | ۵۹/۴ | ۷۴/۸ | ۰/۴۰۰ | ۴۴/۰ | ۴۷/۸ | ۰/۵۲۰ | ۴۵/۹ | ۴۶/۷ | ۳۹/۸ | ۵۲/۷ | ۴۴/۲ | ۴۵/۸ | Captopril |
| ۰/۱۶۰ | ۳۴/۶ | ۳۷/۵ | ۵۰/۲ | ۰/۷۶۰ | ۴۷/۵ | ۴۶/۱ | ۰/۱۳۰ | ۳۹/۱ | ۴۸/۹ | ۵۴/۸ | ۵۱/۶ | ۴۳/۲ | ۴۶/۸ | Enalapril |
| >۰/۹۹۹ | ۰ | ۰ | ۰ | >۰/۹۹۹ | ۰ | ۰ | >۰/۹۹۹ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | Lisinopril |
| ۰/۷۷۰ | ۴۲/۳ | ۳۴/۴ | ۳۵/۳ | ۰/۱۰۰ | ۴۰/۵ | ۳۳/۵ | <۰/۰۰۱ | ۵۵/۷ | ۴۷/۵ | ۳۹/۸ | ۲۴/۰ | ۱۵/۴ | ۳۷/۱ | Betablocker |
| ۰/۸۸۰ | ۰ | ۰ | ۰/۵ | ۰/۳۳۰ | ۰/۴ | ۰ | ۰/۳۵۰ | ۰ | ۰ | ۱/۱ | ۰ | ۰ | ۰/۲ | Carvedilol |
| ۰/۶۷۰ | ۳۸/۵ | ۳۱/۳ | ۲۹/۹ | ۰/۱۱۰ | ۳۴/۴ | ۲۷/۸ | <۰/۰۰۱ | ۴۹/۶ | ۴۰/۲ | ۲۶/۹ | ۱۷/۶ | ۱۳/۷ | ۳۱/۲ | Atenolol |
| >۰/۹۹۹ | ۰ | ۰ | ۰ | >۰/۹۹۹ | ۰ | ۰ | >۰/۹۹۹ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | Metoprolol |
| ۰/۵۷۰ | ۳/۸ | ۳/۱ | ۷/۲ | ۰/۲۱۰ | ۱۰/۰ | ۶/۹ | ۰/۶۵۰ | ۷/۵ | ۹/۸ | ۱۰/۸ | ۹/۹ | ۵/۳ | ۸/۵ | Propranolol |

جدول ۴. میانگین تغییرات فشار خون و شاخص‌های کلیوی در کل بیماران در طی ۵ سال

| مقدار P | ۶۰ | ۴۸ | ۳۶ | ۲۴ | ۱۲ | ۶ | ۰ | |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------|
| < ۰/۰۰۱ | ۱۲۱/۱۲ ± ۱۵/۰۶ | ۱۲۱/۱۲ ± ۱۵/۰۶ | ۱۲۱/۳۸ ± ۱۹/۱۶ | ۱۲۴/۰۳ ± ۱۸/۷۴ | ۱۲۳/۸۲ ± ۱۹/۸۵ | ۱۲۶/۷۰ ± ۲۰/۵۴ | ۱۳۶/۸۵ ± ۲۴/۹۸ | فشار سیستول |
| < ۰/۰۰۱ | ۷۹/۰۸ ± ۶/۳۰ | ۷۸/۷۱ ± ۶/۳۲ | ۷۹/۴۲ ± ۸/۰۷ | ۷۹/۵۰ ± ۸/۷۴ | ۷۸/۸۲ ± ۹/۹۷ | ۸۲/۲۷ ± ۱۰/۴۳ | ۸۶/۲۸ ± ۱۲/۰۷ | فشار دیاستول |
| < ۰/۰۰۱ | ۶۵/۰۷ ± ۲۹/۸۲ | ۶۷/۴۸ ± ۳۱/۴۴ | ۶۸/۷۱ ± ۳۱/۳۴ | ۷۰/۴۶ ± ۳۱/۱۷ | ۶۹/۱۲ ± ۳۲/۳۲ | ۷۱/۵۷ ± ۳۱/۴۸ | ۷۳/۳۳ ± ۳۲/۰۵ | eGFR |
| ۰/۰۱۰ | ۱/۴۵ ± ۱/۱۰ | ۱/۳۷ ± ۰/۸۰ | ۱/۳۶ ± ۰/۸۶ | ۱/۲۹ ± ۰/۶۴ | ۱/۳۳ ± ۰/۷۲ | ۱/۲۵ ± ۰/۵۸ | ۱/۲۷ ± ۰/۸۴ | کراتینین |

eGFR: Estimated glomerular filtration rate

با وجود این که جمعیت مورد مطالعه‌ی حاضر نسبت به سایر مطالعات میانگین سنی کمتری داشته و جوان‌تر بوده است، اما احتمال می‌رود به دلیل این که بیماران مورد بررسی در سطح سوم ارجاع قرار داشتند و در درمانگاه فوق تخصصی نفرولوژی مورد بررسی قرار گرفتند، وضعیت پیچیده‌تری داشتند و شیوع پرفشاری خون در آن‌ها بالاتر بود.

در این مطالعه، نسبت مرد به زن ۱ به ۱/۰۵ بوده است. در مطالعه‌ی خواجه‌دهی و همکاران، این نسبت ۱ به ۴/۹۸ (۳۱) و در مطالعه‌ی دیگری در تهران، ۱ به ۲/۴۲ بوده است (۳۳). در مطالعه‌ای که توسط مالک‌مکان و همکاران در جنوب ایران و در افراد بالاتر از ۶۰ سال انجام شد، این نسبت ۱ به ۳/۵۸ بوده است (۳۶). این عدد بر اساس بانک اطلاعاتی NHANES ۱ به ۱/۱۶ بوده (۳۲) که به طور تقریبی مشابه مطالعه‌ی حاضر بوده است.

در این مطالعه، ۴/۴ درصد افراد مصرف‌کننده‌ی سیگار بودند. نجفی و همکاران این اعداد را ۱۳/۵۸ درصد گزارش کردند (۲۹). همچنین، در مطالعه‌ای که توسط حسین‌پناه و همکاران انجام شد، ۷/۴ افراد مصرف‌کننده‌ی سیگار بودند (۳۳). در مطالعه‌ی دیگر این مقدار ۶ درصد بیان شد (۳۴).

در این مطالعه، حدود ۶۰ درصد افراد BMI بیشتر از ۲۵ و ۳۵ درصد آن‌ها BMI طبیعی داشتند. در مطالعه‌ی خواجه‌دهی و همکاران، ۲۱ درصد افراد BMI کمتر از ۲۵، ۴۵/۶ درصد مبتلایان BMI بین ۲۵-۳۰ و ۳۳/۴ درصد بیماران BMI بیشتر از ۳۰ داشتند (۳۱). در مطالعه‌ی Macdonald و همکاران، میانگین BMI ۲۷/۹ ± ۴/۴ گزارش شده است. البته، در این جمعیت، میانگین سن بیماران ۶۵ سال بوده است (۳۷). در مطالعه‌ای که توسط مالک‌مکان و همکاران در جنوب ایران و در افراد بالاتر از ۶۰ سال انجام شد، ۴۹/۶ درصد افراد چاق محسوب می‌شدند و ۳۰/۲ درصد افراد BMI طبیعی داشتند (۳۶). همچنین، در مطالعه‌ی نجفی و همکاران، ۶۵ درصد افراد BMI بالای ۲۵ داشتند و ۳۳/۳ درصد افراد در محدوده‌ی طبیعی قرار می‌گرفتند (۳۵).

در مطالعه‌ی حاضر، میانگین فشار خون سیستول و دیاستول

در این مطالعه، شایع‌ترین علت بیماری مزمن کلیوی در سنین کمتر از ۳۰ سال، گلوومرولونفریت بود. ۱۹/۲ درصد افراد، مبتلا به گلوومرولونفریت بودند که در مقایسه با عدد گزارش شده در مطالعه‌ی مروری نفر و همکاران (۹/۵ درصد) ۱۰ درصد بیشتر بوده است. علت این اختلاف، جمعیت جوان‌تر مطالعه‌ی حاضر بودند که در بالا به آن اشاره شد (۳۰). همچنین، ۷/۷ درصد افراد مبتلا به بیماری کیستیک کلیه بودند که این عدد در مطالعه‌ی نفر و همکاران (۳۰) ۴/۴ درصد گزارش شده است.

در این مطالعه، ۳۲/۱ افراد مبتلا به دیابت بودند که بیشتر آن‌ها در رده‌ی سنی ۵۰ سال به بالا قرار داشتند. در مطالعات دیگری که در ایران انجام شد، آمارهای ۴۰/۲ درصد (۲۹)، ۲۳/۷ درصد (۳۰)، ۲۶/۰ درصد (۳۳)، ۱۴/۰ درصد (۳۴) و ۲۶/۱ درصد (۳۵) گزارش شده است. در آمار ذکر شده بر اساس بانک اطلاعاتی NHANES، ۱۹/۲ درصد بیماران مبتلا به دیابت بودند (۳۲).

در این مطالعه، ۵۵/۲ درصد افراد در بدو ورود مبتلا به بیماری پرفشاری خون بودند. نجفی و همکاران این عدد را ۴۰/۴۴ درصد ذکر کرده‌اند (۲۹). همچنین، در مطالعه‌ی مروری نفر و همکاران، درصد افرادی که به دلیل پرفشاری خون به بیماری مزمن کلیوی مبتلا شده بودند، ۲۲/۱ گزارش شد (۳۰). در مطالعه‌ی حسین‌پناه و همکاران بر روی ۱۸۹۷ بیمار مبتلا به CKD، ۵۱/۸ درصد مبتلایان به صورت اولیه مبتلا به پرفشاری خون بودند؛ البته در این بررسی، تنها افرادی که eGFR > ۶۰ میلی‌لیتر/دقیقه/۱/۷۳ مترمربع داشتند، مورد بررسی قرار گرفتند که می‌تواند توجیه‌کننده‌ی این درصد بالا باشد (۳۳).

در مطالعه‌ی مالک‌مکان و همکاران در جنوب ایران بر روی ۱۱۹۰ بیمار مسن‌تر از ۶۰ سال، ۴۹/۶ درصد مبتلایان در بدو ورود پرفشاری خون داشتند (۳۶). در مطالعه‌ی نجفی و همکاران، شیوع پرفشاری خون در بین ۱۶۵ بیماری که eGFR کمتر از ۶۰ میلی‌لیتر/دقیقه/۱/۷۳ مترمربع، ۶۰/۶ درصد گزارش شد (۳۶). در آمار ذکر شده بر اساس بانک اطلاعاتی NHANES، ۴۶/۴۷ درصد بیماران به صورت اولیه مبتلا به پرفشاری خون بودند (۳۲).

البته، در این مطالعه، به دلیل این که شیوع دیابت و گلوومرولونفریت بیشتر بوده و نیز بیماران در سطح سوم نظام ارجاع یعنی توسط نفرولوژیست تحت درمان قرار گرفتند، تطابق الگوی مصرف دارو با راهنماهای پیش‌گفته بیشتر بوده است. راهنماهای موجود ACE inhibitor و ARB، را به عنوان انتخاب اول جهت درمان بیماری پرفشاری خون در بیماران CKD با پروتئینوری پیشنهاد می‌کنند که ترکیب دارویی این داروها با دیورتیک و CCB به شدت پیشنهاد می‌گردد؛ در صورتی که استفاده‌ی هم‌زمان آن‌ها با بتابلوکرها توصیه نمی‌گردد. همان‌طور که در یافته‌ها گزارش شده است، بیشترین مصرف دارو مربوط به ACE inhibitor بود و بعد از آن دیورتیک و ARB مصرف بیشتری نسبت به سایر داروها داشتند، در حالی که بتابلوکرها مصرف کمتری داشتند که از این میزان، بیشترین مقدار در ارتباط با اتنولول بوده است، اما در بیماران مورد بررسی، متوپرولول مورد استفاده قرار نمی‌گرفت که علت پیش‌گفته، می‌تواند این مصرف کم بتابلوکرها را تا حدی توجیه کند.

همچنین، مصرف دیورتیک‌ها در سطوح بالاتر پروتئینوری به طور معنی‌داری بیشتر بود که احتمال می‌رود به این دلیل باشد که با افزایش میزان پروتئینوری، میزان ادم در این بیماران افزایش می‌یابد و در نتیجه، نیاز آن‌ها به دیورتیک بیشتر خواهد شد. همچنین، مصرف متیل‌دوپا، فورزماید و نفیدپین در سطوح بالاتر پروتئینوری به طور معنی‌دار بیشتر بوده است که می‌تواند دو دلیل برای آن ذکر کرد؛ اول این که احتمال آن می‌رود که این بیماران با وجود استفاده از ACE inhibitor و ARB پرفشاری خون کنترل نشده داشتند و این درمان‌ها به عنوان درمان کمکی در این بیماران مورد استفاده قرار می‌گرفت و دوم این که، ممکن است این بیماران با مصرف ACE inhibitor یا ARB، دچار عارضه می‌شدند؛ بنابراین، داروهای دیگری (متیل‌دوپا، فورزماید و نفیدپین) در این بیماران مورد استفاده قرار گرفته است که اثری در درمان پروتئینوری ندارند و حتی موجب پیشرفت پروتئینوری می‌شوند. لازم به ذکر است که مصرف کنندگان متیل‌دوپا در مطالعه باردار نبودند.

نتیجه‌گیری نهایی این که ویژگی‌های جمعیت‌شناختی و پایه‌ای بالینی در این مطالعه به طور تقریبی مشابه سایر مطالعات انجام شده در کشور بود؛ با این تفاوت اساسی که درصد قابل‌توجهی از بیماران را افراد جوان‌تر تشکیل می‌دادند. همچنین، شیوع دیابت در این جمعیت از بیشتر آمارهای ذکر شده در ایران بیشتر بوده است. شایع‌ترین علت بیماری مزمن کلیوی در سنین کمتر از ۳۰ سال، گلوومرولونفریت و در سنین بالای ۶۰ سال پرفشاری خون بوده است. همچنین، درصد شیوع گلوومرولونفریت نسبت به سایر مطالعات بیشتر بوده است. الگوی مصرف داروهای کاهنده‌ی فشار خون نیز با الگوی ذکر شده در راهنماها مطابقت بیشتری دارد؛ چرا که

بیماران در بدو ورود به ترتیب $24/98 \pm 136/85$ و $12/07 \pm 86/28$ بود که به طور تقریبی مشابه این عدد ($131/8 \pm 20/0$ و $81/12 \pm 7/50$) در بیماران شرکت‌کننده در مطالعه‌ی تقی‌بی و همکاران نیز ذکر شده بود (۳۴).

در مطالعه‌ی فوق میانگین cr و eGFR در بدو ورود به ترتیب $1/27 \pm 0/84$ و $32/05 \pm 73/33$ میلی‌لیتر/دقیقه/۱/۷۳ مترمربع بوده است که به طور قابل توجهی از مقادیر به دست آمده در مطالعه‌ی Macdonald و همکاران (۳۷) (به ترتیب $2/23$ و $45/5$ میلی‌لیتر/دقیقه/۱/۷۳ مترمربع) متفاوت بود و علت آن هم میانگین سنی بالا در مطالعه‌ی آن‌ها می‌باشد (۳۷). در این مطالعه، میانگین eGFR در طی ۵ سال از $32/05 \pm 73/33$ به $29/82 \pm 65/07$ رسیده است؛ همچنین، سرعت کاهش eGFR سالانه، کمتر از ۵ میلی‌لیتر/دقیقه/۱/۷۳ مترمربع بوده است و این روند، به مدت ۵ سال ادامه داشته است. این روند کاهش، به طور قابل توجهی کند می‌باشد (در صورتی که میزان افت eGFR در سال بیشتر از ۵ میلی‌لیتر/دقیقه/۱/۷۳ مترمربع باشد، میزان پیشرفت بیماری سریع در نظر گرفته می‌شود) (۳).

در این مطالعه، الگوی مصرف داروهای کاهنده‌ی فشار خون بررسی گردید. ACE inhibitor پرمصرف‌ترین گروه دارویی در بین بیماران بوده است و بعد از آن، به ترتیب دیورتیک و Angiotensin II receptor blockers (ARBs) در رده‌های دوم و سوم مصرف قرار گرفتند. این الگوی مصرف، با الگوی مصرف دارو در امریکا متفاوت می‌باشد.

در مطالعه‌ی گذشته‌نگری که بر اساس بانک اطلاعاتی NHANES انجام شد، بتابلوکرها پرمصرف‌ترین دارو در بین گروه‌های دارویی به شمار می‌رفت و بعد از آن، دیورتیک و ACE inhibitor با اختلافی اندکی در رده‌های دوم و سوم قرار داشتند و بعد از این دو، Calcium channel blockers (CCB) و در نهایت، کم‌مصرف‌ترین دارو ARB بوده است. البته، در این مطالعه فقط ۵ دسته‌ی دارویی اصلی مورد بررسی قرار گرفت. با وجود این که راهنماهای موجود ACE inhibitor و ARB را به عنوان انتخاب اول جهت درمان بیماری پرفشاری خون در بیماران CKD با پروتئینوری پیشنهاد می‌کنند، اما این دو گروه دارویی، تنها یک سوم مصرف داروهای کاهنده‌ی فشار خون را در ایالات متحده‌ی امریکا به خود اختصاص می‌دهند (۳۲، ۳۸).

همچنین، مطالعات دیگری نیز نشان می‌دهند که کمتر از نصف بیماران CKD، داروهای ACE inhibitor را مصرف می‌کردند و همچنین، مصرف ARB پایین بوده است (۴۰-۳۹). علت مصرف کم این دو دسته‌ی دارویی در این بیماران مشخص نشده است (۳۲).

تشکر و قدردانی

این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه‌ی دکتری حرفه‌ای پزشکی است که با حمایت معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گرفته است.

شیوع دیابت و گلوومولونفریت بیشتر بوده و نیز بیماران مورد بررسی در سطح سوم سیستم ارجاع توسط نفرولوژیست تحت درمان قرار گرفتند. هر چند برای به دست آوردن الگوی دقیق‌تر در جمعیت ایرانی نیاز به انجام مطالعه در مقیاس وسیع‌تری می‌باشد.

References

- Boucqumont J, Metzger M, Combe C, Stengel B, Leffondre K. Should we use standard survival models or the illness-death model for interval-censored data to investigate risk factors of chronic kidney disease progression? *PLoS One* 2014; 9(12): e114839.
- Senevirathna L, Abeyssekera T, Nanayakkara S, Chandrajith R, Ratnatunga N, Harada KH, et al. Risk factors associated with disease progression and mortality in chronic kidney disease of uncertain etiology: a cohort study in Medawachchiya, Sri Lanka. *Environ Health Prev Med* 2012; 17(3): 191-8.
- Inker LA, Astor BC, Fox CH, Isakova T, Lash JP, Peralta CA, et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of CKD. *Am J Kidney Dis* 2014; 63(5): 713-35.
- Lee B, Turley M, Meng D, Zhou Y, Garrido T, Lau A, et al. Effects of proactive population-based nephrologist oversight on progression of chronic kidney disease: a retrospective control analysis. *BMC Health Serv Res* 2012; 12: 252.
- National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39(2 Suppl 1): S1-266.
- Shojamoradi MH, Saberi IM, Mahdavi-Mazdeh M, Ahmadi F, Gatmiri SM, Abbasi LR. Chronic kidney disease progression in elderly Iranian patients: A cohort study. *Nephrourol Mon* 2014; 6(5): e20748.
- Sepanlou SG, Barahimi H, Najafi I, Kamangar F, Poustchi H, Shakeri R, et al. Prevalence and determinants of chronic kidney disease in northeast of Iran: Results of the Golestan cohort study. *PLoS One* 2017; 12(5): e0176540.
- United States Renal Data System. USRDS 2010 annual data report: Atlas of chronic kidney disease and end-stage renal disease in the United States. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2010.
- United States Renal Data System. USRDS 2013 annual data report: Atlas of chronic kidney disease and end-stage renal disease in the United States. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2013.
- Thomsen S. Delayed progression to dialysis with early and intensive management of predialysis chronic kidney disease: a case-based approach. *Case Rep Nephrol Urol* 2013; 3(1): 74-86.
- Bloomfield GS, Yi SS, Astor BC, Kramer H, Shea S, Shlipak MG, et al. Blood pressure and chronic kidney disease progression in a multi-racial cohort: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Hum Hypertens* 2013; 27(7): 421-6.
- Ptinopoulou AG, Pikilidou MI, Lasaridis AN. The effect of antihypertensive drugs on chronic kidney disease: a comprehensive review. *Hypertens Res* 2013; 36(2): 91-101.
- Yu HT. Progression of chronic renal failure. *Arch Intern Med* 2003; 163(12): 1417-29.
- Hunsicker LG, Adler S, Caggiula A, England BK, Greene T, Kusek JW, et al. Predictors of the progression of renal disease in the Modification of Diet in Renal Disease Study. *Kidney Int* 1997; 51(6): 1908-19.
- Ruggenenti P, Perna A, Mosconi L, Pisoni R, Remuzzi G. Urinary protein excretion rate is the best independent predictor of ESRF in non-diabetic proteinuric chronic nephropathies. "Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia" (GISEN). *Kidney Int* 1998; 53(5): 1209-16.
- Halbesma N, Brantsma AH, Bakker SJ, Jansen DF, Stolk RP, De Zeeuw D, et al. Gender differences in predictors of the decline of renal function in the general population. *Kidney Int* 2008; 74(4): 505-12.
- Weir MR. The role of combination antihypertensive therapy in the prevention and treatment of chronic kidney disease. *Am J Hypertens* 2005; 18(4 Pt 2): 100S-5S.
- Sarafidis PA, Li S, Chen SC, Collins AJ, Brown WW, Klag MJ, et al. Hypertension awareness, treatment, and control in chronic kidney disease. *Am J Med* 2008; 121(4): 332-40.
- Muntner P, Anderson A, Charleston J, Chen Z, Ford V, Makos G, et al. Hypertension awareness, treatment, and control in adults with CKD: Results from the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study. *Am J Kidney Dis* 2010; 55(3): 441-51.
- Sarafidis PA, Sharpe CC, Wood E, Blacklock R, Rumjon A, Al-Yassin A, et al. Prevalence, patterns of treatment, and control of hypertension in predialysis patients with chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2012; 120(3): e147-e155.
- De Nicola L, Minutolo R, Gallo C, Zoccali C, Cianciaruso B, Conte M, et al. Management of hypertension in chronic kidney disease: The Italian multicentric study. *J Nephrol* 2005; 18(4): 397-404.
- Minutolo R, De Nicola L, Zamboli P, Chiadini P, Signoriello G, Toderico C, et al. Management of hypertension in patients with CKD: Differences between primary and tertiary care settings. *Am J Kidney Dis* 2005; 46(1): 18-25.
- Shankar A, Klein R, Klein BE. The association among smoking, heavy drinking, and chronic kidney disease. *Am J Epidemiol* 2006; 164(3): 263-71.
- Noborisaka Y. Smoking and chronic kidney disease in healthy populations. *Nephrourol Mon* 2013; 5(1):

- 655-67.
25. Tsujimoto T, Sairenchi T, Iso H, Irie F, Yamagishi K, Watanabe H, et al. The dose-response relationship between body mass index and the risk of incident stage ≥ 3 chronic kidney disease in a general Japanese population: the Ibaraki prefectural health study (IPHS). *J Epidemiol* 2014; 24(6): 444-51.
 26. Yu MK, Lyles CR, Bent-Shaw LA, Young BA. Risk factor, age and sex differences in chronic kidney disease prevalence in a diabetic cohort: the pathways study. *Am J Nephrol* 2012; 36(3): 245-51.
 27. MacIsaac RJ, Ekinci EI, Premaratne E, Lu ZX, Seah JM, Li Y, et al. The Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation does not improve the underestimation of Glomerular Filtration Rate (GFR) in people with diabetes and preserved renal function. *BMC Nephrol* 2015; 16: 198.
 28. Chen LI, Guh JY, Wu KD, Chen YM, Kuo MC, Hwang SJ, et al. Modification of diet in renal disease (MDRD) study and CKD epidemiology collaboration (CKD-EPI) equations for Taiwanese adults. *PLoS One* 2014; 9(6): e99645.
 29. Najafi I, Shakeri R, Islami F, Malekzadeh F, Salahi R, Yapan-Gharavi M, et al. Prevalence of chronic kidney disease and its associated risk factors: the first report from Iran using both microalbuminuria and urine sediment. *Arch Iran Med* 2012; 15(2): 70-5.
 30. Nafar M, Mousavi SM, Mahdavi-Mazdeh M, Pour-Reza-Gholi F, Firoozan A, Einollahi B, et al. Burden of chronic kidney disease in Iran: A screening program is of essential need. *Iran J Kidney Dis* 2008; 2(4): 183-92.
 31. Khajehdehi P, Malekmakan L, Pakfetrat M, Roozbeh J, Sayadi M. Prevalence of chronic kidney disease and its contributing risk factors in southern Iran: A cross-sectional adult population-based study. *Iran J Kidney Dis* 2014; 8(2): 109-15.
 32. Sonawane KB, Qian J, Hansen RA. Utilization patterns of antihypertensive drugs among the chronic kidney disease population in the United States: A cross-sectional analysis of the national health and nutrition examination survey. *Clin Ther* 2015; 37(1): 188-96.
 33. Hosseinpanah F, Kasraei F, Nassiri AA, Azizi F. High prevalence of chronic kidney disease in Iran: A large population-based study. *BMC Public Health* 2009; 9: 44.
 34. Naghibi M, Mojahedi MJ, Jarrahi L, Emadzadeh A, Ahmadi R, Emadzadeh M, et al. Prevalence of chronic kidney disease and its risk factors in Gonabad, Iran. *Iran J Kidney Dis* 2015; 9(6): 449-53.
 35. Najafi I, Attari F, Islami F, Shakeri R, Malekzadeh F, Salahi R, et al. Renal function and risk factors of moderate to severe chronic kidney disease in Golestan Province, northeast of Iran. *PLoS One* 2010; 5(12): e14216.
 36. Malekmakan L, Khajehdehi P, Pakfetrat M, Malekmakan A, Mahdaviyazad H, Roozbeh J. Prevalence of chronic kidney disease and its related risk factors in elderly of southern Iran: a population-based study. *ISRN Nephrol* 2013; 2013: 427230.
 37. Macdonald JH, Marcora SM, Kumwenda MJ, Jibani M, Roberts G, Glover R, et al. The relationship between estimated glomerular filtration rate, demographic and anthropometric variables is mediated by muscle mass in non-diabetic patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(12): 3488-94.
 38. Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI). K/DOQI clinical practice guidelines on hypertension and antihypertensive agents in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2004; 43(5 Suppl 1): S1-290.
 39. Bailie GR, Eisele G, Liu L, Roys E, Kiser M, Finkelstein F, et al. Patterns of medication use in the RRI-CKD study: Focus on medications with cardiovascular effects. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20(6): 1110-5.
 40. Nissenson AR, Collins AJ, Hurley J, Petersen H, Pereira BJ, Steinberg EP. Opportunities for improving the care of patients with chronic renal insufficiency: Current practice patterns. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12(8): 1713-20.

Epidemiologic Evaluation of Demographic and Basic Clinical Factors in Patients with Chronic Kidney Disease in Isfahan City, Iran, during 1996-2011

Shahrzad Shahidi¹, Esmail Hadizadeh², Pooria Shaabani², Awat Feizi³

Original Article

Abstract

Background: Chronic kidney disease (CKD) is a progressive disease. The prevalence of CKD continues to increase significantly due to increasing prevalence of diabetes and obesity and has been estimated 6.5 to 23.7 percent in Iran. The CKD progression may be largely due to secondary factors that are sometimes unrelated to the activity of the initial disease. These include demographic and clinical characteristics and the pattern of antihypertensive drug consumption.

Methods: This cross-sectional study was performed in autumn 2014 on 504 patients with chronic kidney disease in Isfahan City, Iran, during 1996-2011. Data on sex, weight, height, body mass index, antihypertensive drug, basic and mean annually blood pressure, underlying disease, proteinuria, serum creatinine, and Estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR) were collected using a questionnaire.

Findings: 504 subjects (48.6% men and 51.4% women) with a mean age of 46.64 ± 17.06 years were enrolled in this study. Basic eGFR was 73.33 ± 32.05 ml/min/1.73 m². Proteinuria was seen in 55.4% of patients. The prevalence of diabetes was 32.1%. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor was the most common drug class used by participants and accounted for 76.9% of the utilization; vasodilators were the least used antihypertensive drugs and represented as 0.6% of the total utilization.

Conclusion: The demographic and basic clinical characteristics of our study population nearly were similar to other studies in Iranian population, with these major differences that our participants were significantly younger, and the prevalence of diabetes and glomerulonephritis were higher in comparison to other studies. The utilization pattern of antihypertensive drugs had more accordance with clinical guidelines. The rate of eGFR reduction was significantly slow.

Keywords: Chronic kidney disease, Demographic factors, Basic clinical factors

Citation: Shahidi S, Hadizadeh E, Shaabani P, Feizi A. **Epidemiologic Evaluation of Demographic and Basic Clinical Factors in Patients with Chronic Kidney Disease in Isfahan City, Iran, during 1996-2011.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(448): 1298-308.

1- Professor, Isfahan Kidney Diseases Research Center AND Department of Nephrology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

3- Associate Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Esmail Hadizadeh, Email: hadizade91@gmail.com

بررسی ارتباط لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک Cd8 و سایر مشخصات بالینی و آسیب‌شناسی با بقای بیماران مبتلا به سرطان پستان

سیمین همتی^۱، میترا حیدرپور^۲، آوات فیضی^۳، فاطمه ابوطالبیان^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: تعامل سیستم ایمنی با سلول‌های تومورال، می‌تواند عنصر مهمی در تعیین رفتار تومور و در نتیجه طول عمر بیمار باشد. در این مطالعه، لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک CD8 به عنوان یک عامل پیش‌آگهی دهنده در مقایسه با سایر ویژگی‌های تومور در ارتباط با بقا و مرگ و میر بیماران سرطان پستان ارزیابی شدند.

روش‌ها: نمونه‌های پاتولوژی ۵۲ بیمار مبتلا به سرطان پستان انتخاب شد. لنفوسیت‌های CD8 به روش ایمونوهیستوشیمی (Immunohistochemistry یا IHC) رنگ‌آمیزی و به صورت نیمه کمی شمارش شدند. خصوصیات بالینی و آسیب‌شناسی شامل مرحله (Stage)، درجه (Grade)، درگیری غدد لنفاوی، نوع تومور، تهاجم لنفوواسکولار، متاستاز، عود، نشانگرهای (ER) Estrogen receptor، Progesterone receptor (PR)، Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) و Ki67، سابقه‌ی خانوادگی، مرگ و میر و بقای کلی بیماران ارزیابی و ثبت گردید.

یافته‌ها: بین وجود CD8 با مرگ و میر ($P = 0/050$) و بقای کلی بیماران ($P = 0/090$)، رابطه‌ی آماری معنی‌داری دیده نشد. در بین ویژگی‌های تومور، مرحله ($P = 0/020$)، درگیری غدد لنفاوی ($P = 0/020$)، نشانگر Ki67 ($P = 0/045$)، متاستاز ($P < 0/001$) و عود ($P = 0/008$) با میزان مرگ و میر ارتباط معنی‌داری داشت. بقای کلی بیماران با مرحله ($P = 0/009$)، درگیری غدد لنفاوی ($P = 0/003$)، متاستاز ($P = 0/020$)، نبود نشانگر PR ($P = 0/020$) و نشانگر Ki67 ($P = 0/010$) در ارتباط بود.

نتیجه‌گیری: با وجود مطرح شدن CD8 به عنوان یک عامل پیش‌گویی کننده‌ی بقا در برخی مطالعات، چنین ارتباطی در مطالعه‌ی حاضر دیده نشد. جهت ارزیابی ارتباط سیستم ایمنی با مرگ و میر و بقا، مطالعات با نمونه‌ی بیشتر و بررسی هم‌زمان چندین رده‌ی سلول ایمنی پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، لنفوسیت CD8، T، پیش‌آگهی

ارجاع: همتی سیمین، حیدرپور میترا، فیضی آوات، ابوطالبیان فاطمه. بررسی ارتباط لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک Cd8 و سایر مشخصات بالینی و آسیب‌شناسی با بقای بیماران مبتلا به سرطان پستان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۸): ۱۳۱۴-۱۳۰۹

به ماهیت هیستوپاتولوژیک یا مولکولی خود تومور هستند، شناخته شده‌اند و در بالین استفاده می‌شوند. از جمله نشانگرهای مولکولی، می‌توان نشانگرهای هورمونی (Progesterone receptor یا PR و Estrogen receptor یا ER)، Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) و Ki67 مربوط به تکثیر سلولی را نام برد. نشانگرهای پاتولوژیک مرحله‌ی بیماری (Node, Tumour) و Metastasis یا TNM stage)، درجه (Grade)، درگیری غدد لنفاوی و تهاجم عروقی نیز در مطالعات بسیاری به عنوان نشانگرهای

مقدمه

سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان با نرخ بروز حدود ۱/۶ میلیون مورد سالانه و دومین علت شایع مرگ در بین زنان در کل دنیا می‌باشد (۱). تا کنون تلاش‌های زیادی برای بهبود میزان بقای بیماران با تشخیص زودهنگام بیماری و درمان‌های اختصاصی هدفمند انجام شده است. محدودیت‌های روش‌های درمانی، باعث شده است تلاش‌ها برای پیدا کردن نشانگرهای پیش‌آگهی دهنده جهت درمان اختصاصی دوچندان شود. تا کنون تعداد زیادی عوامل پیش‌آگهی دهنده که همگی مربوط

۱- استادیار، گروه رادیوتراپی انکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۳- دانشیار، گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

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

وضعیت عود و متاستاز با بررسی پرونده‌های درمانی و همچنین، تماس با بیماران تعیین شد. میزان مرگ و میر از طریق سازمان ثبت احوال مشخص و سپس، بقای کلی بیماران محاسبه گردید.

روش اجرا و ارزیابی CD8. تمام نمونه‌ها در فرمالین تثبیت و در پارافین بلوک‌گیری شده بودند. از بلوک حاوی بافت تومورال مناسب، برش‌های بافتی به ضخامت ۵-۴ میکرومتر تهیه و رنگ‌آمیزی Immunohistochemistry (IHC) با آنتی‌بادی CD8 (DAKO, Clone C8/144B, Lot: 20029981) انجام شد. در نهایت، نمونه‌ها با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. لام‌های تهیه شده توسط پاتولوژیست، بدون اطلاع از داده‌های بیماران و با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. در هر نمونه، فیلد دارای بیشترین تجمع CD8 انتخاب و به شیوه‌ی نیمه‌کمی بر اساس تراکم لنفوسیت‌ها در یکی از سه دسته‌ی ۱+ (تجمع کم)، ۲+ (تجمع متوسط) و ۳+ (تجمع زیاد) قرار گرفتند.

آنالیز آماری: متغیرهای کمی به صورت میانگین \pm انحراف معیار و میانه (کمینه- بیشینه) و متغیرهای کیفی به صورت تعداد (درصد) بیان شده‌اند. آزمون‌های Independent t و ANOVA برای مقایسه‌ی متغیرهای کمی و آزمون χ^2 برای متغیرهای کیفی بین گروه‌ها استفاده شد. از روش Kaplan-Meier و رگرسیون COX و آزمون Log-Rank برای بررسی ارتباط متغیرهای پیش‌گویی کننده با بقا و مرگ و میر بیماران استفاده گردید. تمامی داده‌های بیماران با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد آنالیز قرار گرفت. مقادیر $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

۵۲ بیمار شامل یک مرد (۱/۹ درصد) و ۵۱ زن (۹۸/۱ درصد) وارد مطالعه شدند. ۱۲ بیمار (۳۰/۸ درصد) سابقه‌ی خانوادگی مثبت داشتند. میانگین سنی بیماران ۵۲/۴ سال (با دامنه‌ی ۳۳-۳۲ سال) بود. متوسط دوره‌ی پی‌گیری بیماران بعد از تشخیص ۲۲/۶ ماه (۴-۴۷ ماه) بود که طی این دوره‌ی زمانی، ۸ نفر (۱۵/۴ درصد) دچار متاستاز و ۵ نفر (۹/۶ درصد) دچار عود بیماری شدند و ۸ بیمار (۱۵/۴ درصد) به علت سرطان فوت کردند. میانگین اندازه‌ی تومور در بیماران مورد مطالعه، ۳/۹۹ سانتی‌متر با دامنه‌ی (۱۵-۰/۵ سانتی‌متر) بود. بررسی بافت تومور بر اساس ارتشاح لنفوسیت‌های سیتوتوکسیک CD8 نشان داد که بیشتر نمونه‌ها (۲۲ مورد معادل ۴۲/۳ درصد) لنفوسیت‌های CD8 با تراکم بالا (۳+) داشتند، ۱۹ مورد (۳۶/۵ درصد) لنفوسیت‌های CD8 با تراکم پایین (+) و سایر نمونه‌ها، لنفوسیت‌های CD8 با تراکم ۲+ داشتند.

پیش‌آگهی دهنده یاد شده‌اند (۵-۲). علاوه بر عوامل مربوط به ماهیت تومور که در پیش‌آگهی بیماران مؤثرند، واکنش ایمنی میزبان به تومور، می‌تواند عنصر مهمی در تعیین رفتار تومور و میزان پاسخ به درمان باشد. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که پیشرفت سرطان تحت تأثیر سیستم ایمنی میزبان قرار دارد (۶). در بین این مطالعات، لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک به عنوان جزء اصلی سیستم ایمنی اکتسابی به عنوان یک عامل پیش‌آگهی دهنده‌ی بالقوه معرفی شده‌اند. این سلول‌ها، با ارایه‌ی پپتیدهای آنتی‌ژن تومورال روی سطح خود، به تحریک ایمنی سلولی و تهاجم سلول‌های ایمنی به تومور کمک می‌کند. این سلول‌ها، همچنین با تولید اینترفرون گاما، باعث سیتواستاز و توقف رشد تومور می‌شوند (۷). بنابراین، استفاده‌ی بالینی هدفمند از این نشانگر زیستی در انتخاب درمان مناسب برای بیماران، می‌تواند بهبود نتیجه‌ی درمانی برای بیماران با خطر مرگ و میر بالا و کاهش عوارض درمان برای بیماران با خطر پایین را در پی داشته باشد، درمان را هدفمند کند و میزان بقا (Survival) و کیفیت زندگی را افزایش دهد (۸).

سرطان پستان به علت شیوع بالا و قابل درمان بودن به طور مکرر از نظر ارتباط نشانگرهای ایمنولوژیک با پیش‌آگهی تحت بررسی قرار گرفته است (۷). با وجود شواهد فراوان به نفع اهمیت پاسخ سیستم ایمنی در پیش‌گویی رفتار تومور، هنوز این نشانگرها برای استفاده در بالین انتخاب نشده‌اند که علت آن، می‌تواند تفاوت قابل ملاحظه‌ی مطالعات در نشانگر زیستی مورد مطالعه، مرحله‌ی بیماری، وجود یا فقدان اطلاعات در مورد درمان انجام شده، کیفیت درمان و تفاوت جمعیت تحت مطالعه باشد (۹).

بنابراین، در این مطالعه سعی شد لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک CD8 به عنوان بخشی از سیستم ایمنی، در کنار سایر ویژگی‌های هیستوپاتولوژیک تومور بررسی شود و از نظر اهمیت و قدرت پیش‌آگهی برای مرگ و میر و بقای بیماران مبتلا به سرطان سینه مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش‌ها

طراحی مطالعه و بیماران: این مطالعه‌ی گذشته‌نگر، بر روی ۵۲ بیمار مبتلا به سرطان پستان که به روش بیوپسی و پاتولوژی طی سال‌های ۹۵-۱۳۹۰ تشخیص داده شدند و در بیمارستان الزهرای (س) شهر اصفهان تحت جراحی ماستکتومی قرار گرفته بودند، انجام شد. بیماران با تشخیص سرطان پستان اولیه وارد مطالعه شدند و بیماران که قبل از جراحی تحت درمان قرار گرفته بودند، از مطالعه حذف شدند. پارامترهای بالینی و آسیب‌شناسی شامل سن، جنس، نوع تومور، اندازه‌ی تومور، درگیری غدد لنفاوی، مرحله، درجه، تهاجم عروقی، نشانگرهای ER، PR، HER2 و Ki67 و سابقه‌ی خانوادگی از پرونده استخراج گردید.

طبق نتایج آنالیز، بین CD8 با مرگ و میر بیماران اختلاف آماری معنی‌داری دیده نشد ($P = 0/050$). در بین متغیرها، به ترتیب میان مرگ و میر با متاستاز ($P < 0/001$)، عود ($P = 0/008$)، درگیری غدد لنفاوی ($P = 0/020$) و مرحله‌ی بیماری ($P = 0/020$) ارتباط مستقیمی دیده شد. سایر متغیرها با مرگ و میر ارتباط معنی‌داری نداشتند.

بین CD8 و بقای کلی بیماران، ارتباط آماری معنی‌داری دیده نشد ($P = 0/090$). در میان متغیرهای بالینی و آسیب‌شناسی، به ترتیب درگیری غدد لنفاوی ($P = 0/003$)، مرحله‌ی بیماری ($P = 0/009$)، Ki67 ($P = 0/010$)، متاستاز ($P = 0/020$) و PR ($P = 0/020$) با بقای کلی بیماران در ارتباط بود. سایر متغیرها و بقای کلی بیماران ارتباط معنی‌داری نداشتند (جدول ۱).

سرطان در بیشتر بیماران (۳۸ مورد معادل ۷۳/۱ درصد) از نوع Invasive ductal carcinoma (IDC) بود.

از ۵۲ بیمار مطالعه شده، ۱۶ نفر (۳۰/۸ درصد) درگیری غدد لنفاوی نداشتند. در بین بیماران با درگیری غدد لنفاوی، بیشترین فراوانی (۱۶ مورد معادل ۳۰/۸ درصد) مربوط به N1 بود. در میان بیماران مورد مطالعه، فراوانی مرحله‌ی III (۲۴ بیمار معادل ۴۶/۱ درصد) از سایر مراحل بالاتر بود و از نظر درجه، ۲۷ بیمار (۵۱/۹ درصد) G2 بودند. در ۴۳ نفر (۸۲/۷ درصد) از بیماران، تهاجم لنفوواسکولار مشاهده شد. ۱۴ نفر (۲۶/۹ درصد) از نظر ER و ۱۷ نفر (۳۲/۷ درصد) از نظر PR و ۱۵ نفر (۲۸/۸ درصد) از نظر HER2 منفی بودند. میانگین Ki67 در بیماران ۳۳/۰ درصد بود.

جدول ۱. مشخصات بالینی و آسیب‌شناسی و ارتباط آن‌ها با مرگ و میر و بقای کلی بیماران

| مقدار P (بقا) | مقدار P (مرگ) | تعداد (درصد) | مشخصات بالینی و آسیب‌شناسی | مقدار P (بقا) | مقدار P (مرگ) | تعداد (درصد) | مشخصات بالینی و آسیب‌شناسی |
|---------------|---------------|--------------|----------------------------|---------------|---------------|--------------|----------------------------|
| 0/090 | 0/050 | ۱۹ (۳۶/۵) | CD8 | - | - | ۲۲/۶ ± ۹/۳ | بقای کلی |
| | | ۱۱ (۲۱/۲) | 1+ | | | ۴-۴۷ | میانگین ± انحراف معیار |
| | | ۲۲ (۴۲/۳) | 2+ | | | ۲۱ | کمینه- بیشینه |
| | | | 3+ | | | ۴۴ (۸۴/۴) | میانه |
| 0/870 | 0/980 | ۵۲/۴ ± ۱۱/۹ | میانگین ± انحراف معیار | - | - | ۸ (۱۵/۴) | مرگ و میر |
| | | ۳۱-۷۳ | سن | | | ۴/۲ ± ۴/۰ | زنده |
| | | ۵۲ | کمینه- بیشینه | 0/630 | 0/270 | ۰/۵-۱۵/۰ | فوت |
| 0/020 | 0/001 | ۳۲ (۶۱/۵) | متاستاز | | | ۳/۵ | اندازه‌ی تومور |
| | < | ۸ (۱۵/۴) | منفی | | | ۶ (۱۱/۵) | میانگین ± انحراف معیار |
| | | ۱۲ (۲۳/۱) | مثبت | 0/009 | 0/020 | ۱۴ (۲۶/۹) | کمینه- بیشینه |
| | | | نامعلوم | | | ۸ (۱۵/۴) | میانه |
| 0/360 | 0/008 | ۳۵ (۶۷/۳) | عود | | | ۱۲ (۲۳/۱) | مرحله‌ی بیماری |
| | | ۵ (۹/۶) | منفی | | | ۱۰ (۱۹/۲) | IA |
| | | ۱۲ (۲۳/۱) | مثبت | | | ۲۷ (۵۱/۹) | IIA |
| | | | نامعلوم | | | ۱۸ (۳۴/۶) | IIB |
| 0/160 | 0/65 | ۱۴ (۲۶/۹) | ER | | | ۱ (۱/۹) | III A |
| | | ۱۹ (۳۶/۵) | منفی | | | ۱۶ (۳۰/۸) | III B |
| | | ۱۹ (۳۶/۵) | مثبت | 0/240 | 0/500 | ۶ (۱۱/۵) | III C |
| | | | نامعلوم | | | ۲۷ (۵۱/۹) | 1 |
| 0/020 | 0/320 | ۱۷ (۳۲/۷) | PR | | | ۱۸ (۳۴/۶) | 2 |
| | | ۱۶ (۳۰/۸) | منفی | | | ۱ (۱/۹) | 3 |
| | | ۱۹ (۳۶/۵) | مثبت | | | ۱۶ (۳۰/۸) | نامعلوم |
| | | | نامعلوم | 0/003 | 0/020 | ۱۶ (۳۰/۸) | N0 |
| 0/630 | 0/270 | ۶ (۱۱/۵) | HER2 | | | ۱۶ (۳۰/۸) | N1 |
| | | ۸ (۱۵/۴) | 1+ | | | ۹ (۱۷/۳) | N2 |
| | | ۵ (۹/۶) | 2+ | | | ۱۰ (۱۹/۲) | N3 |
| | | ۱۲ (۳۴/۶) | 3+ | | | ۱ (۱/۹) | نامعلوم |
| 0/010 | 0/045 | ۳۳/۰ ± ۲۵/۵ | میانگین ± انحراف معیار | 0/060 | 0/160 | ۹ (۱۷/۳) | تهاجم لنفوواسکولار |
| | | ۰-۸۰ | کمینه- بیشینه | | | ۴۳ (۸۲/۷) | منفی |
| | | ۳۰ | میانه | 0/150 | 0/460 | ۳۸ (۷۳/۱) | مثبت |
| 0/210 | 0/430 | ۲۵ (۳۲/۷) | منفی | | | ۱۰ (۱۹/۲) | IDC |
| | | ۱۲ (۳۰/۸) | مثبت | | | ۲ (۳/۸) | DCIS+IDC |
| | | ۱۵ (۲۸/۸) | نامعلوم | | | ۲ (۳/۸) | ILC |
| | | | سابقه‌ی خانوادگی | | | | Coloid |
| | | | نامعلوم | | | | |

ER: Estrogen receptor; PR: Progesterone receptor; HER2: Human epidermal growth factor receptor 2; IDC: Invasive ductal carcinoma; DCIS: Ductal carcinoma in situ; ILC: Invasive lobular carcinoma

بحث

استفاده از عوامل پیش‌آگهی دهنده برای بقای بیماران سرطان پستان، نقش مهمی در فرایند درمان و مراقبت از بیماران ایفا می‌کند. اگر چه تاکنون مطالعات مختلفی برای تعیین عوامل مؤثر بر مرگ و میر و بقا در بیماران سرطان پستان انجام شده است، اما با این حال، عوامل تعیین شده در هر مطالعه، گاهی متفاوت با سایر مطالعات بوده است؛ همچنین، میزان تأثیر این عوامل نیز مورد بحث بوده است (۱۰). در این مطالعه، سعی بر این بود که علاوه بر تعیین ارزش پیش‌آگهی ویژگی‌های بالینی و آسیب‌شناسی و نشانگرهای مولکولی، سلول‌های CD8 بافت تومور نیز اندازه‌گیری شوند و از نظر تأثیر بر بقای بیماران با سایر متغیرها مقایسه شوند.

در مطالعه‌ی حاضر، هر چند میزان مرگ و میر در بیماران با CD8 +۳ بیشتر بود، اما این ارتباط معنی‌دار نبود ($P = 0/050$)، که می‌تواند در اثر تعداد کم بیمار یا میزان پایین مرگ و میر مربوط به سرطان در این مطالعه باشد.

در مطالعه‌ی مشابهی بر روی ۱۶۲ بیمار سرطان پستان، Fortis و همکاران بین CD8 و بقای بیماران ارتباط واضحی مشاهده کردند که میزان این ارتباط حتی بیش از متغیرهای مرحله‌ی بیماری، درجه، درگیری غدد لنفاوی و اندازه‌ی تومور بود. آن‌ها نشان دادند بیماران با CD8 بالا، با وجود خصوصیات بالینی و آسیب‌شناسی نامطلوب حین تشخیص، پیش‌آگهی بهتری نسبت به بیماران با CD8 پایین‌تر نشان می‌دهند (۱۱). Ali و همکاران در بررسی ۱۲۴۳۹ مورد سرطان پستان مشاهده کردند که حضور لنفوسیت‌های CD8 با کاهش خطر مرگ بیماران همراه بوده است (۱۲). Zhu و همکاران، در بررسی ۸۱ مورد سرطان پستان مشاهده کردند که بیمارانی که مقادیر بیشتری CD8 در بافت تومورال دارند، مرگ و میر کمتر و بقای ایده‌آل‌تری دارند (۱۳).

در تمامی مطالعات پیش‌گفته، افزایش CD8 با بهبود بقا و کاهش مرگ و میر همراه بوده است؛ در حالی که برخی از مطالعات، این نتیجه را تأیید نمی‌کنند. برای مثال، Matkowski و همکاران در بررسی ۸۸ بیمار مبتلا به سرطان پستان بدون تهاجم موضعی یا متاستاز، دریافتند که بین میزان CD8 و کاهش بقای بیماری ارتباط مستقیمی وجود دارد (۱۴). در مطالعه‌ی حاضر نیز فراوانی مرگ و میر در بیماران با CD8 بالاتر، بیشتر بود، هر چند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P = 0/050$). طبق نتایج برخی بررسی‌های انجام شده، بین ویژگی‌های بالینی و آسیب‌شناسی نظیر مرحله‌ی بیماری، درجه، درگیری غدد لنفاوی و ... که خود عامل مؤثری در میزان بقای بیمار محسوب می‌شوند، با میزان CD8 در تومور ارتباط وجود دارد (۹) که این همبستگی، می‌تواند توجیه‌کننده‌ی کاهش بقا با افزایش CD8 باشد.

به احتمال زیاد، علت وجود اختلاف در نتایج پژوهش‌ها مربوط به کیفیت و روند درمان باشد که در بسیاری از مطالعات در نظر گرفته نشده است، اما می‌تواند یک عامل تأثیرگذار بر روی بقای بیماران باشد. از این رو، جهت ارزیابی ارتباط بدون تأثیر این عوامل مداخله‌گر، لازم است مطالعه بر روی نمونه با حجم بالاتر و در نظر گرفتن مداخله‌ی درمانی تکرار شود.

در بررسی سایر متغیرها نظیر متغیرهای هیستوپاتولوژیک، بین درگیری غدد لنفاوی و مرحله‌ی بیماری با مرگ و میر و بقا ارتباط مستقیمی مشاهده شد که مورد تأیید بیشتر مطالعات می‌باشد. طبق بررسی‌های انجام شده، مهم‌ترین عامل مربوط به پیش‌آگهی بیماری، وجود یا عدم وجود درگیری غدد لنفاوی است. مشابه یافته‌های این مطالعه، Fisher و همکاران نیز مشاهده کردند که افزایش درگیری غدد لنفاوی با کاهش بقای بیماران همراه است (۲).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که ارتباطی میان اندازه و نوع تومور، درجه و تهاجم عروقی با میزان مرگ و میر و بقا وجود ندارد؛ در حالی که نتایج برخی مطالعات در این باره متفاوت می‌باشد. Faradmal و همکاران، در بررسی ۵۲۴ بیمار مبتلا به سرطان پستان دریافتند که خطر مرگ با اندازه‌ی تومور و متاستاز ارتباط دارد، اما با سایر متغیرها مانند مرحله‌ی بیماری، درگیری غدد لنفاوی، نوع تومور و سابقه‌ی خانوادگی، ارتباطی مشاهده نکردند (۳).

در بررسی نشانگرهای هورمونی و مولکولی مربوط به تقسیم سلولی با بقا و مرگ و میر، در مطالعه‌ی حاضر بین PR و بقای بیماران ارتباط وجود داشت، در صورتی که چنین ارتباطی در مورد ER مشاهده نشد. مشابه این نتایج توسط Purdie و همکاران نیز گزارش شده است (۴). Faradmal و همکاران نیز میان PR و افزایش خطر مرگ ارتباط گزارش کردند، اما بین ER و HER2 ارتباطی مشاهده نکردند (۳) که تأیید کننده‌ی نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. Li و همکاران، دریافتند بقای کلی بیماران با مرحله‌ی بیماری، درگیری غدد لنفاوی و نشانگرهای ER، PR، HER2 و Ki67 در ارتباط است (۵) که در مورد ER و HER2 متفاوت با نتایج مطالعه‌ی حاضر می‌باشد. در مجموع، با وجود این که اغلب مطالعات همانند مطالعه‌ی حاضر بیانگر اهمیت درگیری غدد لنفاوی و مرحله‌ی بیماری به عنوان عامل پیش‌گویی کننده‌ی بقا هستند، اما بین قدرت پیش‌گویی سایر متغیرها در مطالعات مختلف، اختلاف می‌باشد که نیازمند انجام مطالعات گسترده‌تر در این زمینه است.

در پایان، مطالعه‌ی حاضر نشان داد که به ترتیب اهمیت، درگیری غدد لنفاوی، مرحله‌ی بیماری، Ki67، نشانگر PR و متاستاز، با بقای کلی بیماری در ارتباط می‌باشند. علاوه بر این، متاستاز، عود، درگیری غدد لنفاوی، مرحله‌ی بیماری و Ki67 به ترتیب با میزان مرگ و میر

تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه‌ی شماره‌ی ۳۹۵۸۷۸ دوره‌ی دکترای حرفه‌ای مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. از آزمایشگاه دکتر برادران و دکتر حیدرپور جهت همکاری در رنگ‌آمیزی IHC قدردانی می‌شود.

بیماری ارتباط داشته‌اند، اما شاهدهی بر نقش پیش‌آگهی دهنده‌ی CD8 وجود نداشت. با توجه به اختلاف در نتایج مطالعات مختلف، جهت تعیین ارزش پیش‌آگهی نشانگرهای سیستم ایمنی و مقایسه با سایر عوامل مؤثر در مرگ و میر و بقا، انجام مطالعات با در نظر گرفتن چندین رده‌ی سلول ایمنی و پی‌گیری طولانی مدت بیماران توصیه می‌گردد.

References

1. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64(1): 9-29.
2. Fisher B, Bauer M, Wickerham DL, Redmond CK, Fisher ER, Cruz AB, et al. Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. An NSABP update. *Cancer* 1983; 52(9): 1551-7.
3. Faradmal J, Mafi M, Sadighi-Pashaki A, Karami M, Roshanaei G. Factors affecting survival in breast cancer patients referred to the Darol Aitam-e Mahdieh Center. *Zahedan J Res Med Sci* 2014; 22 (93): 105-15.
4. Purdie CA, Quinlan P, Jordan LB, Ashfield A, Ogston S, Dewar JA, et al. Progesterone receptor expression is an independent prognostic variable in early breast cancer: A population-based study. *Br J Cancer* 2014; 110(3): 565-72.
5. Li FY, Wu SG, Zhou J, Sun JY, Lin Q, Lin HX, et al. Prognostic value of Ki-67 in breast cancer patients with positive axillary lymph nodes: A retrospective cohort study. *PLoS One* 2014; 9(2): e87264.
6. Allen M, Louise JJ. Jekyll and Hyde: The role of the microenvironment on the progression of cancer. *J Pathol* 2011; 223(2): 162-76.
7. Smyth MJ, Dunn GP, Schreiber RD. Cancer immunosurveillance and immunoediting: The roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. *Adv Immunol* 2006; 90: 1-50.
8. Ogino S, Galon J, Fuchs CS, Dranoff G. Cancer immunology--analysis of host and tumor factors for personalized medicine. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8(12): 711-9.
9. Galon J, Pages F, Marincola FM, Angell HK, Thurin M, Lugli A, et al. Cancer classification using the Immunoscore: A worldwide task force. *J Transl Med* 2012; 10: 205.
10. Mirza AN, Mirza NQ, Vlastos G, Singletary SE. Prognostic factors in node-negative breast cancer: A review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years. *Ann Surg* 2002; 235(1): 10-26.
11. Fortis SP, Sofopoulos M, Sotiriadou NN, Haritos C, Vaxevanis CK, Anastasopoulou EA, et al. Differential intratumoral distributions of CD8 and CD163 immune cells as prognostic biomarkers in breast cancer. *J Immunother Cancer* 2017; 5: 39.
12. Ali HR, Provenzano E, Dawson SJ, Blows FM, Liu B, Shah M, et al. Association between CD8+ T-cell infiltration and breast cancer survival in 12,439 patients. *Ann Oncol* 2014; 25(8): 1536-43.
13. Zhu S, Lin J, Qiao G, Xu Y, Zou H. Differential regulation and function of tumor-infiltrating T cells in different stages of breast cancer patients. *Tumour Biol* 2015; 36(10): 7907-13.
14. Matkowski R, Gisterek I, Halon A, Lacko A, Szewczyk K, Staszek U, et al. The prognostic role of tumor-infiltrating CD4 and CD8 T lymphocytes in breast cancer. *Anticancer Res* 2009; 29(7): 2445-51.

The Relationship of CD8-Positive Cytotoxic T Lymphocytes and other Clinicopathologic Features with Survival in Breast Cancer

Simin Hemati¹, Mitra Heidarpour², Awat Feizi³, Fatemeh Abootalebian⁴

Original Article

Abstract

Background: CD8-positive T lymphocytes are important part of cell-mediated immunity and play a central role in induction of immune response against tumor progression. So, these cells might have potential to be used in clinic along with other prognostic biomarkers; however no definite comparison on validation of this maker has been conducted. The purpose of this study was to assess the role of CD8-positive cells in breast cancer outcome and to compare the correlation of tumor-infiltrating CD8-positive cytotoxic lymphocyte density and clinicopathologic parameters with mortality and survival rates in breast cancer.

Methods: CD8-positive T cells were detected via immunohistochemistry using the paraffin-embedded tumor samples of 52 patients with breast cancer. Clinicopathologic data including tumor type and grade, lymph node involvement, stage, lymphovascular invasion, metastasis, relapse, patient's family history, and estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), and Ki67 markers were reviewed. Mortality and survival rates were obtained.

Findings: There were no statically significant correlations between presence of CD8 and mortality ($P = 0.05$) or survival ($P = 0.09$). Increased mortality rate was significantly associated with increased Ki67 ($P = 0.045$), lymph node metastasis ($P = 0.020$), higher stage ($P = 0.020$), metastasis ($P < 0.001$), and relapse ($P = 0.008$). In addition, overall survival was significantly associated with lymph node involvement ($P = 0.003$), higher stage ($P = 0.009$), metastasis ($P = 0.020$), negative PR ($P = 0.020$), and negative Ki67 ($P = 0.010$).

Conclusion: Although some previous studies reported CD8 as a prognostic marker to be complementary of tumor, node, and metastasis (TNM) staging, but our data did not show any correlation between the presence of CD8 with mortality or survival. The role of immunologic reaction in tumor microenvironment should be further validated using larger patient population with analysis of multiple immune cell lines together.

Keywords: Breast cancer, Prognostic factors, CD8-positive T-Lymphocytes

Citation: Hemati S, Heidarpour M, Feizi A, Abootalebian F. **The Relationship of CD8-Positive Cytotoxic T Lymphocytes and other Clinicopathologic Features with Survival in Breast Cancer.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(448): 1309-14.

1- Assistant Professor, Department of Radiotherapy Oncology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

3- Associate Professor, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

Corresponding Author: Fatemeh Abootalebian, Email: fa.abootalebian@yahoo.com

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
2. **Ali Akhavan** MD, Assistant Professor of Radiotherapy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3. **Mohammadreza Akhlaghi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, 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. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Majid Berekatain** MD, Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Ken Bassett** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
10. **Ahmad Chitsaz** MD, Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
11. **Afsoon Emami** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12. **Shahin Emami** Department of Biochemistry, Saint Antoine Hospital, Paris, France
13. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
14. **Faramarz Esmailbeigi** MD, Professor of Endocrinology, School of Medicine, California, USA
15. **Ahmad Esmailzadeh** PhD, Professor of Nutrition, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
16. **Ziba Farajzadegan** MD, Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
17. **Aziz Gahari** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
18. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Mostafa Hashemi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
20. **Saied Morteza Heidari** MD, Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
21. **Ali Hekmatnia** MD, Professor of Radiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
22. **Fariba Iraji** MD, Professor of Dermatology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
24. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics & Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
25. **Majid Kheirollahi** PhD, Associate Professor of Genetics and Molecular Biology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. **Parvin Mahzooni** MD, Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
27. **Marjan Mansourian** PhD, Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. **Mohammad Mardani** MD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
29. **Mehdi Modares** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
30. **Etiye Moghisi** MD, Professor of Endocrinology, Endocrine and Metabolism Research Center, USA
31. **Mohammadreza Nourbakhsh** PhD, Professor of Physiotherapy, Georgia, USA
32. **Farzin Pourfarzad** PhD, Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands
33. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
34. **Maryam Radahmadi** PhD, Assistant Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
35. **Hassan Razmju** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. **Reza Rouzbahani** MD, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
37. **Masih Saboori** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
38. **Mohammad Reza Safavi** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
39. **Rasoul Salehi** PhD, Assistant Professor of Genetics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. **Mansour Sholevar** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. **Mohammadreza Sharifi** MD, PhD, Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
42. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 35, No. 448, 4th Week November 2017

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

Associate Editor: **Maryam Radahmadi PhD**

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

Email: publications@mui.ac.ir

Office:

P.O. Box 81744-176, Isfahan, I.R. IRAN

Tel/fax: +98 31 37922291

Email: jims@med.mui.ac.ir

Website: <http://jims.mui.ac.ir>

Executive Manager: Ali Moradi, Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy Edit, Layout Edit, Proof Reading, Design, Print and Online Support:

FaRa Publishing House (Farzanegan Radandish)

Email: farapublications@gmail.com

<http://farapub.com>

Tel/fax: +98 31 32224382

Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexes

- 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.