

### مقاله های پژوهشی

- بررسی ارتباط تابش نور خورشید، رطوبت نسبی هوا و میانگین دمای سالیانه با ابتلا به بیماری Multiple Sclerosis در استان اصفهان بین سال های ۹۳-۱۳۸۰ ..... ۴۳۴  
 آرزو کریمی، علی دلپیشه، فرشته اشتری، کورش سایه میری، رخساره معمار
- مقایسه ی تمایز سلول های B به پلاسمابلاست در حضور محرک های Anti-human CD40 و Anti-IgM f(ab)<sup>2</sup> و یا لیپولی ساکارد (LPS) و Anti-human CD40 (در شرایط آزمایشگاه) ..... ۴۴۰  
 ساناز افشار قاسملو، نفیسه اسمعیل، مزدک گنجعلی خانی حاکمی، عباس رضایی، رضا یزدانی، فایزه عباسی راد
- بررسی ارزش اسکن رادیوایزوتوپ و سونوگرافی در تشخیص ریفلکس معده به مری در اطفال ۱۳ تا ۱۴ ساله ..... ۴۴۷  
 حسین صانعیان، محسن قربانی، جمال فقیهی نیا
- بررسی بیان گیرنده ی پولیوویروس (پروتئین CD155) در سطح Messenger RNA (mRNA) و پروتئین در رده ی سلولی سرطان کولورکتال ..... ۴۵۳  
 ساره ژند، سید مسعود حسینی، علیجان تبرانی، محسن سعیدی، عبدالوهاب مرادی
- بررسی مقایسه ای تغییرات قلبی-عروقی تجویز دوز ژیم دارویی پروپوفول و تیوپنتال سدیم در بیهوشی کودکان تحت الکتروشوک درمانی ... ۴۶۳  
 بهزاد ناظم رعایا، سید وحید سید معلمی، سید علی امامی

### Original Articles

- The Relationship between the Amount of Radiation, Relative Humidity, and Temperature with the Risk of Multiple Sclerosis in Isfahan Province, Iran, during the Years 2001-2014 ..... 439  
 Arezoo Karimi, Ali Delpisheh, Fereshteh Ashtari, Kourosh Sayehmiri, Rokhsareh Meamar
- Comparison of B-Cells Differentiation to Plasmablasts at Presence of Anti-Human CD40 and Anti-Immunoglobulin M f(ab)<sup>2</sup> or Lipopolysaccharide and Anti-Human CD40 Stimulators (In-Vitro) ..... 446  
 Sanaz Afshar-Qasemloo, Nafiseh Esmail, Mazdak Ganjalikhani-Hakemi, Abbas Rezaei, Reza Yazdani, Faezeh Abbasi-Rad
- Comparison of Radioisotope Scan and Ultrasonography in Diagnosis of Gastroesophageal Reflux in 2-13-Year-Old Children ..... 452  
 Hossein Saneian, Mohsen Ghorbani, Jamal Faghini
- Study of the Transcript and Protein Expression of Poliovirus Receptor (CD155 Protein) on Colorectal Cancer Cell Line ..... 462  
 Sareh Zhand, Seyed Masoud Hoseini, Alijan Tabarraei, Mohsen Saeedi, Abdovahab Moradi
- Comparison of Cardiovascular Effects of Propofol versus Sodium Thiopental Anesthesia in Children Undergoing Electroconvulsive Therapy (ECT) ..... 469  
 Behzad Nazemoroaya, Sayedvahid Sayedmoalemi, Sayed Ali Emami



## مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و پنجم، شماره (۴۲۷)، هفتمه سوم خردادماه 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

### ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

Email: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی      صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مدیر اجرایی: علی مرادی      مسؤول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱      تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

Email: jims@med.mui.ac.ir

وب سایت مجله: http://jims.mui.ac.ir

### 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

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 زیست شناسی 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 حکمت نیا
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 عادل
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 آسیب شناسی 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 هفته‌نامه، تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد. این مجله اقدام به انتشار مقالات علمی در زمینه پژوهش‌های علوم پزشکی (پایه و بالینی) و رشته‌های وابسته به آن می‌نماید. مقالاتی در این مجله پذیرفته می‌شوند 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 می‌نماید و بر روی وب سایت مجله به آدرس <http://jims.mui.ac.ir> قرار می‌دهد. مقالات ارسالی باید در فرمت پیشنهادی مجله ارسال گردند و به دست نوشته‌هایی 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 می‌نماید و چنانچه مقاله در بررسی اولیه مورد تأیید باشد، برای داوری ارسال می‌شود. زمان فرایند داوری (از دریافت تا پذیرش نهایی آن) ۳ ماه و در صورت تقاضا جهت بررسی سریع‌تر با شرایط ذکر شده در راهنمای نویسندگان ۲۵-۲۰ روز می‌باشد. 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 نوشته‌ها 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>، می‌توانند وارد صفحه شخصی خود شده و تمامی بخش‌ها 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 می‌شود. 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.
- نویسنده‌ای که برای بار دوم اقدام به ارسال مقاله اصلاح شده خود می‌نماید، 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 نمی‌باشد.
- فایل‌هایی که نویسنده در مرحله اولیه ارسال می‌کنند 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 فایل‌ها، با ارسال یک فایل تعهد نامه که به امضای همه نویسندگان رسیده است، حق انتشار مقاله را به مجله دانشکده پزشکی اصفهان واگذار می‌نمایند. 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 نمی‌باشد.
- 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 می‌باشد. 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 نمی‌باشد.

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 تاپ 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. 15<sup>th</sup> ed. New York, NY: Oxford Univ Press; 1987.

نمونه فارسی:

Azizi F, Janghorbani M, Hatami H. Epidemiology and control of common disorders in Iran. 2<sup>nd</sup> 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. 6<sup>th</sup> 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](http://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

بررسی ارتباط تابش نور خورشید، رطوبت نسبی هوا و میانگین دمای سالیانه با ابتلا به بیماری **Multiple Sclerosis** در استان اصفهان بین سال‌های ۹۳-۱۳۸۰..... ۴۳۴

آرزو کریمی، علی دل‌پیشه، فرشته اشتری، کورش سایه‌میری، رخساره معمار

مقایسه‌ی تمایز سلول‌های **B** به پلاسما بلاست در حضور محرک‌های **Anti-human CD40** و **Anti-IgM f(ab)<sup>2</sup>** و یا لیوپلی ساکارید **(LPS)** و **Anti-human CD40** (در شرایط آزمایشگاه)..... ۴۴۰

ساناز افشار قاسملو، نفیسه اسمعیل، مزدک گنجعلی خانی حاکمی، عباس رضایی، رضا یزدانی، فایزه عباسی‌راد

بررسی ارزش اسکن رادیوایزوتوپ و سونوگرافی در تشخیص ریفلاکس معده به مری در اطفال ۲ تا ۱۳ ساله..... ۴۴۷

حسین صانعیان، محسن قربانی، جمال فقیهی‌نیا

بررسی بیان گیرنده‌ی پولیوویروس (پروتئین **CD155**) در سطح **Messenger RNA (mRNA)** و پروتئین در رده‌ی سلولی سرطان کولورکتال..... ۴۵۳

ساره ژند، سید مسعود حسینی، علیجان تهرانی، محسن سعیدی، عبدالوهاب مرادی

بررسی مقایسه‌ای تغییرات قلبی- عروقی تجویز دو رژیم دارویی پروپوفول و تیوپنتال سدیم در بیهوشی کودکان تحت الکتروشوک‌درمانی..... ۴۶۳

بهزاد ناظم رعایا، سید وحید سید معلمی، سید علی امامی

## بررسی ارتباط تابش نور خورشید، رطوبت نسبی هوا و میانگین دمای سالیانه با ابتلا به بیماری

## Multiple Sclerosis در استان اصفهان بین سال‌های ۹۳-۱۳۸۰

آرزو کریمی<sup>۱</sup>، علی دل‌پیشه<sup>۲</sup>، فرشته اشتری<sup>۳</sup>، کورش سایه‌میری<sup>۴</sup>، رخساره معمار<sup>۵</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** Multiple sclerosis (MS)، یک بیماری خود ایمنی مرتبط با التهاب سیستم اعصاب مرکزی انسان است که در ارتباط با عوامل ژنتیکی و محیطی می‌باشد. طول و عرض جغرافیایی، زندگی در سواحل و تماس با آلاینده‌های محیطی در ارتباط با ابتلا به این بیماری می‌باشند. مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی ارتباط برخی عوامل محیطی با ابتلا به MS در استان اصفهان انجام شد.

**روش‌ها:** مطالعه‌ی حاضر، به صورت توصیفی-تحلیلی جهت بررسی ارتباط میزان تابش، رطوبت نسبی و دما با ابتلا به MS بر روی ۲۰۰۰ بیمار در استان اصفهان بین سال‌های ۹۳-۱۳۸۰ انجام شد. جهت تهیه‌ی نقشه‌های جغرافیایی، از نرم‌افزار Arc GIS و برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های Kruskal-Wallis، مقایسه‌ی نسبت‌ها، رگرسیون لجستیک و ضریب همبستگی استفاده شد.

**یافته‌ها:** میزان بروز تجمعی ۱۳ ساله‌ی بیماری MS در استان اصفهان ۴۸/۲۶، در مردان ۲۰/۹۷ و در زنان ۷۶/۳۸ در ۱۰۰۰۰۰ نفر برآورد شد. ارتباط آماری معنی‌داری بین تابش نور خورشید با ابتلا به بیماری MS مشاهده شد، اما میانگین رطوبت نسبی و دما در این زمینه ارتباط معنی‌داری را نشان نداد.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس یافته‌ها، میزان تابش نور خورشید با ابتلا به بیماری MS در استان اصفهان ارتباط دارد، اما ارتباطی بین میانگین دمای سالیانه و رطوبت نسبی مشاهده نشد. از این رو، پیشنهاد می‌گردد مطالعاتی در سطح فردی جهت بررسی این رابطه انجام شود.

**واژگان کلیدی:** Multiple sclerosis، تابش نور خورشید، رطوبت، میانگین دمای سالیانه

**ارجاع:** کریمی آرزو، دل‌پیشه علی، اشتری فرشته، سایه‌میری کورش، معمار رخساره. بررسی ارتباط تابش نور خورشید، رطوبت نسبی هوا و میانگین دمای سالیانه

با ابتلا به بیماری Multiple Sclerosis در استان اصفهان بین سال‌های ۹۳-۱۳۸۰. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۲۷): ۴۳۹-۴۳۴

منطقه‌ی جغرافیایی، بین ۳۷/۰-۳۷/۵ درصد می‌باشد (۳).

بر اساس اطلس جهانی MS در سال ۲۰۰۸، میزان شیوع این بیماری در جهان ۳۰ و میزان بروز آن ۲/۵ در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر برآورد گردید، که به ترتیب اروپا، مدیترانه‌ی شرقی، آمریکا، جنوب شرقی آسیا و آفریقا، بیشترین میزان را به خود اختصاص داده بودند و در سال ۲۰۱۳ آمریکا، اروپا و غرب اقیانوس آرام، بیشترین میزان شیوع را دارا بودند (۴-۵). در هفتمین کنگره‌ی بین‌المللی MS، تعداد مبتلایان در ایران حدود ۴۰۰۰۰ نفر و در سال ۲۰۱۳ میزان شیوع

## مقدمه

بیماری Multiple sclerosis (MS)، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی است که موجب تخریب غلاف میلین سلول‌های عصبی می‌گردد و شایع‌ترین بیماری منجر به ناتوانی در نوجوانان و جوانان می‌باشد (۱). سیر بیماری متغیر است؛ به طوری که حدود ۹۰ درصد از بیمارانی که بیماری آن‌ها قبل از ۴۰ سالگی رخ داده است، دوره‌هایی از بهبودی کامل و عود بیماری را نشان می‌دهند و ۲۰-۱۰ درصد آن‌ها سیر پیش‌رونده دارند (۲). میزان بروز این بیماری بسته به

۱- گروه اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

۲- استاد، گروه اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

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

۴- دانشیار، مرکز تحقیقات پیش‌گیری از آسیب‌های روانی-اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

۵- دانشیار، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤو: علی دل‌پیشه

مطالعه شدند. افرادی که از سایر استان‌های کشور مراجعه نموده بودند یا در سال‌های قبل از تشخیص بیماری ساکن استان دیگری بودند، دارای تشخیص قطعی ابتلا به MS نبودند و افرادی که بیماری آن‌ها قبل از سال‌های پیش‌گفته تشخیص داده شده بود، از مطالعه خارج شدند.

استخراج اطلاعات مورد نیاز با استفاده از پرسش‌نامه‌ی محقق ساخته که روایی و پایایی آن توسط استادان اپیدمیولوژی بالینی و با استفاده از آزمون Cronbach's alpha مورد تأیید قرار گرفته بود، انجام شد. این پرسش‌نامه، دارای ۱۲ سؤال در حیطه‌ی اطلاعات جمعیت‌شناختی و ۵ سؤال در حیطه‌ی اطلاعات جغرافیایی محل سکونت بیماران بود. با توجه به این که بیماران جهت درمان به مراکز تخصصی پیش‌گفته مراجعه می‌نمودند، طی مراجعه به این مراکز و کسب موافقت آگاهانه از بیماران، نسبت به تکمیل پرسش‌نامه توسط بیماران و استخراج اطلاعات مورد نیاز از پرونده‌ی آن‌ها اقدام شد. در ابتدا، جهت برآورد Cronbach's alpha تعداد ۸۰ پرسش‌نامه در میان بیماران توزیع گردید. پس از تکمیل پرسش‌نامه‌ها توسط بیماران، داده‌ها وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) شد و پس از تجزیه و تحلیل آماری، Cronbach's alpha معادل ۰/۷۱۷ به دست آمد که روایی و پایایی مطلوب این پرسش‌نامه را تأیید می‌کرد. از این پرسش‌نامه، اطلاعات مورد نیاز شامل سن، جنس، سال بروز بیماری، محل سکونت و اطلاعات جغرافیایی مرتبط با محل سکونت بیماران استخراج شد.

جهت ترسیم نقشه‌های Geographical information system (GIS)، داده‌های میزان تابش نور خورشید با واحد کیلوژول بر مترمربع ( $Kj/m^2$ )، دما با واحد درجه‌ی سانتی‌گراد ( $^{\circ}C$ ) و رطوبت نسبی با واحد درصد جمع‌آوری شد. آن گاه، داده‌ها وارد نرم‌افزار Excell گردید و به نرم‌افزار Arc GIS.ver10.3 اضافه شد. این نرم‌افزار دارای قابلیت ساخت نقشه‌های GIS با استفاده از طول و عرض جغرافیایی است و همچنین، می‌توان با استفاده از آن خصوصیات جغرافیایی و بیماری‌ها را به صورت نقشه ترسیم نمود. در نتیجه، پس از ترسیم نقشه‌ی GIS استان اصفهان، داده‌های عوامل جغرافیایی و اطلاعات بیماران به این نرم‌افزار اضافه شد و نقشه‌ی بروز این بیماری بر اساس تابش نور خورشید، میانگین دمای سالیانه و رطوبت نسبی ترسیم گردید. جهت برآورد میزان بروز جمعیتی بیماری در دوره‌ی ۱۳ ساله، جمعیت ابتدای سال ۱۳۸۰ به عنوان مخرج کسر در نظر گرفته شد و تعداد بیماران طی این دوره در صورت کسر قرار گرفت. در نهایت، میزان بروز جمعیتی بیماری با ضریب در ۱۰۰۰۰۰ نفر محاسبه شد.

برای تحلیل داده‌ها، از آزمون‌های آماری مقایسه‌ی نسبت‌ها و آزمون Kruskal-Wallis استفاده شد. برای محاسبه‌ی بروز جمعیتی بیماری MS، از جمعیت ابتدای سال ۱۳۸۰ استفاده گردید.

بیماری MS در کشور بین ۶۰-۲۰ در ۱۰۰۰۰۰ نفر گزارش گردید (۶-۵) که در بین استان‌های کشور، اصفهان با شیوع ۶۰-۱۵ در ۱۰۰۰۰۰ نفر، بالاترین میزان را به خود اختصاص داده بود (۷).

عوامل محیطی و جغرافیایی مانند طول و عرض جغرافیایی و منطقه‌ی اقلیمی، با ابتلا به MS در ارتباط می‌باشند؛ به طوری که میزان شیوع بیماری در مناطق گرمسیری نادر می‌باشد (۹-۸). توزیع و انتشار بسیاری از بیماری‌ها به شرایط جغرافیایی وابسته است. وجود موانع طبیعی نظیر کوهستان و دریاها از یک طرف و وابستگی بعضی از عوامل بیماری‌زا به شرایط محیطی و اقلیمی خاص از طرف دیگر، باعث محدود شدن بعضی از بیماری‌ها به مناطق خاصی گردیده است. بنابراین، جغرافیا و مکان در بررسی بیماری‌ها از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشند (۱۰).

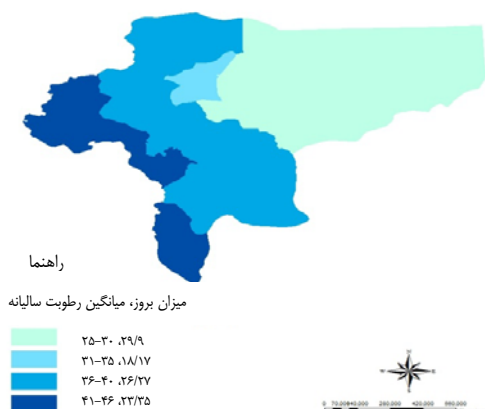
بیماری MS در کشور ایران و به خصوص در استان اصفهان بروز و شیوع بالایی دارد (۷). این بیماری، موجب معلولیت و ناتوانی در افراد به خصوص در سنین جوانی می‌شود. جهت پیش‌گیری از پیشرفت و عود بیماری، به درمان با داروهای گران قیمت نیاز می‌باشد که موجب تحمیل هزینه‌های زیادی بر سیستم‌های بهداشتی و درمانی گردیده است. همچنین، با توجه به این که این بیماری زنان و مردان را در سنین جوانی مبتلا می‌نماید و پس از ابتلا به این بیماری، این افراد قادر به اشتغال و فعالیت نمی‌باشد، هزینه‌های محسوس و نامحسوس زیادی بر فرد، خانواده و جامعه تحمیل می‌گردد. از این رو، شناسایی عوامل خطر و سیر بیماری‌زایی این بیماری در پیش‌گیری از ابتلا به آن امری ضروری می‌باشد. یکی از عوامل مورد توجه محققان، ارتباط عوامل محیطی و جغرافیایی با ابتلا به این بیماری (۱۱) می‌باشد.

مطالعه‌ای در استان اصفهان جهت بررسی ارتباط عوامل جغرافیایی با ابتلا به بیماری MS انجام نشده بود. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی ارتباط میزان تابش نور خورشید، رطوبت نسبی و میانگین دمای سالانه با ابتلا به MS در استان اصفهان انجام شد تا بتوان با انجام اقدامات پیش‌گیرانه و کاهش تماس با این عوامل محیطی و جغرافیایی، میزان ابتلا به این بیماری را کاهش داد.

## روش‌ها

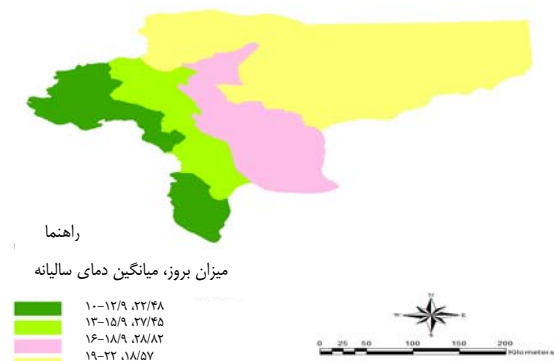
مطالعه‌ی حاضر به صورت توصیفی-تحلیلی در استان اصفهان طی سال‌های ۹۳-۱۳۸۰ انجام شد. در این بازه‌ی زمانی، تعداد ۲۰۰۰ بیمار ثبت شده در بیمارستان‌های فوق تخصصی الزهرا (س) و شهید آیت‌اله کاشانی شهرستان اصفهان که مراکز اصلی درمان بیماران MS در استان اصفهان می‌باشند و کلیه بیماران جهت درمان به این مراکز مراجعه می‌نمایند، وارد مطالعه شدند. کلیه‌ی بیمارانی که طی سال‌های مطالعه دارای تشخیص قطعی ابتلا به MS و ساکن استان اصفهان بودند، وارد

رابطه‌ی آماری معنی‌دار نبود ( $P = ۰/۳۵۰$ ) (شکل ۲).



شکل ۲. میزان بروز تجمعی بیماری Multiple sclerosis (MS) در استان اصفهان بر اساس میانگین رطوبت نسبی سالیانه

بیشترین میزان بروز بیماری بر اساس میانگین دمای سالیانه، متعلق به منطقه‌ای با میانگین دمای  $۱۶/۰-۱۸/۹$  درجه‌ی سانتی‌گراد ( $۲۸/۸۲$  در  $۱۰۰۰۰۰$  نفر) و کمترین آن متعلق به منطقه‌ای با میانگین دمای  $۲۲/۰-۱۹/۰$  درجه‌ی سانتی‌گراد ( $۱۸/۵۷$  در  $۱۰۰۰۰۰$  نفر) بود. منطقه‌ی غرب استان اصفهان، به علت کوهستانی بودن و شرایط آب و هوای سرد و مرطوب دارای میانگین دمای سالیانه‌ی کمتر و منطقه‌ی شرق به علت هم‌جواری با مناطق خشک و کویری، دارای میانگین دمای بالا می‌باشد. بر اساس نتایج، هر چه از سمت غرب استان به سمت شرق حرکت می‌نماییم، میزان دما و میزان بروز بیماری افزایش یافت، اما در نهایت در منطقه‌ی دارای دمای  $۱۹-۲۲$  درجه‌ی سانتی‌گراد، بروز بیماری کاهش یافت که بر اساس آزمون Kruskal-Wallis، ارتباط آماری معنی‌داری به دست نیامد ( $P = ۰/۶۲۰$ ) و با افزایش میانگین دمای سالیانه، میزان بروز بیماری تغییر قابل توجهی نشان نداد (شکل ۳).



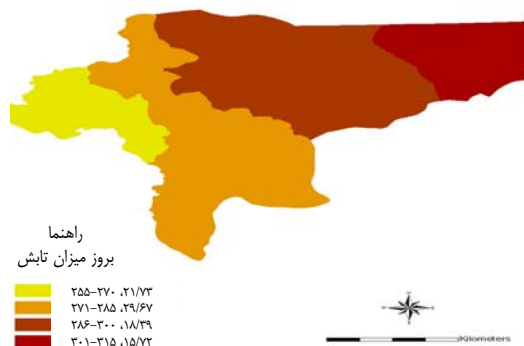
شکل ۳. میزان بروز تجمعی بیماری Multiple sclerosis (MS) در استان اصفهان بر اساس میانگین دمای سالیانه

نقشه‌سازی میزان تابش نور خورشید، رطوبت نسبی و میانگین دمای سالانه با استفاده از نرم‌افزار Arc GIS.ver10.3 انجام شد.

### یافته‌ها

میانگین سنی بیماران  $۳۰/۱۵ \pm ۹/۷۰$  سال، با حداقل سن ابتلای ۴ سال و حداکثر سن ابتلای ۶۶ سال بود. ۷۷/۹ درصد از بیماران را زنان تشکیل داده بودند. میانگین سنی زنان و مردان به ترتیب  $۲۹/۷۲ \pm ۹/۲۲$  و  $۳۱/۷۰ \pm ۹/۷۰$  سال بود. همچنین، ۶۹/۲ درصد از بیماران متأهل، ۲۷/۳ درصد مجرد، ۲/۶ درصد متارکه کرده و ۱/۰ درصد همسر فرد متوفی بودند. میزان بروز تجمعی ۱۳ ساله‌ی بیماری MS در استان اصفهان  $۴۸/۲۶$  در  $۱۰۰۰۰۰$  نفر بود که این میزان در مردان  $۲۰/۹۷$  در  $۱۰۰۰۰۰$  مرد و  $۷۶/۳۸$  در  $۱۰۰۰۰۰$  زن برآورد شد.

بیشترین میزان بروز تجمعی بیماری بر اساس میزان تابش نور خورشید در محل سکونت بیماران، متعلق به میزان تابش  $۲۷۱-۲۸۵$  کیلوژول بر مترمربع ( $۲۹/۶۷$  در  $۱۰۰۰۰۰$  نفر) و کمترین میزان، مربوط به میزان تابش  $۳۰۱-۳۱۵$  کیلوژول بر مترمربع ( $۱۵/۷۲$  در  $۱۰۰۰۰۰$  نفر) بود و با افزایش میزان تابش نور خورشید، میزان بروز بیماری کاهش می‌یافت که این رابطه‌ی آماری معنی‌دار بود ( $P = ۰/۱۰/۰$ ) (شکل ۱).



شکل ۱. میزان بروز تجمعی بیماری Multiple sclerosis (MS) در استان اصفهان بر اساس میزان تابش نور خورشید

بر این اساس، در منطقه‌ی غرب و جنوب غرب استان اصفهان که کوهستانی بود و میزان روزهای آفتابی آن به نسبت کمتر بود، بروز بیماری بیشتر و در منطقه‌ی شرق این استان که بیشتر به صورت نیمه کویری با تابش بیشتر نور خورشید بود، بروز بیماری کمتر دیده شد. بررسی میزان بروز بیماری بر اساس میزان رطوبت نسبی نشان داد که بیشترین میزان بروز بیماری به مناطق با رطوبت نسبی ۲۵-۳۰ درصد با بروز  $۲۹/۹$  در  $۱۰۰۰۰۰$  نفر و کمترین آن به مناطق با رطوبت نسبی ۳۱-۳۵ درصد با بروز  $۱۸/۱۷$  در  $۱۰۰۰۰۰$  نفر تعلق داشت، اما این

## بحث

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، ارتباط معنی‌داری بین تابش نور خورشید با ابتلا به بیماری MS نشان داد؛ به طوری که با افزایش میزان تابش نور خورشید، میزان بروز بیماری کاهش می‌یافت.

اگر چه با افزایش رطوبت نسبی و میانگین دمای سالیانه، میزان بروز بیماری افزایش می‌یافت، اما ارتباط آماری معنی‌داری بین رطوبت نسبی و میانگین دمای سالیانه، با ابتلا به این بیماری مشاهده نشد. در مطالعه‌ی Salvi و همکاران در ایتالیا بر روی بیماران مبتلا به MS، ارتباط آماری معنی‌داری بین ماه‌های سال، دمای محیط و رطوبت نسبی با ابتلا به بیماری مشاهده شد؛ به طوری که بیشترین میزان بروز MS به ماه‌های اردیبهشت و خرداد و کمترین میزان به شهریور تعلق داشت. همچنین، با افزایش میزان رطوبت نسبی و افزایش میانگین دما، میزان بروز بیماری به مراتب افزایش می‌یافت (۱۲). در سایر مطالعات انجام شده، بین ماه تولد و دما در ماه‌های مختلف سال با ابتلا به این بیماری ارتباط معنی‌داری مشاهده شد. در این مطالعات، خطر ابتلا به MS در افرادی که در ماه‌های می و ژوئن متولد شده بودند، بیشتر از افراد متولد شده در سایر ماه‌های سال بود. همچنین، بروز بیماری در مناطق گرمسیری بیشتر از مناطق سردسیر بود (۱۳-۱۵).

Munger و Ascherio، در مطالعه‌ی خود نشان دادند که تابش نور خورشید و افزایش ویتامین D در بدن، نقش حفاظتی در ابتلا به MS دارند (۱۶). Jelinek و همکاران، در مطالعه‌ی خود نشان دادند

سکونت در نیم‌کره‌ی شمالی و کاهش میزان تابش نور خورشید در محل سکونت بیماران و کاهش دریافت ویتامین D، میزان بروز بیماری را افزایش می‌دهد (۱۷). در مطالعه‌ی Roberg و Bruce، ارتباط آماری معنی‌داری بین دمای محیط با ابتلا به بیماری MS مشاهده نشد (۱۸). Grant در مطالعه‌ی مروری خود ذکر نمود که میزان تابش اشعه‌ی ماورای بنفش و ویتامین D در ارتباط با ابتلا به MS می‌باشد؛ به طوری که افزایش تابش نور خورشید و افزایش ذخیره‌ی ویتامین D3 در بدن موجب کاهش ابتلا به MS می‌گردد (۱۹).

در مطالعه‌ی حاضر، ارتباط معنی‌داری بین تابش نور خورشید با ابتلا به بیماری MS مشاهده شد که با نتایج سایر مطالعات انجام شده در این زمینه هم‌خوانی دارد. اگر چه با افزایش میانگین دمای سالیانه، میزان بروز بیماری افزایش می‌یافت، اما ارتباط آماری معنی‌داری بین میانگین رطوبت نسبی سالیانه و میانگین دمای سالیانه با ابتلا به این بیماری مشاهده نشد. در نهایت، به طور کلی نمی‌توان اظهار نمود که عوامل محیطی به طور اختصاصی در افزایش ابتلا مؤثر می‌باشند و جهت تأیید این نظریه، نیاز به انجام مطالعات در سطح فردی با کنترل عوامل مخدوش کننده می‌باشد.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایلام و مرکز تحقیقات مغز و اعصاب اصفهان که ما را در انجام این مطالعه یاری رساندند، صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

## References

- Bradley W, Daroff R, Fenichel G, Jankovic J. Neurology in clinical practice. 4<sup>th</sup> ed. New York, NY: Butterworth and Heinemann; 2004.
- Parsaeian M, Najl-Rahim A, Karimlou M, Mozafari M. Comparing normal and multiple sclerotic patients short term memory. J Rehab 2006; 7(2): 56-60. [In Persian].
- Rosati G. The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. Neurol Sci 2001; 22(2): 117-39.
- World Health Organization. Atlas: Multiple sclerosis resources in the world 2008. Geneva, Switzerland: WHO; 2008.
- Browne P, Chandraratna D, Angood C, Tremlett H, Baker C, Taylor BV, et al. Atlas of Multiple Sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity. Neurology 2014; 83(11): 1022-4.
- Etemadifar M, Abtahi SH. Multiple sclerosis in Isfahan, Iran: Past, present and future. Int J Prev Med 2012; 3(5): 301-2.
- Masoodi R, Mohammadi E, Nabavi S, Ahmadi F. The effect of Orem based self-care program on physical quality of life in multiple sclerosis patients. J Shahrekord Univ Med Sci 2008; 10 (2): 21-9. [In Persian].
- Ebers GC. Environmental factors and multiple sclerosis. Lancet Neurol 2008; 7(3): 268-77.
- Marrie RA. Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology. Lancet Neurol 2004; 3(12): 709-18.
- Masoumi Z, Mesgari MS. Fitting a model in place-for statistics on skin cancer decision support, Geomatics. Proceedings of the Geomatic conference 85; 10-12 May 2006; Tehran, Iran. [In Persian].
- Rezaie AA, Panahi MS. Descriptive cross sectional study of clinical manifestation and MRI finding in 60 multiple sclerosis patients. Sci J Hamadan Univ Med Sci 2005; 12(3): 53-6. [In Persian].
- Salvi F, Bartolomei I, Smolensky MH, Lorusso A, Barbarossa E, Malagoni AM, et al. A seasonal periodicity in relapses of multiple sclerosis? A single-center, population-based, preliminary study conducted in Bologna, Italy. BMC Neurology 2010; 10(1): 105.
- Willer CJ, Dyment DA, Sadovnick AD, Rothwell PM, Murray TJ, Ebers GC. Timing of birth and risk of multiple sclerosis: population based study. BMJ 2005; 330(7483): 120.
- Salzer J, Svenningsson A, Sundstrom P. Season of birth and multiple sclerosis in Sweden. Acta Neurol Scand 2010; 122(1): 70-3.
- Ogawa G, Mochizuki H, Kanzaki M, Kaida K,

- Motoyoshi K, Kamakura K. Seasonal variation of multiple sclerosis exacerbations in Japan. *Neurol Sci* 2004; 24(6): 417-9.
16. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. *Ann Neurol* 2007; 61(6): 504-13.
17. Jelinek GA, Marek CH, Weiland TJ, Pereira N, van der Meer DM, Hadgkiss EJ. Latitude, sun exposure and vitamin D supplementation: associations with quality of life and disease outcomes in a large international cohort of people with multiple sclerosis. *BMC Neurol* 2015; 15: 132.
18. Roberg BL, Bruce JM. Reconsidering outdoor temperature and cognition in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2016; 22(5): 694-7.
19. Grant WB. The role of geographical ecological studies in identifying diseases linked to UVB exposure and/or vitamin D. *Dermatoendocrinol* 2016; 8(1): e1137400.

## The Relationship between the Amount of Radiation, Relative Humidity, and Temperature with the Risk of Multiple Sclerosis in Isfahan Province, Iran, during the Years 2001-2014

Arezoo Karimi<sup>1</sup>, Ali Delpisheh<sup>2</sup>, Fereshteh Ashtari<sup>3</sup>, Kouros Sayehmiri<sup>4</sup>, Rokhsareh Meamar<sup>5</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune disease associated with inflammation of the central nervous system in humans that is associated with genetic and environmental factors. Geographical latitude and longitude, life on coastal, and exposure to environmental pollutants are associated with the disease. This study aimed to investigate the relationship between environmental factors with the risk of multiple sclerosis in Isfahan province, Iran.

**Methods:** This cross-sectional study assessed the association of radiation, relative humidity, and temperature with the risk of multiple sclerosis in 2000 patients between the years 2001 to 2014 in Isfahan province. The geographical mapping was done using Arc GIS software and statistical analysis was done via SPSS software using logistic regression and correlation coefficient tests.

**Findings:** The 13-year cumulative incidence rate of multiple sclerosis in Isfahan province was estimated 48.26 per 100000 person, 20.97 in men and 76.38 in women. Significant association was observed between the sunlight radiations with the risk of multiple sclerosis; but the average relative humidity and temperature in this area did not show any significant relationship with the risk of multiple sclerosis.

**Conclusion:** Based on the findings, sunlight associated with multiple sclerosis in Isfahan province; but there was no relationship between the average annual temperature and relative humidity. Therefore, it is recommended that studies be done on individual level to investigate this relationship.

**Keywords:** Multiple sclerosis, Sunlight, Humidity, Temperature

**Citation:** Karimi A, Delpisheh A, Ashtari F, Sayehmiri K, Meamar R. **The Relationship between the Amount of Radiation, Relative Humidity, and Temperature with the Risk of Multiple Sclerosis in Isfahan Province, Iran, during the Years 2001-2014.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(427): 434-9.

1- Department of Epidemiology, School of Public Health, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

2- Professor, Department of Epidemiology, School of Public Health, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

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

4- Associate Professor, Psychosocial Injury Prevention Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

5- Associate Professor, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Ali Delpisheh, Email: alidelpisheh@yahoo.com

## مقایسه‌ی تمایز سلول‌های B به پلاسمابلاست در حضور محرک‌های Anti-human CD40 و Anti-IgM f(ab)<sup>2</sup> (در شرایط آزمایشگاه)

ساناز افشار قاسملو<sup>۱</sup>، نفیسه اسمعیل<sup>۲</sup>، مزدک گنجعلی خانی حاکمی<sup>۳</sup>، عباس رضایی<sup>۴</sup>، رضا یزدانی<sup>۴</sup>، فایزه عباسی‌راد<sup>۱</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** دگرگونی و تمایز سلول‌های B فعال شده به پلاسموسیت‌ها و همچنین، سلول‌های خاطره‌دار وابسته به پیام‌های حاصل از گیرنده‌ی سلول B می‌باشد. پیام‌های ناشی از گیرنده‌ی آنتی‌ژن و گیرنده‌های سیتوکاینی سطح سلول‌های B، سبب القای بروز عوامل رونوشت‌برداری خاصی می‌شوند که در نهایت این عوامل، تعیین کننده‌ی سرنوشت سلول B می‌باشند.

**روش‌ها:** جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (Peripheral blood mononuclear cells یا PBMCs) با استفاده از گردان شیب غلظت و با استفاده از فایکول انجام گرفت و سپس، جداسازی سلول‌های B خالص با روش Magnetic-activated cell sorting (MACS) انجام شد. در مرحله‌ی بعد، برای تحریک و تمایز سلول‌های B به پلاسمابلاست‌ها، این سلول‌ها در محیط Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI1640) در حضور Purified anti-human CD40 antibody و Anti-IgM f(ab)<sup>2</sup> یا Purified anti-human CD40 Antibody و لیوپولی‌ساکارید (Lipopolysaccharides یا LPS) کشت داده و سپس، پلاسمابلاست‌ها با استفاده از سه نشانگر CD38<sup>+</sup>، CD27<sup>+</sup> و IgM<sup>-</sup> در روش فلوسایتومتری ارزیابی شد.

**یافته‌ها:** در محیط *In vitro*، با تحریک دائمی لئوسیت‌های B از طریق Cross-link کردن گیرنده‌ی آن‌ها (B cell receptor یا BCR) و تحریک با Anti-human CD40 antibody و Anti-IgM f(ab)<sup>2</sup> و یا Anti-CD40 و LPS اغلب سلول‌های B زنده مانده بودند و حتی تمایز آن‌ها به رده‌ی دیگری از سلول‌های B (پلاسمابلاست‌های CD38<sup>+</sup>، CD27<sup>+</sup> و IgM<sup>-</sup>) مشاهده شد. از نظر آماری، تفاوت معنی‌داری در بیان نشانگرهای پلاسمابلاستی در سطح سلول‌ها در هر دو حالت تحریکی مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** سلول‌های B این توانایی را دارند که در شرایط کشت *In vitro* و تحریک با محرک‌های متفاوت، همانند محیط *In vivo* به رده‌ی سلولی پلاسمابلاست تمایز یابند. با این وجود، برای دستیابی به بهترین شرایط جهت تمایز سلول‌های B، عواملی نظیر ماهیت تحریک، مدت زمان تحریک و استفاده از محرک‌های متفاوت که نقش مهمی دارند، باید مد نظر قرار گیرند.

**واژگان کلیدی:** سلول‌های B، پلاسمابلاست، گیرنده‌ی فاکتور متمایز کننده‌ی سلول B، لیوپولی‌ساکارید، فلوسایتومتری

**ارجاع:** افشار قاسملو ساناز، اسمعیل نفیسه، گنجعلی خانی حاکمی مزدک، رضایی عباس، یزدانی رضا، عباسی‌راد فایزه. **مقایسه‌ی تمایز سلول‌های B به پلاسمابلاست در حضور محرک‌های Anti-human CD40 و Anti-IgM f(ab)<sup>2</sup> و یا لیوپولی‌ساکارید (LPS) و Anti-human CD40**

(در شرایط آزمایشگاه). مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۲۷): ۴۴۶-۴۴۰

### مقدمه

لئوسیت‌های B، سلول‌هایی از سیستم ایمنی هومورال هستند که از سلول‌های بنیادین مغز استخوان به وجود می‌آیند، در مغز استخوان تکامل می‌یابند و در بافت‌های لئواری محیطی در جایگاه واکنش‌های

متقابل لئوسیت‌ها با آنتی‌ژن‌های بیگانه تجمع می‌یابند (۱-۲). لئوسیت‌های B همراه با سیستم ایمنی سلولی، مکانیسم‌های دفاعی اختصاصی بدن را تشکیل می‌دهند و عملکرد اصلی آن‌ها، تولید آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن می‌باشد. اعمال اصلی آنتی‌بادی‌ها نظیر

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۳- استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشجوی دکتری، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران



شدن عوامل نسخه‌برداری Nuclear Factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) و Activator protein 1 (AP-1) و افزایش تکثیر و تمایز سلول‌های B و سنتز و ترشح آنتی‌بادی می‌گردند. به عنوان نمونه، فراورده‌های میکروبی نظیر LPS در نقش آنتی‌ژن به پذیرنده‌های شبه Toll (Toll-like receptors یا TLRs) نظیر TLR4 متصل می‌شوند که قادر به شناسایی لیپوپلی ساکارید (Lipopolysaccharide یا LPS) است و با فراخوانی پروتئین‌های آداپتور و فعال شدن عوامل نسخه‌برداری مختلف نظیر NF- $\kappa$ B و AP-1، سبب تقویت پیام‌های پذیرنده‌ی سلول B و فعال شدن و تکثیر سلول‌ها می‌شود (۱۷-۱۵). به نظر می‌رسد، ترکیبات مختلفی که بر روی این دو پیام تأثیر می‌گذارند، می‌توانند توانایی تکثیر و تمایز سلول‌های B را نیز تغییر دهند.

این مطالعه، با هدف بررسی زنده بودن و تمایز سلول‌های B پس از جداسازی از سلول‌های خون محیطی به عنوان یک جمعیت خالص انجام شد؛ چرا که در مطالعات متعددی که بر روی این جمعیت سلولی انجام می‌گیرد، به سلول‌های زنده با توانایی تکثیر و تمایز نیاز است. همچنین، از ترکیب دو محرک LPS به همراه Anti-CD40 استفاده شد و تأثیر آن‌ها، با محرک‌های رایج مانند Anti-CD40 و Anti-IgM جهت تحریک و تمایز سلول‌های B مقایسه گردید.

### روش‌ها

جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (Peripheral blood mononuclear cells یا PBMCs)، با جمع‌آوری ۱۰ سی‌سی خون از ۵ داوطلب سالم در لوله‌های حاوی Ethylen diamine tetraacetic acid (EDTA) صورت گرفت. در این روش جداسازی PBMCs، توسط شیب گرادینت فایکول (۱/۰۷۷) انجام شد. ارزیابی تعداد سلول‌های زنده (Viability)، با استفاده از رنگ تریپان بلو و شمارش سلولی بر روی لام نئوبار انجام گردید.

برای جداسازی سلول‌های B خالص از روش Magnetic-activated cell sorting (MACS) استفاده شد و جداسازی طبق شیوه‌نامه‌ی موجود در کیت (Miltenyi Biotec, Germany) انجام شد. این شیوه‌ی جداسازی، بازده بسیار بالایی دارد و جمعیت سلول‌های B جدا شده دارای خلوص بالایی هستند. به PBMC‌هایی که جدا شده بودند، آنتی‌بادی CD19 اضافه شد و درصد خلوص سلول‌های B جدا شده، بالای ۹۰ درصد بود. سپس، سلول‌ها در محیط کشت Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI1640) (BioIdea, USA)، در حضور Fetal bovine serum (FBS) (BioIdea, USA) و آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین/استرپتومایسین (BioIdea, USA) در پلیت‌های کشت

خشکی‌سازی و حذف میکروب‌های عفونی و سموم میکروبی و همچنین، تسهیل و تسریع بخشیدن به فرایندهای فاگوسیتوز و فعال شدن سیستم کمپلمان می‌باشد (۴-۳).

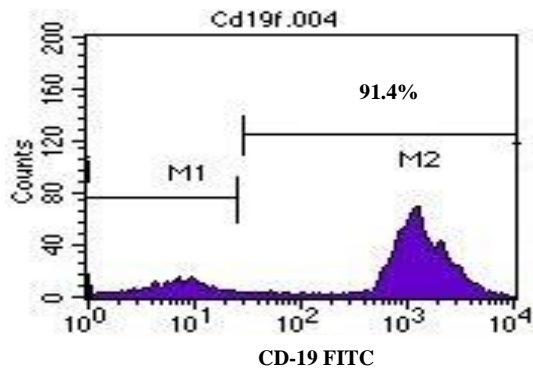
آنتی‌بادی‌ها، به وسیله‌ی پلاسما سل‌ها در اندام‌های لنفاوی و مغز استخوان تولید می‌شوند و اعمال اجرایی خود را در نواحی دور از محل تولید خود انجام می‌دهند. پلاسما سل‌هایی که در اندام‌های لنفوییدی باقی می‌مانند، عمر کوتاه‌تری نسبت به پلاسما سل‌هایی که در مغز استخوان هستند، دارند و در آن جا آنتی‌بادی تولید می‌کنند. پلاسما بلاست‌ها نیز سلول‌های ترشح‌کننده‌ی آنتی‌بادی در گردش هستند و پیش‌ساز پلاسما سل‌هایی می‌باشند که در مغز استخوان یا سایر بافت‌ها ساکن می‌شوند (۶-۵). پلاسما بلاست‌ها، با بیان بالای نشانگرهای سطحی CD38، CD138 و CD27، از سایر لنفوسیت‌های B متمایز می‌شوند (۸-۷).

پلاسما سل‌ها، آخرین مرحله از تمایز سلول‌های B می‌باشند و قدرت تکثیر و تقسیم ندارند. این سلول‌ها، در مغز استخوان برای مدت زمان طولانی زنده می‌مانند و آنتی‌بادی ترشح می‌کنند (۵). در نمای هیستولوژیک، پلاسما سل‌ها به شکل بیضوی با هسته‌ی خارجی و شبکه‌ی آندوپلاسمی گسترده با ریبوزوم‌های فراوان در سیتوپلاسم دیده می‌شوند (۹).

تحریک و فعال شدن لنفوسیت‌های B نیازمند دو پیام است. پیام اول اتصال گیرنده‌ی سطح سلول B (B cell receptor یا BCR) به آنتی‌ژن و پیام دوم که تقویت‌کننده‌ی پیام اول است، اتصال CD40 سطح سلول B با CD40L سطح سلول T می‌باشد که این دو فرایند، سبب آغاز پیام‌رسانی و تجمع و فعال شدن خانواده‌ی از تیروزین کینازها و فسفریلاسیون آن‌ها می‌شوند که پیامد کلی این وقایع در نهایت، القای بروز عوامل رونوشت‌برداری خاص و تعیین سرنوشت سلول B می‌باشد (۱۳-۱۰).

BCRها، گیرنده‌های آنتی‌ژن در سطح لنفوسیت B هستند که در واقع، یک مولکول ایمونوگلوبولین (Immunoglobulin یا Ig) متصل به غشا می‌باشند (۱۴).

BCR complex یک کمپلکس چند پروتئینی است که بر سطح لنفوسیت‌های B بروز می‌یابد و با شناسایی آنتی‌ژن، پیام‌های فعال‌کننده را به درون سلول انتقال می‌دهد. کمپلکس BCR، شامل ایمونوگلوبولین غشایی (مسئول اتصال به آنتی‌ژن) و پروتئین‌های I $\alpha$  و I $\beta$  (آغازکننده‌های وقایع پیام‌رسانی) است. CD40 سطح سلول‌های B تحریک شده با آنتی‌ژن، با اتصال به CD40L سطح سلول‌های T، سبب فراخواندن پروتئین‌های سیتوزولی [Tumor necrosis factor (TNF) receptor-associated factors] یا TRAFs] به سمت CD40 می‌شوند که در نهایت، منجر به فعال



شکل ۱. لنفوسیت‌های CD19+ B. با استفاده از تکنیک

MACS Magnetic-activated cell sorting (MACS) از

Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) جدا شدند.

خلوص سلول‌های B جدا شده با استفاده از آنتی‌بادی

Anti-CD19 FITC به روش فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت و

میزان خلوص سلول‌ها بالای ۹۰ درصد به دست آمد.

همچنین، بر اساس نتایج به دست آمده از روش فلوسایتومتری و رنگ‌آمیزی سلول‌ها با سه نشانگر PerCP antihuman CD38 (Biolegend) Anti-human CD27 PE و (Biolegend) Anti-human CD27 PE (Biolegend) Anti-human IgM FITC (eBioscience) مشخص گردید که انکوباسیون سلول‌های B به همراه عوامل محرک Anti-CD40 و Anti-IgM و یا LPS و Anti-CD40، تمایز این سلول‌ها به رده‌ی سلولی پلاسما بلاست را به دنبال دارد (۱۱)؛ به طوری که پس از انتخاب جمعیت سلول‌های B (شکل ۲. الف)، جمعیت سلول‌های CD38 مثبت در این جمعیت بار دیگر انتخاب گردید (شکل ۲. ب) و سپس، در این سلول‌های CD19 و CD38 مثبت، میزان بیان IgM و CD27 در هر دو حالت تحریکی Anti-IgM و Anti-CD40 و یا LPS و Anti-CD40 مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۲. ج و د). در نهایت، جمعیت پلاسما بلاست به صورت CD19+، CD38+، IgM- و CD27+ در نظر گرفته شد.

همچنین، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در بیان نشانگرهای پلاسما بلاستی در سطح سلول‌ها در هر دو حالت تحریکی Anti-CD40 و Anti-IgM و یا LPS و Anti-CD40 مشاهده نشد (شکل ۳).

### بحث

هدف از انجام این مطالعه، تحریک سلول‌های B خون محیطی و تمایز آن‌ها به رده‌ی سلولی پلاسما بلاست در محیط *In vitro* با استفاده از محرک‌های متفاوت بود که برای نیل به این هدف، در مرحله‌ی کشت سلولی از محرک‌هایی نظیر LPS، Anti-CD40 و Anti-IgM استفاده گردید.

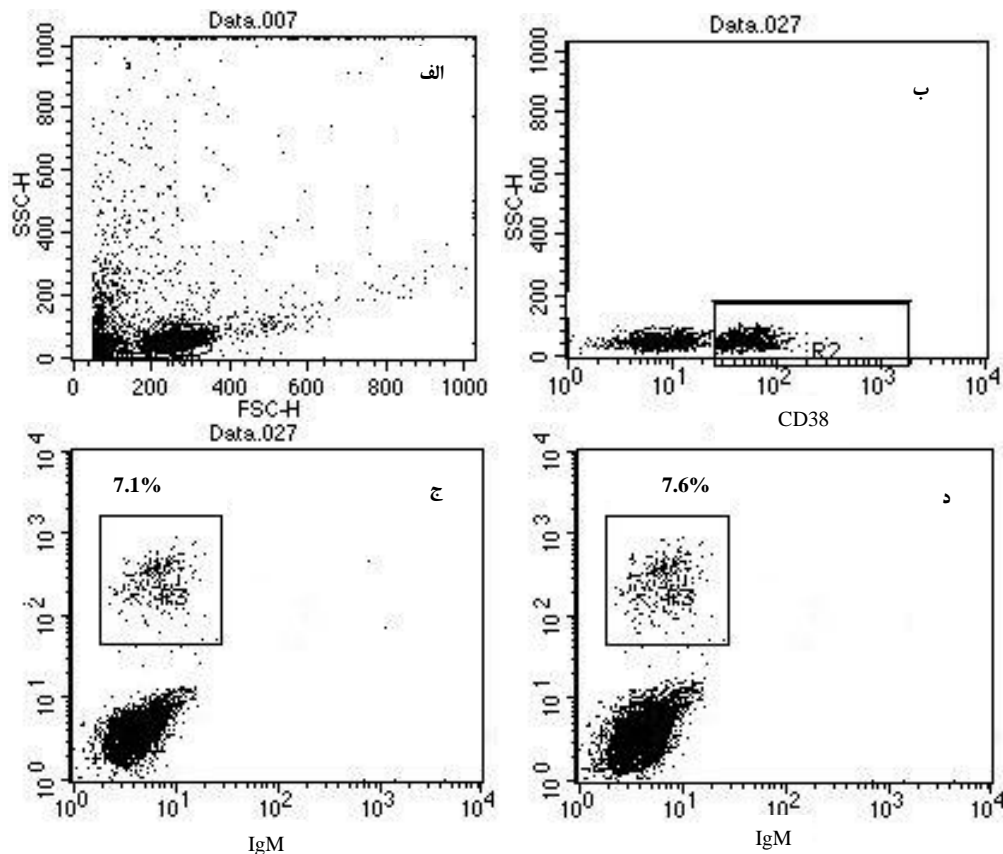
سلولی ۲۴ خانگی کشت داده شدند و با سلول‌های B به پلاسما بلاست در حضور محرک Purified anti-human CD40 antibody (Biolegend) و Anti-IgM f(ab)<sup>2</sup> یا LPS تحریک شدند.

این محرک‌ها، به منظور تحریک سلول‌های B و تقویت پیام‌رسانی و در نهایت تمایز و دگرگونی سلول‌های B به سمت پلاسما بلاست‌ها، اضافه شدند. سپس، پلیت کشت سلول در شرایط استاندارد (۵-۷ CO<sub>2</sub> درصد، دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت ۹۰ درصد) به مدت ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت انکوبه شد. بعد از این مدت، برای ارزیابی ریخت‌شناسی سلول‌های کشت داده شده، پلیت حاوی سلول با میکروسکوپ بررسی شد. دو روش تحریکی جهت بررسی دقت و صحت انجام آزمایش‌ها پنج بار تکرار گردید.

سوسپانسیون سلولی حاصل از کشت سلول‌های B جهت بررسی ویژگی‌های سلولی با روش فلوسایتومتری آماده شد. سرم بز، به عنوان مسدود کننده (Blocker) به منظور حذف باندهای غیر اختصاصی آنتی‌بادی‌ها با گیرنده‌های سطح سلول و جلوگیری از ایجاد تداخل در نتایج فلوسایتومتری به سلول‌ها اضافه شد. سپس، نشانگرهای سطحی سلول‌های پلاسما بلاست، با استفاده از آنتی‌بادی‌های اختصاصی این نشانگرها شامل PerCP antihuman CD38 (Biolegend)، Anti-human IgM FITC (Biolegend) anti-human CD27 PE (eBioscience) رنگ‌آمیزی گردید. جهت حذف باندهای غیر اختصاصی و جلوگیری از نتایج کاذب، از ایزوتایپ‌های متناسب با آنتی‌بادی‌های سطحی استفاده شد. روش فلوسایتومتری، با استفاده از دستگاه FACS Calibur و آنالیز نتایج با استفاده از نرم‌افزار Cell Quest انجام شد.

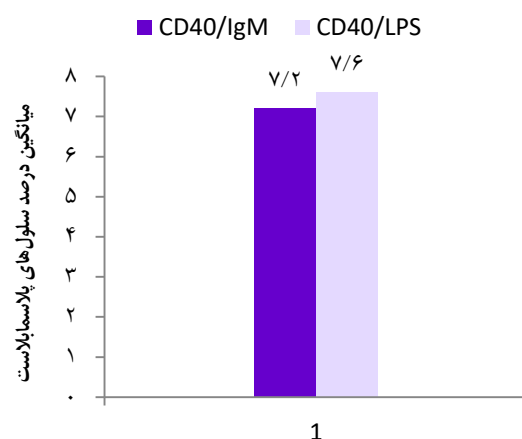
### یافته‌ها

در مطالعات مشابه با سایر محرک‌ها، زمان کشت ۲۴-۴۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفته است (۱۹-۱۸) و نتایج حاصل از کشت سلول‌های B با استفاده از محرک‌های Purified anti-human CD40 antibody و Anti-IgM f(ab)<sup>2</sup> یا LPS در مطالعه‌ی حاضر، نشان داد که بهترین زمان جهت تمایز و تکثیر سلول‌های B، کشت سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت بود و پس از کشت ۴۸ ساعته، درصد بالایی از سلول‌ها دچار مرگ شده بودند و به همین دلیل، زمان ۲۴ ساعت زمان انتخابی در این مطالعه بود و تکرار آزمایش‌ها در مدت ۲۴ ساعت ادامه پیدا کرد. همان‌طور که گفته شد، برای جداسازی سلول‌های B خالص از روش MACS استفاده شد که در آن، درصد خلوص سلول‌های B جدا شده، بالای ۹۰ درصد بود (شکل ۱).



شکل ۲. فوتوتیپ پلاسمابلاست‌ها با استفاده از نشانگرهای IgM<sup>-</sup> CD27<sup>+</sup> و CD38<sup>+</sup> در دو روش تحریکی با Anti-CD40 و Anti-IgM و با Anti-CD40 و لیپولی ساکارید (Lipopolysaccharide یا LPS) مورد بررسی قرار گرفت. الف: نمودار جمعیت سلول‌های B جدا شده توسط مگنت که بر اساس اندازه و گرانول‌های داخل سلولی در FSC (Forward light scatter) و SSC (Side light scatter) گیت شدند. ب: سلول‌های بیان کننده‌ی نشانگر CD38 بار دیگر در جمعیت سلول‌های B گیت شدند. ج: بیان نشانگرهای سطحی CD27/IgM در روش تحریکی با Anti-CD40 و Anti-IgM در سلول‌های CD38<sup>+</sup> و CD19<sup>+</sup> ارزیابی شد و سلول‌های CD27<sup>+</sup> و IgM<sup>-</sup> به عنوان جمعیت پلاسمابلاست گیت شدند. د: همچنین، بیان نشانگرهای CD27<sup>+</sup> و IgM<sup>-</sup> نیز، در روش تحریکی با LPS، Anti-CD40، ارزیابی شد و سلول‌های CD27<sup>+</sup> و IgM<sup>-</sup> به عنوان جمعیت پلاسمابلاست گیت شدند.

این محرک‌ها، به عنوان یک آنتی‌ژن وظیفه‌ی آغاز پیام‌رسانی را به واسطه‌ی اتصال متقاطع BCR بر عهده دارند. در پی انتقال پیام توسط BCR، مسیرها و آداپتورهای مسیره‌های پیام‌رسانی نظیر مسیر Ras-MAP کیناز، NF- $\kappa$ B، Phospholipase C و Protein kinase C (PKC- $\beta$ ) فعال می‌گردند. این آبشارهای انتقال پیام، سبب فعال شدن تعدادی از عوامل نسخه‌برداری و القای بروز ژن‌هایی می‌شوند که در تکامل و تمایز رده‌های سلول B به سمت پلاسمابلاست و پلاسماسل نقش مهمی دارند (۲۰). از آن جایی که شرایط ایده‌آل کشت و تحریک سلول‌ها در بررسی ویژگی‌های آن‌ها نقش به‌سزایی دارد، کسب چنین شرایطی با محرک‌های متفاوت و در زمان‌های بهینه، به طور قطعی در نتایج حاصل شده و پیشنهاد بهترین شرایط، تأثیر به‌سزایی دارد و چون سلول‌های B توسط محرک‌های متفاوتی تحریک و تمایز می‌یابند و از



شکل ۳. مقایسه‌ی میانگین درصد سلول‌های پلاسمابلاست در دو روش تحریکی با Anti-CD40 و Anti-IgM و با Anti-CD40 و لیپولی ساکارید (Lipopolysaccharide یا LPS) ( $P > 0.050$ )

Interleukin-4 (IL-4) به عنوان محرک استفاده کردند (۲۱). همچنین، Saito و همکاران یک نوبت از IL-4 و IL-21 به همراه Anti-Human IgG, f(ab)<sup>2</sup> goat anti-IgM و بار دیگر از ترکیب IL-4 و IL-21 به همراه Anti-CD40 برای تحریک و تمایز سلول‌های B استفاده کرده و نتایج مطلوبی به دست آورده‌اند (۲۲). تحریک سلول‌های B استفاده شده است (۲۳).

در این مطالعه، از ترکیب دو محرک LPS به همراه Anti-CD40 استفاده و نتیجه‌ی آن با محرک‌های رایج مانند Anti-CD40 و Anti-IgM جهت تحریک و تمایز سلول‌های B مقایسه گردید. همچنین، به منظور بررسی و ارزیابی پلاسما بلاست‌ها با استفاده از تکنیک فلوسایتومتری، از آنتی‌بادی‌های ضد نشانگرهای سطحی و مشخص شده‌ی پلاسما بلاست‌ها استفاده شد که نتایج در خور توجه و مناسبی نیز به دست آمد. این نشانگرها در سطح پلاسما بلاست‌ها به صورت CD38+++، CD27++ و IgM- بیان می‌شوند (شکل ۲). البته، می‌توان پیشنهاد نمود که در مطالعات بعدی، نشانگرهای CD138 و CD19 (بیان در سطح پلاسما بلاست CD138+++ و CD19-) به همراه CD38، CD27، و IgM نیز بررسی شود.

در مجموع، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که محرک‌هایی نظیر IgM و CD40 یا LPS و CD40، سبب سرعت بخشیدن به فرایند تحریک لئوسیت‌های B و در نهایت تمایز به رده‌ی سلولی پلاسما بلاست می‌شوند و استفاده از ترکیب هر کدام از این محرک‌ها، تفاوتی در تمایز و تحریک سلول‌های B ندارند. بنابراین، طبق نتایج حاصل از این مطالعه، پیشنهاد می‌شود که هر دو روش تحریکی به منظور تمایز و تحریک سلول‌های B در مطالعات سلولی قابل استفاده هستند.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی طرح پژوهشی ۳۹۴۶۷۸ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. از تمامی افرادی که ما را در این تحقیق یاری نمودند، سپاسگزار می‌شود. همچنین، از شورای تحصیلات تکمیلی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جهت پشتیبانی مالی از مطالعه‌ی حاضر قدردانی می‌گردد.

سویی رده‌های تمایز یافته‌ی سلول‌های B به طور طبیعی در خون محیطی حضور ندارند یا درصد فوق‌العاده کمی از آن‌ها در خون محیطی وجود دارد، بررسی الگوهای متفاوت محرک‌ها و تأثیر آن‌ها در بقا و تمایز سلول‌های B، راه‌گشای محققین در استفاده از بهترین و کم‌هزینه‌ترین شرایط جهت کشت و تمایز این سلول‌ها خواهد بود.

لئوسیت‌های B، به دلیل تولید آنتی‌بادی و همچنین، عملکردهای مهمی که در سیستم ایمنی هومورال دارند، همواره در مطالعات متعدد مورد توجه محققین بوده‌اند. از سوی دیگر، بررسی آنتی‌ژن‌ها و نشانگرهای CD (CD markers) سطح لئوسیت‌ها در شرایط تحریکی متفاوت در پزشکی بالینی و ایمنی‌شناسی تجربی به منظور طبقه‌بندی لئوسیت‌ها، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. ارزیابی نشانگرهای CD، این امکان را برای محققین فراهم می‌آورد که رده‌های سلولی متفاوت سلول‌های B شرکت کننده در پاسخ‌های ایمنی را شناسایی و آن‌ها را از لحاظ خصوصیات، الگوی پاسخ‌دهی و عملکردهای اجرایی مورد تجزیه و تحلیل قرار دهند. از این رو، روش‌های جداسازی با خلوص بالا و همچنین، تحریک سلول‌های B همواره مورد توجه محققین بوده است؛ به این دلیل که الگوی بیان نشانگرهای سطحی و تمایز این سلول‌ها در بیماری‌ها و شرایط مختلف تحریکی متفاوت می‌باشد.

در مطالعه‌ی پیش رو، تحریک سلول‌های B تمایز نیافته پس از تخلیص با استفاده از محرک‌هایی نظیر Anti-CD40/LPS و Anti-CD40/IgM نشان داد که در هر دو حالت تحریک، سلول‌های B به سمت پلاسما بلاست متمایز شدند. از آن جایی که جمعیت ابتدایی قبل از تحریک سلول B تمایز نیافته بود و بیان نشانگرهای اختصاصی سلول‌های پلاسما بلاست پس از تحریک، نشانگر تمایز سلول‌های B به سمت پلاسما بلاست بود، درصد سلول‌های پلاسما بلاست در دو روش تحریکی تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. نتایج حاصل از این بررسی، با برخی از مطالعات مشابه انجام شده هم‌خوانی نزدیکی دارد؛ به نحوی که در این مطالعات نیز با استفاده از محرک‌های متفاوت دیگری، سبب تحریک و تمایز لئوسیت‌های B به رده‌ی سلولی پلاسما بلاست در محیط *In vitro* شده‌اند.

در مطالعه‌ی مشابهی، Nomura و همکاران، برای تحریک و تمایز لئوسیت‌های B از Anti-CD40 و Anti-IgM CD40

### References

1. Kondo M. Lymphoid and myeloid lineage commitment in multipotent hematopoietic progenitors. *Immunol Rev* 2010; 238(1): 37-46.
2. Cooper MD. The early history of B cells. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(3): 191-7.
3. Schenkein HA, Ruddy S. The role of immunoglobulins in alternative complement pathway activation by zymosan. I. Human IgG with specificity for Zymosan enhances alternative pathway activation by zymosan. *J Immunol* 1981; 126(1): 7-10.
4. Janeway Jr CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. The humoral immune response. The distribution

- and functions of immunoglobulin isotypes. In: Janeway Jr CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ, editors. Immunobiology. 5<sup>th</sup> ed. New York, NY: Garland Science; 2001.
5. Manz RA, Lohning M, Cassese G, Thiel A, Radbruch A. Survival of long-lived plasma cells is independent of antigen. *Int Immunol* 1998; 10(11): 1703-11.
  6. Nutt SL, Hodgkin PD, Tarlinton DM, Corcoran LM. The generation of antibody-secreting plasma cells. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(3): 160-71.
  7. Warnatz K, Schlesier M. Flowcytometric phenotyping of common variable immunodeficiency. *Cytometry B Clin Cytom* 2008; 74(5): 261-71.
  8. Maiga RI, Bonnaure G, Rochette JT, Neron S. Human CD38hiCD138(+) plasma cells can be generated in vitro from CD40-activated switched-memory B lymphocytes. *J Immunol Res* 2014; 2014: 635108.
  9. Ribourtout B, Zandecki M. Plasma cell morphology in multiple myeloma and related disorders. *Morphologie* 2015; 99(325): 38-62.
  10. Harwood NE, Batista FD. Early events in B cell activation. *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 185-210.
  11. Wortis HH, Teutsch M, Higer M, Zheng J, Parker DC. B-cell activation by crosslinking of surface IgM or ligation of CD40 involves alternative signal pathways and results in different B-cell phenotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(8): 3348-52.
  12. Schilizzi BM, Boonstra R, The TH, de Leij LF. Effect of B-cell receptor engagement on CD40-stimulated B cells. *Immunology* 1997; 92(3): 346-53.
  13. Hasler P, Zouali M. B cell receptor signaling and autoimmunity. *FASEB J* 2001; 15(12): 2085-98.
  14. Wiesner M, Zentz C, Mayr C, Wimmer R, Hammerschmidt W, Zeidler R, et al. Conditional immortalization of human B cells by CD40 ligation. *PLoS One* 2008; 3(1): e1464.
  15. Boeglin E, Smulski CR, Brun S, Milosevic S, Schneider P, Fournel S. Toll-like receptor agonists synergize with CD40L to induce either proliferation or plasma cell differentiation of mouse B cells. *PLoS One* 2011; 6(10): e25542.
  16. Hua Z, Hou B. TLR signaling in B-cell development and activation. *Cell Mol Immunol* 2013; 10(2): 103-6.
  17. Xu H, Liew LN, Kuo IC, Huang CH, Goh DL, Chua KY. The modulatory effects of lipopolysaccharide-stimulated B cells on differential T-cell polarization. *Immunology* 2008; 125(2): 218-28.
  18. Van BK, Herman J, Boon L, Waer M, Sprangers B, Louat T. Comparative In Vitro Immune Stimulation Analysis of Primary Human B Cells and B Cell Lines. *J Immunol Res* 2016; 2016: 5281823.
  19. Patterson HC, Kraus M, Kim YM, Ploegh H, Rajewsky K. The B cell receptor promotes B cell activation and proliferation through a non-ITAM tyrosine in the Igalpha cytoplasmic domain. *Immunity* 2006; 25(1): 55-65.
  20. Anbazhagan K, Rabbind SA, Isabelle P, Stella I, Celine AD, Bissac E, et al. Human pre-B cell receptor signal transduction: evidence for distinct roles of PI3kinase and MAP-kinase signalling pathways. *Immun Inflamm Dis* 2013; 1(1): 26-36.
  21. Nomura J, Inui S, Yamasaki T, Kataoka S, Maeda K, Nakanishi K, et al. Anti-CD40 monoclonal antibody induces the proliferation of murine B cells as a B-cell mitogen through a distinct pathway from receptors for antigens or lipopolysaccharide. *Immunol Lett* 1995; 45(3): 195-203.
  22. Saito T, Kitayama D, Sakamoto A, Tsuruoka N, Arima M, Hatano M, et al. Effective collaboration between IL-4 and IL-21 on B cell activation. *Immunobiology* 2008; 213(7): 545-55.
  23. Moser JM, Upton JW, Gray KS, Speck SH. Ex vivo stimulation of B cells latently infected with gammaherpesvirus 68 triggers reactivation from latency. *J Virol* 2005; 79(8): 5227-31.

## Comparison of B-Cells Differentiation to Plasmablasts at Presence of Anti-Human CD40 and Anti-Immunoglobulin M f (ab)'2 or Lipopolysaccharide and Anti-Human CD40 Stimulators (In-Vitro)

Sanaz Afshar-Qasemloo<sup>1</sup>, Nafiseh Esmaili<sup>2</sup>, Mazdak Ganjalikhani-Hakemi<sup>2</sup>, Abbas Rezaei<sup>3</sup>, Reza Yazdani<sup>4</sup>, Faezeh Abbasi-Rad<sup>1</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Transformation and differentiation of activated B-cell to plasmacells and also memory cells depend on signaling from B-cell receptors. The signals from antigen and cytokine receptors on the surface of B cells lead to induce the expression of specific transcription factors, which finally determine the fate of B cells.

**Methods:** Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated via ficoll gradient and then purified B cells were separated using magnetic-activated cell sorting (MACS). Pure B cells were cultured in Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI1640) culture media at the presence of purified anti-human CD40 antibody and anti-immunoglobulin M f (ab)'2 or lipopolysaccharide (LPS) and anti-human CD40 antibody that induced B-cells differentiation to plasmablasts which was assessed with 3 markers (CD38+, CD27+, IgM-) and analyzed via flow cytometry.

**Findings:** In stimulation of B cells with purified anti-human CD40 antibody and anti-IgM f (ab)'2 or LPS through cross-linking B-cell receptor, the majority of B cells remained alive and differentiated to another lineage of B cells (plasmablast: CD38+, CD27+, IgM-). There was no significant statistical difference between expressions of plasmablast markers in two states of stimulation.

**Conclusion:** B cells can be stimulated and differentiated to plasmablasts in vitro similar to in vivo condition. However, to achieve the best outcome in the differentiation of B cells, we should consider the nature of stimulator, the time of incubation, and the type of stimulators.

**Keywords:** B-cells, Plasmablast, B-cell differentiation factor receptor, Lipopolysaccharides, Flow cytometry

**Citation:** Afshar-Qasemloo S, Esmaili N, Ganjalikhani-Hakemi M, Rezaei A, Yazdani R, Abbasi-Rad F. Comparison of B-Cells Differentiation to Plasmablasts at Presence of Anti-Human CD40 and Anti-Immunoglobulin M f (ab)'2 or Lipopolysaccharide and Anti-Human CD40 Stimulators (In-Vitro). J Isfahan Med Sch 2017; 35(427): 440-6.

1- MSc Student, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran  
2- Assistant Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran  
3- Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran  
4- PhD Student, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran  
**Corresponding Author:** Nafiseh Esmaili, Email: nafesm5@gmail.com



## بررسی ارزش اسکن رادیوایزوتوپ و سونوگرافی در تشخیص ریفلاکس معده به مری در اطفال ۲ تا ۱۳ ساله

حسین صانعیان<sup>۱</sup>، محسن قربانی<sup>۲</sup>، جمال فقیهی‌نیا<sup>۱</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، مقایسه‌ی اسکن رادیوایزوتوپ و سونوگرافی در تشخیص ریفلاکس معده به مری در اطفال ۲ تا ۱۳ ساله‌ی مبتلا به ریفلاکس مراجعه کننده به مطب پزشکان در شهر اصفهان طی سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ بود.

**روش‌ها:** در این مطالعه‌ی مقطعی، ۱۵۰ کودک ۲ تا ۱۳ ساله‌ی دارای علائم ریفلاکس معده به مری، تحت سونوگرافی و اسکن رادیوایزوتوپ قرار گرفتند و همه‌ی آن‌ها داروی امپرازول را به مدت ۶ هفته دریافت نمودند. در نهایت، معیارهای ارزش تشخیصی دو روش مذکور در مقایسه با نتایج پاسخ به درمان بالینی محاسبه و مقایسه گردید.

**یافته‌ها:** اسکن هسته‌ای حساسیت ۹۶/۱، ویژگی ۶۸/۲، ارزش اخباری مثبت ۹۴/۶ و ارزش اخباری منفی ۷۵/۰ درصد داشت. معیارهای ارزش تشخیصی سونوگرافی نیز شامل حساسیت ۸۵/۲، ویژگی ۴۵/۵، مثبت کاذب ۵۴/۵، منفی کاذب ۱۴/۸، ارزش اخباری مثبت ۹۰/۱، ارزش اخباری منفی ۳۴/۵ و میزان صحت ۷۹/۳ درصد بود.

**نتیجه‌گیری:** روش‌های سونوگرافی و اسکن هسته‌ای دارای ارزش تشخیصی کافی برای تشخیص ریفلاکس معده به مری در کودکان نیستند. استفاده از درمان تجربی نیز به مدت بیماری بستگی دارد. بنابراین، توصیه می‌گردد اسکن و سونوگرافی (ترکیب دو روش ارزش تشخیصی بالایی دارد) در مواردی که طول مدت بیماری زیاد می‌باشد و یا در درمان تجربی شک به وجود ریفلاکس معده به مری، استفاده شود. همچنین، در موارد شک به بیماری‌های دیگر مانند وجود توده و بدخیمی، لازم است نسبت به اسکن و سونوگرافی اقدام گردد.

**واژگان کلیدی:** ریفلاکس معده به مری، اسکن هسته‌ای، سونوگرافی

**ارجاع:** صانعیان حسین، قربانی محسن، فقیهی‌نیا جمال. بررسی ارزش اسکن رادیوایزوتوپ و سونوگرافی در تشخیص ریفلاکس معده به مری در

اطفال ۲ تا ۱۳ ساله. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵(۴۲۷): ۴۵۲-۴۴۷

### مقدمه

علل مرگ بیماران در مطالعه‌ی مذکور شامل ازوفازیت هموراژیک (۵۱/۹ درصد)، پنومونی آسپیراسیون (۳۴/۶ درصد)، زخم مری (۹/۶ درصد) و پارگی خودبه‌خودی مری در زمینه ریفلاکس (۳/۹ درصد) بود (۶). همچنین، نتایج به دست آمده از تحقیقی در هندوستان نشان داد که شیوع حداقل یک بار ریفلاکس در روز در اطفال کمتر از سه ماهه، ۵۰ درصد و در اطفال ۴ تا ۶ ماهه، ۶۷ درصد می‌باشد. این در حالی است که شیوع این بیماری در سنین ۷ تا ۹ ماهگی و ۱۰ تا ۱۲ ماهگی به ترتیب به ۲۱ و ۵ درصد کاهش می‌یابد (۷).

بیماری اغلب بر اساس علائم بالینی تشخیص داده می‌شود و بیماران تحت درمان قرار می‌گیرند. تنها در مواردی که پس از انجام

بیماری ریفلاکس معده به مری، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های دستگاه گوارش در تمام سنین و همچنین، یکی از شایع‌ترین مشکلات کودکان محسوب می‌شود (۳-۱). بر اساس مطالعات انجام شده، حدود ۴۰-۲۵ درصد آمریکایی‌ها در طول زندگی خود بارها علائم ریفلاکس معده را تجربه می‌کنند (۴). شیوع مرگ و میر ناشی از ریفلاکس و عوارض آن رو به افزایش است؛ به گونه‌ای که بر اساس نتایج مطالعه‌ای در فنلاند، در دهه‌ی ۱۹۶۰ این میزان ۱۰ تا ۱۷ نفر در هر ۱۰۰ هزار نفر در سال بود (۵)؛ در حالی که طی سال‌های ۱۹۹۵-۱۹۹۰ این نسبت به ۲۰ نفر در هر ۱۰۰ هزار نفر افزایش یافت.

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

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

Email: dr.mohsenghorbani@googlemail.com

نویسنده‌ی مسؤؤل: محسن قربانی

به ریفلاکس معده ۰/۵ در نظر گرفته شد و پذیرش میزان خطای ۰/۱، ۹۶ نفر برآورد شد که با توجه به روش نمونه‌گیری آسان و با احتساب ضریب خطای نمونه‌گیری ۰/۵، تعداد ۱۵۰ نفر برآورد گردید.

روش انجام کار بدین صورت بود که پس از توضیح و جلب رضایت والدین بیماران و اخذ رضایت‌نامه‌ی کتبی از آن‌ها، همه‌ی بیماران جهت انجام سونوگرافی و اسکن رادیویزوتوپ ارجاع داده شدند.

سونوگرافی در شرایطی انجام گرفت که کودک هوشیاری کامل داشت و آرام بود و نیازی به بیهوشی نداشت. کودک متناسب با سن و توانایی تحمل، بین ۲۰-۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن مایع می‌نوشید (شیر و یا آب معمولی). سپس بلافاصله در پوزیشن سوپاین قرار می‌گرفت و به مدت ۳۰ دقیقه توسط سونوگرافست اطفال و با استفاده از دستگاه سونوگرافی (Shimadzu، مدل SDU-350 XL، ژاپن)، با پروب هلالی ۳/۵ مگاهرتز بررسی می‌شد. شکم و سگمان تحتانی مری توسط سونوگرافست مشاهده می‌گردید. نمای ریفلاکس در تصویر سونوگرافی به صورت حرکت محتویات معده به سمت مری قابل مشاهده است.

در اسکن رادیویزوتوپ، کودک از ۳ تا ۴ ساعت قبل از انجام اسکن ناشتا بود. ۲۰ میلی‌کوری  $^{99m}\text{Tc}$  داروی سولفور کلوتید به صورت باند شده با سولفور کلوتید تهیه گردید و ۱۰۰ میکروکوری از آن با سرنگ کشیده و به ۵۰۰ میلی‌لیتر آب پرتقال اضافه شد. پس از نوشیدن دارو به مقدار مذکور، کودک به سرعت به وضعیت سوپاین دراز کشید و دتکتور دستگاه در قدام قرار می‌گرفت؛ به گونه‌ای که از چانه تا شکم بچه در فیلد دوربین و معده در ۱/۳ تحتانی تصویر قرار داشت. سپس فرایند تصویربرداری با دوربین گاما (ADAC، مدل Genesys) به مدت ۳۰ دقیقه شروع می‌شد. پروتکل طی ۳۰ تا ۶۰ ثانیه گرفته می‌شد. ۳ ساعت پس از این که فرایند تصویربرداری به اتمام رسید، دوباره فیلمی ۱ دقیقه‌ای با دوربین گاما جهت بررسی اسپیراسیون محتویات معده به ریه از کودک گرفته شد.

تمام کودکان مستقل از نتایج پاراکلینیکی، تحت درمان با داروی امپرازول (داروسازی داروپخش) با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۶ هفته قرار گرفتند. بیماران تا آخر دوره‌ی درمانی، به صورت هفتگی از نظر بهبود علائم تنفسی بررسی شدند (شامل کاهش سرفه‌ی مزمن یا تب‌های مکرر یا عفونت‌های تنفسی مکرر). با توجه به این که امکان pHمتری در مطالعه‌ی حاضر وجود نداشت، عکس‌العمل بیمار به درمان طبی ریفلاکس به عنوان گلد استاندارد در نظر گرفته شد.

به منظور جلوگیری از اثرات احتمالی مخدوش‌کنندگی برخی عوامل، سعی گردید که بیماران پراکندگی زیادی از نظر توزیع سنی نداشته باشند و بیماران وارد مطالعه شوند که از لحاظ شدت علائم بالینی تا حد ممکن مشابه باشند.

درمان مناسب، اثر درمانی در بیمار مشاهده نشود، به کارگیری تست‌های پاراکلینیکی نیاز است. در کودکانی که علائمی دال بر وجود التهاب مری، تکامل نامناسب فیزیکی و شک به ریفلاکس‌های آتیبیک نشان می‌دهند و همچنین، در بیمارانی که نشانه‌هایی از درگیری دستگاه تنفسی دارند، بررسی‌های پاراکلینیکی جهت قطعی کردن تشخیص حایز اهمیت است (۸، ۳-۱).

روش‌های تشخیصی ریفلاکس معده شامل اندازه‌گیری pH ۲۴ ساعته، بلع باریوم، تست بررسی میزان مانومتري مری، بررسی اندوسکوپیک دستگاه گوارش فوقانی به همراه نمونه‌گیری و بررسی هیستوپاتولوژیک آن، اسکن رادیویزوتوپ و اولتراسونوگرافی می‌باشد (۹-۱۷).

بر طبق بررسی‌های انجام شده، سوزش سر دل و بازگشت محتویات معده به مری با حداقل یک بار تکرار در ماه، در ۲۱/۵ درصد مردم اصفهان مشاهده می‌شود (۱۸). با توجه به عوارض ذکر شده در مورد بیماری ریفلاکس در کودکان و شیوع بالای آن، تشخیص به موقع و درمان این بیماری در این گروه سنی اهمیت فراوانی دارد. از طرف دیگر، نتایج به دست آمده از تحقیقات پیشین، روش واحدی را به عنوان تست غربالگری اولیه در کودکان مشکوک به ریفلاکس معده معرفی نمی‌کند؛ در حالی که در کتب مرجع اشاره‌ای به حساسیت و اختصاصیت سونوگرافی و اسکن نشده است و این روش‌ها دارای مثبت کاذب بالایی می‌باشند. البته عوارض و هزینه‌های انجام سونوگرافی به مراتب پایین‌تر از سیتی‌گرافی می‌باشد (۱۹). بنابراین، مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی اسکن رادیویزوتوپ و سونوگرافی در تشخیص ریفلاکس معده به مری در اطفال ۲ تا ۱۳ ساله‌ی مراجعه‌کننده به مطب پزشکان در شهر اصفهان انجام گردید.

## روش‌ها

این پژوهش از نوع مقطعی بود که در سال ۱۳۹۴ در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان انجام شد. معیار ورود به مطالعه شامل دامنه‌ی سنی ۲ تا ۱۳ سال، وجود سرفه‌ی مزمن یا تب‌های مکرر، سابقه‌ی عفونت‌های تنفسی مکرر یا سوزش سر دل، بوی بد دهان یا ترشحات مزمن پشت حلق (علائم سینوزیت)، کاهش وزن و بی‌قراری و یا شک بالینی به ریفلاکس بود. عدم مراجعه بیمار برای انجام سونوگرافی یا سیتی‌گرافی یا عدم موفقیت در انجام آن‌ها، معیار خروج از مطالعه در نظر گرفته شد.

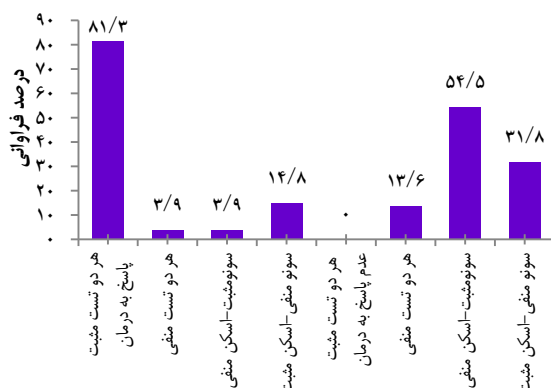
حجم نمونه‌ی مورد نیاز با استفاده از فرمول برآورد حجم جهت مطالعات شیوع و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، شیوع موارد مثبت تست سونوگرافی که به علت نبود مطالعه‌ی مشابه، در بیماران مبتلا



جدول ۱. میزان توافق پاسخ به درمان با سونوگرافی و اسکن هسته‌ای

تست	پاسخ به درمان	مثبت تعداد (درصد)	منفی تعداد (درصد)	میزان توافق	P
اسکن هسته‌ای	مثبت منفی	۱۲۲ (۹۶/۱) ۵ (۳/۹)	۷ (۳۱/۸) ۱۵ (۶۸/۲)	۰/۶۷	< ۰/۰۰۱

نتیجه‌ی سونوگرافی و اسکن هسته‌ای هر دو مثبت و در ۳ مورد (۲/۰ درصد) نتیجه‌ی هر دو تست منفی بود. در ۱۷ مورد (۱۱/۳ درصد) نتیجه‌ی سونوگرافی مثبت و نتیجه‌ی اسکن هسته‌ای منفی بود. ۲۶ مورد (۱۷/۳ درصد) نیز نتیجه‌ی اسکن هسته‌ای را مثبت و نتیجه‌ی سونوگرافی را منفی نشان داد. میزان توافق بین اسکن هسته‌ای و سونوگرافی، ۰/۰۴ محاسبه گردید که طبق آزمون Kappa معنی دار نبود ( $P = ۰/۶۰۰$ ). قابل ذکر است که میزان توافق بین اسکن هسته‌ای و سونوگرافی در بیمارانی که به درمان پاسخ دادند، ۰/۰۷ ( $P = ۰/۳۴۰$ ) و در بیمارانی که به درمان پاسخ ندادند، ۰/۶۷ ( $P < ۰/۰۰۱$ ) به دست آمد (شکل ۱).



شکل ۱. درصد فراوانی توافق بین سونوگرافی و اسکن هسته‌ای بر حسب پاسخ به درمان

یافته‌ها نشان داد که اسکن هسته‌ای نسبت به پاسخ به درمان، حساسیت ۹۶/۱ درصد، ویژگی ۶۸/۲ درصد، مثبت کاذب ۳۱/۸ درصد و منفی کاذب ۳/۹ درصد داشت. ارزش اخباری مثبت و منفی سونوگرافی به ترتیب ۹۴/۶ و ۷۵/۰ درصد بود و میزان صحت اسکن هسته‌ای ۹۲/۰ درصد به دست آمد. معیارهای ارزش تشخیصی سونوگرافی در مقایسه با پاسخ به درمان شامل حساسیت ۸۵/۲ درصد، ویژگی ۴۵/۵ درصد، مثبت کاذب ۵۴/۵ درصد، منفی کاذب ۱۴/۸ درصد، ارزش اخباری مثبت ۹۰/۱ درصد، ارزش اخباری منفی ۳۴/۵ درصد و میزان صحت

داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون‌های  $\chi^2$ ،  $t$  و معیارهای ارزش تشخیصی (حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری) در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ (version 23, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### یافته‌ها

در مطالعه‌ی حاضر، ۱۵۰ کودک با میانگین سنی  $۶۷/۰ \pm ۲/۳$  سال و دامنه‌ی سنی ۱۳-۲ سال مورد مطالعه قرار گرفتند. ۸۹ نفر (۵۹/۳ درصد) از نمونه‌ها را پسران و ۶۱ نفر (۴۰/۷ درصد) آن‌ها را دختران تشکیل دادند. میانگین سنی پسران و دختران به ترتیب  $۶۷/۵ \pm ۲/۵$  و  $۶۷/۰ \pm ۱/۹$  سال بود. بر اساس نتایج آزمون  $t$ ، میانگین سنی پسران به طور معنی داری بیشتر بود ( $P = ۰/۰۰۹$ ).

از ۱۵۰ کودک بررسی شده، ۱۲۱ نفر (۶۹/۳ درصد) به درمان ریفلاکس پاسخ مثبت دادند (پاسخ به درمان شامل بهبود علائم تنفسی و گوارشی در کودک بود). میانگین سنی کودکانی که به درمان ریفلاکس پاسخ مثبت دادند،  $۶۷/۰ \pm ۲/۳$  سال و میانگین سنی کودکانی که به درمان پاسخ ندادند،  $۶۷/۳ \pm ۲/۷$  سال بود و طبق آزمون  $t$  بین دو گروه تفاوت معنی داری وجود نداشت ( $P = ۰/۵۱۰$ ). از نظر جنسیت، ۷۵ نفر (۸۵/۲ درصد) از پسران و ۵۲ نفر (۸۵/۲ درصد) از دختران به درمان ریفلاکس پاسخ دادند که تفاوت معنی داری بین دو جنس مشاهده نشد ( $P > ۰/۹۹۹$ ).

بررسی سونوگرافی و اسکن هسته‌ای کودکان نشان داد که طبق سونوگرافی، ۱۲۱ کودک (۸۰/۷ درصد) و طبق اسکن هسته‌ای، ۱۳۰ کودک (۸۶/۷ درصد) به ریفلاکس معده به مری مبتلا بودند؛ در صورتی که از ۱۵۰ کودک مذکور، ۱۲۱ مورد (۶۹/۳ درصد) به درمان ریفلاکس پاسخ دادند. انجام آزمون Kappa بر روی داده‌های به دست آمده نشان داد که میزان توافق کلی بین سونوگرافی و پاسخ به درمان، ۰/۲۷ ( $P = ۰/۰۰۱$ ) و میزان توافق بین پاسخ به درمان و اسکن هسته‌ای، ۰/۶۷ ( $P < ۰/۰۰۱$ ) بود. بنابراین، توافق بین پاسخ به درمان و اسکن هسته‌ای به طور قابل توجهی بیشتر از توافق پاسخ به درمان با سونوگرافی بود (جدول ۱).

مطابق یافته‌های به دست آمده، در ۱۰۴ مورد (۶۹/۳ درصد)

۷۹/۳ درصد بود (شکل ۲).

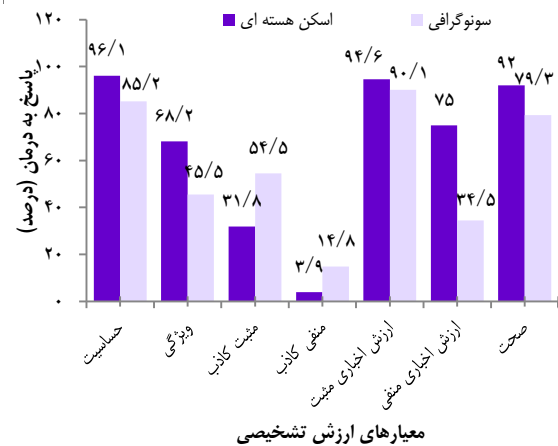
بالایی جهت تشخیص ریفلاکس معده است، اما در مقابل، درصد بالایی از بیماران، مثبت کاذب می‌شوند. همچنین، سونوگرافی ارزش اخباری منفی مناسبی برای رد وجود بیماری مذکور در کودکان دارای علائم ریفلاکس معده به مری نداشت. از طرف دیگر، مطابق نتایج پژوهش حاضر، اسکن هسته‌ای دارای حساسیت و ویژگی مناسب‌تری نسبت به سونوگرافی بود و با توجه به درصد بالای حساسیت و ویژگی و همچنین، بالا بودن ارزش اخباری مثبت و منفی، نسبت به سونوگرافی قابل اعتمادتر می‌باشد.

در حال حاضر، درمان تجربی ریفلاکس روشی است که اغلب توسط پزشکان برای بیماران انجام می‌گیرد و دلیل این امر آن است که بیماری ریفلاکس معده یک عارضه‌ی تهدید کننده‌ی حیات محسوب نمی‌شود و درمان آن اورژانس پزشکی نیست. همچنین، درمان انجام شده عوارض قابل توجهی در بیماران و حتی کودکان ندارد. بنابراین، می‌توان استفاده از روش تجربی را نسبت به دو روش مذکور ارجح دانست و حداقل از القای مواد رادیواکتیو در کودکان خودداری نمود.

استفاده از درمان تجربی در تشخیص ریفلاکس معده نسبت دو روش سونوگرافی و اسکن هسته‌ای ارجحیت دارد، اما استفاده از آن، به مدت زمان ابتلا به بیماری بستگی دارد. بنابراین، توصیه می‌گردد اسکن و سونوگرافی در مواردی استفاده گردد که طول مدت بیماری زیاد می‌باشد و یا در درمان تجربی، شک به ریفلاکس معده به مری وجود دارد. همچنین، در موارد شک به بیماری‌های دیگر مانند وجود توده و بدخیمی، لازم است اسکن و سونوگرافی انجام شود. از جمله نقاط قوت مطالعه‌ی حاضر می‌توان به انجام سیتی‌گرافی و سونوگرافی به عنوان دو ابزار در دسترس اشاره نمود. در دسترس نبودن pH متر به عنوان روش استاندارد جهت تعیین معیارهای ارزش تشخیصی دو ابزار مورد استفاده، از جمله نقاط ضعف پژوهش حاضر به شمار می‌رود.

### تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع دکترای حرفه‌ای آقای محسن قربانی می‌باشد که با شماره‌ی ۳۹۴۳۸۷ در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی به تصویب رسید و با حمایت‌های این مرکز انجام گردید. بدین وسیله از همکاری و حمایت‌های این مرکز تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.



شکل ۲. معیارهای ارزش تشخیصی سونوگرافی و اسکن هسته‌ای در مقایسه با پاسخ به درمان

بر حسب نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر، در صورتی که اسکن هسته‌ای به عنوان معیار طلایی تشخیصی ریفلاکس معده در نظر گرفته شود، سونوگرافی دارای حساسیت ۸۰ درصد، ویژگی ۱۵ درصد، مثبت کاذب ۸۵ درصد، منفی کاذب ۲۰ درصد، ارزش اخباری مثبت ۸۶ درصد، ارزش اخباری منفی ۱۰/۳ درصد و میزان صحت ۷۱/۳ درصد می‌باشد.

### بحث

ریفلاکس معده به مری، یکی از شایع‌ترین اختلالات گوارشی در اطفال است که تشخیص صحیح و به موقع آن می‌تواند در کنترل عوارض بیماری و ارتقای کیفیت زندگی کمک کننده باشد. در حال حاضر، تشخیص ریفلاکس معده اغلب مبتنی بر شواهد و علائم بالینی و پاسخ به درمان است و از آنجایی که تعدادی روش‌های تشخیصی برای این بیماری معرفی شده و گزارش‌های متفاوتی در مورد میزان صحت این روش‌ها ارائه گردیده است، مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی معیارهای ارزش تشخیصی اسکن رادیویزوتوپ و سونوگرافی با روش پاسخ به درمان در تشخیص ریفلاکس معده به مری کودکان ۲ تا ۱۳ ساله‌ی دارای علائم ریفلاکس انجام گردید. طبق نتایج به دست آمده، روش سونوگرافی دارای حساسیت به نسبت

### References

- Richter JE. Surgery for reflux disease: reflections of a gastroenterologist. N Engl J Med 1992; 326(12): 825-7.
- Barela AD, Chazan R. The influence of gastroesophageal reflux on asthma. Wiad Lek 2002; 55(9-10): 575-83. [In Polish].
- Elbl B, Birkenfeld B, Walecka A, Szymanowicz J, Listewnik M, Gwardys A, et al. Upper gastrointestinal tract scintigraphy and

- ultrasonography in diagnosis of gastroesophageal reflux in children. *Pol J Radiol* 2011; 76(1): 63-7.
4. Herbella FA, Sweet MP, Tedesco P, Nipomnick I, Patti MG. Gastroesophageal reflux disease and obesity. Pathophysiology and implications for treatment. *J Gastrointest Surg* 2007; 11(3): 286-90.
  5. Becher A, El-Serag HB. Mortality associated with gastroesophageal reflux disease and its non-malignant complications: a systematic review. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43(6): 645-53.
  6. Rantanen TK, Salo JA. Gastroesophageal reflux disease as a cause of death: analysis of fatal cases under conservative treatment. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34(3): 229-33.
  7. Poddar U. Diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease (GERD): an Indian perspective. *Indian Pediatr* 2013; 50(1): 119-26.
  8. Rudolph CD, Mazur LJ, Liptak GS, Baker RD, Boyle JT, Colletti RB, et al. Guidelines for evaluation and treatment of gastroesophageal reflux in infants and children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 32(Suppl 2): S1-31.
  9. Kimura Y, Sugiura M, Kato T, Makino N, Ohmae Y, Kishimoto S. Value of barium swallow studies in predicting the response to rabeprazole in elderly patients with laryngopharyngeal reflux disease and nonerosive reflux disease in particular. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2010; 119(9): 631-5.
  10. Di Mario M, Bergami G, Fariello G, Vecchioli SA. Diagnosis of gastroesophageal reflux in childhood. Comparison of ultrasonography and barium swallow. *Radiol Med* 1995; 89(1-2): 76-81. [In Italian].
  11. Vandenplas Y. Challenges in the diagnosis of gastroesophageal reflux disease in infants and children. *Expert Opin Med Diagn* 2013; 7(3): 289-98.
  12. Lombardi G, de Angelis G, Rutigliano V, Guariso G, Romano C, Falchetti D, et al. Reflux oesophagitis in children; the role of endoscopy. A multicentric Italian survey. *Dig Liver Dis* 2007; 39(9): 864-71.
  13. Editorial Board of Chinese Journal of Pediatrics, Group of Gastroenterology, Chinese Pediatric Society, Chinese Medical Association. Diagnosis and treatment protocol for gastroesophageal reflux disease in children. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 2006; 44(2): 96. [In Chinese].
  14. Csendes A, Gonzalez P, Olea E, Orellana P, Papapietro K, Cortes C, et al. Diagnosis of gastroesophageal reflux by radioisotopic techniques. *Rev Med Chil* 1989; 117(12): 1374-80. [In Spanish].
  15. Kashyap R, Sharma R, Madan N, Sachdev G, Chopra MK, Chopra K. Evaluation of radionuclide gastroesophagography as a suitable screening test for detection of gastroesophageal reflux. *Indian Pediatr* 1993; 30(5): 625-8.
  16. Wynchank S, Mann MD, Guillet J. Gastro-oesophageal reflux in children and nuclear medicine. *Presse Med* 1995; 24(34): 1595-7.
  17. Balson BM, Kravitz EK, McGeady SJ. Diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux in children and adolescents with severe asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 81(2): 159-64.
  18. Fazel M, Keshteli AH, Jahangiri P, Daneshpajouhnejad P, Adibi P. Gastroesophageal reflux disease in Iran: SEPAHAN Systematic Review No. 2. *Int J Prev Med* 2012; 3(Suppl 1): S10-S17.
  19. Di Ciaula A, Portincasa P, Di Terlizzi L, Paternostro D, Palasciano G. Ultrasonographic study of postcibal gastro-esophageal reflux and gastric emptying in infants with recurrent respiratory disease. *World J Gastroenterol* 2005; 11(46): 7296-301.

## Comparison of Radioisotope Scan and Ultrasonography in Diagnosis of Gastroesophageal Reflux in 2-13-Year-Old Children

Hossein Saneian<sup>1</sup>, Mohsen Ghorbani<sup>2</sup>, Jamal Faghihinia<sup>1</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** The aim of this study was to compare radionuclide scintigraphy and ultrasonography in the diagnosis of gastroesophageal reflux in 2-13-year-old children who referred to a pediatric clinic in Isfahan city, Iran, during 2014-2015.

**Methods:** In across-sectional study, 150 children aged 2 to 13 years with symptoms of gastroesophageal reflux were assessed using ultrasound and radioisotope scan. All of them were treated using the drug omeprazole for 6 weeks; and finally, the diagnostic values were compared between the two methods.

**Findings:** Sensitivity, specificity, and negative and positive predictive values were 96.1%, 68.2%, 94.6%, and 75.0%, and 85.2%, 45.5%, 90.1%, and 34.5%, in radioisotope scan and ultrasonography, respectively.

**Conclusion:** Radioisotope scan and ultrasonography do not have enough accuracy in diagnosis of gastroesophageal reflux in children. Using empirical therapy in diagnosis is depended on the duration of disease, too. Using combination of ultrasound and radioisotope scans is recommended in long-duration disease or when the case is suspicious to other diseases such as tumors and malignancy.

**Keywords:** Gastroesophageal reflux, Radioisotope scanning, Ultrasonography

**Citation:** Saneian H, Ghorbani M, Faghihinia J. Comparison of Radioisotope Scan and Ultrasonography in Diagnosis of Gastroesophageal Reflux in 2-13-Year-Old Children. J Isfahan Med Sch 2017; 35(427): 447-52.

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

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

**Corresponding Author:** Mohsen Ghorbani, Email: dr.mohsenghorbani@googlemail.com

## بررسی بیان گیرنده‌ی پولیوویروس (پروتئین CD155) در سطح Messenger RNA (mRNA) و پروتئین در رده‌ی سلولی سرطان کولورکتال

ساره ژند<sup>۱</sup>، سید مسعود حسینی<sup>۲</sup>، علیجان تبرائی<sup>۳</sup>، محسن سعیدی<sup>۴</sup>، عبدالوهاب مرادی<sup>۵</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** گیرنده‌ی پولیوویروس (Cluster of differentiation 155/Poliovirus receptor یا CD155/PVR) بر روی سطح بسیاری از انواع سلول‌ها بیان می‌شود و فعالیت‌های متنوعی را نشان می‌دهد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که تغییرات در بیان CD155 در رده‌های سلولی سرطانی، باعث تحت تأثیر قرار دادن متاستاز، پرولیفراسیون و مهاجرت سلولی می‌شود. هدف از انجام این مطالعه، بررسی میزان بیان ژن و پروتئین CD155 در رده‌ی سلولی سرطانی آدنوکارسینوما کولون در مقایسه با رده‌ی سلولی طبیعی کولون (Fetal human colon یا FHC) می‌باشد.

**روش‌ها:** میزان بیان CD155 در سطح رونویسی و پروتئین، در رده‌ی سلولی سرطانی آدنوکارسینوما کولون و رده‌ی سلولی طبیعی کولون به عنوان شاهد با استفاده از روش‌های سایبرگرین Real-Time polymerase chain reaction (Real-Time PCR) و فلوسایتومتری بررسی گردید. آنالیز آماری یافته‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گردید و  $P < 0/050$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** نتایج سایبرگرین Real-Time PCR نشان داد که بیان CD155 در سطح رونویسی به طور معنی‌داری در رده‌ی سلولی سرطان کولون نسبت به سلول طبیعی کولون بیشتر می‌باشد ( $P < 0/001$ ). نتایج آنالیز فلوسایتومتری نشان داد که بیان پروتئین CD155 بر روی سطح سلول سرطانی کولون SW480 به میزان ۹۸/۰ درصد و در رده‌ی سلولی طبیعی کولون ۱/۳ درصد بود ( $P < 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** بیان CD155 در رده‌ی سلولی سرطانی کولون، نسبت به سلول طبیعی کولون افزایش یافت. بر اساس این یافته‌ها، می‌توان پیشنهاد کرد که CD155، می‌تواند به عنوان هدفی مؤثر برای ویروس‌درمانی با به کارگیری پولیوویروس مد نظر قرار گیرد.

**واژگان کلیدی:** پروتئین CD155، بیان ژن، سرطان کولورکتال، Real-Time polymerase chain reaction، فلوسایتومتری

**ارجاع:** ژند ساره، حسینی سید مسعود، تبرائی علیجان، سعیدی محسن، مرادی عبدالوهاب. بررسی بیان گیرنده‌ی پولیوویروس (پروتئین CD155) در سطح Messenger RNA (mRNA) و پروتئین در رده‌ی سلولی سرطان کولورکتال. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۲۷): ۴۶۲-۴۵۳

### مقدمه

جهانی در بانک اطلاعاتی Global cancer. سرطان کولورکتال در کشور ایران، از لحاظ آماری با بروز ۱۱/۰۵، شیوع ۲۶/۳۷ و کشندگی ۶/۶۳، در جایگاه دوم سرطان‌های شایع قرار دارد و میزان بروز و کشندگی این سرطان در ایران در مردان رتبه‌ی چهارم، در زنان رتبه‌ی دوم و در هر دو جنس رتبه‌ی سوم را به خود اختصاص داده است (۴).

سرطان کولورکتال، یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در کنار سرطان ریه و پستان در نیم‌کره‌ی غربی می‌باشد (۱). سرطان کولورکتال، سومین سرطان شایع در مردان و دومین مورد در زنان می‌باشد (۲). بروز سرطان کولون در قسمت‌های مختلف دنیا با بیش از ۱۰ برابر موارد بروز متغیر است (۳). بر اساس آمار منتشر شده از سازمان بهداشت

۱- دانشجوی دکتری، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

۴- استادیار، مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

۵- استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

CD155 به همراه اینتگرین avb3 در سلول‌های در حال مهاجرت تجمع می‌نماید و سرم و عامل رشد مشتق از پلاکت (Platelet-derived growth factor یا PDGF) را افزایش می‌دهد و در یک رفتار وابسته به اینتگرین، باعث القای مهاجرت سلول‌ها می‌شود. گیرنده‌ی CD155، همچنین دارای فعالیت ادهزین هتروفیلیک سلول-سلول به طور انتخابی با نکتین ۳ می‌باشد (۲۱، ۱۸). میان‌کنش CD155 با نکتین ۳، باعث واکنش متقابل E-کاده‌رین و نکتین ۳ و افزایش چسبندگی سلول-سلول می‌شود (۲۲). این تنظیم منفی اندوسیتوز وابسته به CD155 در سطح تماس سلول-سلول، باعث کاهش حرکت و پرولیفراسیون می‌گردد (۲۳).

مطالعات با استفاده از رده‌های سلولی تغییر شکل یافته یا سرطانی که به طور وسیعی CD155 را بیان می‌کنند، نشان داده است که تنظیم منفی CD155 در این سلول‌ها، مهاجرت (۲۴، ۱۷)، پرولیفراسیون (۲۵) و متاستاز (۲۴) را کاهش می‌دهد. گیرنده‌ی پولیوویروس، یک آنتی‌ژن توموری است. بر اساس تمام شواهد تجربی، CD155 به تنهایی برای اعطا کردن حساسیت سلول‌های پستانداران به پولیوویروس نوع وحشی لازم و ضروری می‌باشد (۲۶). طیف میزبانی پولیوویروس به انسان و پریمات‌های دنیای قدیم محدود می‌شود که مدیون اتکای CD155 اختصاصی گونه است (۲۸-۲۷).

بیان بیش از حد CD155 در تمام آدنوماهایی که دارای ضایعات پیش سرطانی کولورکتال می‌باشند، مشاهده شده است. بیان CD155 ممکن است در مراحل اولیه‌ی تومورزایی نقش داشته باشد و از آن جایی که سطح بیان CD155 در بسیاری از اعضای طبیعی بالغین بسیار پایین است و پروتئین CD155 از طریق وسترن بلائینگ، شیوه‌نامه‌های رنگ‌آمیزی ایمونوفلورسنت غیر مستقیم یا ایمونوپراکسیداز در بافت‌های طبیعی قابل شناسایی نمی‌باشد (۱۸، ۱۴). هدف از انجام این مطالعه، بررسی میزان بیان ژن و پروتئین گیرنده‌ی پولیوویروس انسانی CD155 در یک رده‌ی سلولی سرطانی کولون و یک رده‌ی سلولی طبیعی کولون به عنوان شاهد با استفاده از روش‌های Real-Time PCR و فلوسایتومتری به منظور کاربردهای درمانی بعدی به عنوان هدفی برای ویروس‌درمانی با به کارگیری پولیوویروس بود.

### روش‌ها

**کشت رده‌ی سلولی سرطانی SW480 و طبیعی کولون (Fetal human colon یا FHC):** یک رده‌ی سلولی سرطان کولون با نام SW480 (NCBI: C506 Pasture) و یک رده‌ی سلولی طبیعی کولون (ATCC CRL-1831) FHC به عنوان رده‌های سلولی مورد استفاده در این مطالعه انتخاب شدند. این رده‌ی سلولی سرطانی،

با وجود پیشرفت‌های اساسی که در درمان‌های سرطان ایجاد شده است، میزان مرگ و میر برای بسیاری از بدخیمی‌ها به طور نگران کننده‌ای همچنان بالا باقی مانده است. مهار رشد و پیشرفت سرطان، یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های پزشکی می‌باشد (۵). رژیم‌های کلاسیک درمان سرطان (جراحی، هورمون‌درمانی، پرتودرمانی و ایمنی‌درمانی یا درمان بیولوژیکی) اغلب غیر اختصاصی می‌باشند. به بیان دیگر، سمیت درمان نه تنها سلول‌های سرطانی را از بین می‌برد، بلکه سلول‌ها و بافت‌های سالم فرد بیمار نیز آسیب می‌بینند. مشکل بزرگ دیگر در درمان سرطان، ریشه‌کنی ناقص تومور مهاجم اولیه یا انتشار سلول‌های توموری است که منجر به عود بیماری می‌شود. هدف رایج برای توسعه‌ی درمان‌های جدید به منظور درمان سرطان، طراحی عوامل درمانی است که شاخص درمانی زیادی (توانایی بالا در برابر سلول‌های بدخیم با سمیت کم یا بدون سمیت برای سلول‌های طبیعی) داشته باشند (۶). با ظهور ابزارهای جدید بیوتکنولوژی و فهم بهتر بیولوژی سرطان و ویروس‌شناسی، ویروس‌های لایتیک طبیعی به کار گرفته شدند تا سلول‌ها را عفونی نمایند، درون آن‌ها همانندسازی و سلول‌ها را تجزیه کنند (۷). چرخه‌ی همانندسازی بسیاری از ویروس‌ها، مسیرهای سلولی یکسانی را به کار می‌اندازد که در سلول‌های سرطانی تغییر پیدا کرده‌اند (۸). ویروس انکولایتیک، ویروسی است که توانایی اختصاصی برای آلوده کردن و تجزیه‌ی سلول‌های سرطانی را دارد؛ در حالی که به سلول‌های طبیعی آسیبی وارد نمی‌کند (۹). این اختصاصیت، با بهره‌گیری از گیرنده‌ی سطحی سلول مشتق شده است (۱۰).

پولیوویروس، یک انتروویروس متعلق به خانواده‌ی پیکورناویریده (ویروس‌های کوچک، بدون پوشش، بیست وجهی حاوی ژنوم RNA 7.4 Kb) است (۱۱). پولیوویروس، می‌تواند مسیر آپتوز را در سلول‌های آلوده به راه اندازد (۱۲). گیرنده‌ی پولیوویروس انسانی (Cluster of differentiation 155/Poliovirus receptor یا CD155/PVR) و هم‌تای میمونی آن، اعضای سوپر خانواده‌ی ایمونوگلوبولین می‌باشند. آن‌ها با خانواده‌ی نکتین از مولکول‌های ادهزین مرتبط هستند که در اتصالات درون سلولی یافت می‌شوند.

نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که PVR/CD155 در بسیاری از سلول‌های سرطانی انسان و طیف وسیعی از رده‌های سلولی تغییر شکل یافته (۱۸-۱۳) بیش از حد بیان می‌شود. بیان تنظیم شده مثبت از CD155 توسط آنالیز ایمونوهیستوشیمی در انواع مختلفی از بافت‌های سرطانی انسان شامل سرطان کولون (۱۹، ۱۷)، گلیوما بدخیم (۲۰، ۱۷)، سرطان پروستات، سرطان سلول‌های کلیوی، کارسینوما پانکراس، سرطان تخمدان، سرطان سلول‌های غیر کوچک ریه و سرطان پستان مشاهده شده است (۱۷). گیرنده‌ی



روش سنجش فلوسایتومتری طبق روش زیر استفاده گردید. رده‌ی سلول سرطانی و طبیعی کولون در محیط‌های کشت اختصاصی، کشت داده شدند و پس از آن که این سلول‌ها به جمعیت ۹۰ درصد رسیدند، رده‌های سلولی پیش گفته با استفاده از محلول ۰/۲۵ درصد تریپسین - Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) تریپسینه و از فلاسک جداسازی شدند. تعداد  $10^6 \times 10^5$  سلول در هر میلی‌لیتر از محیط کشت سلولی، برای رنگ‌آمیزی فلوسایتومتری مناسب می‌باشد. از این رو، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از این محیط کشت سلولی که حاوی  $10^5 \times 10^5$  بود، برای سنجش فلوسایتومتری استفاده گردید. برای این منظور، این سلول‌ها برای مدت ۵ دقیقه با شتاب ۳۰۰۰ دور در دقیقه (RPM یا Revolutions per minute) سانتریفیوژ و با ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر Phosphate buffered saline (PBS) شستشو و در دو میکروتیوب جداگانه با حجم ۵۰۰ میکرولیتر تقسیم شدند. یک میکروتیوب برای اضافه کردن آنتی‌بادی مورد نظر و میکروتیوب بعدی برای ایزوتایپ شاهد بود.

برای هر رده‌ی سلولی، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر Cell staining buffer با ۵ میکرولیتر از آنتی‌بادی anti-human CD155 (PVR) Phycoerythrin (PE) مخلوط کرده و به میکروتیوب مربوط به آنتی‌بادی اضافه گردید و برای مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شدند. برای ایزوتایپ شاهد نیز برای هر رده‌ی سلولی، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر Cell staining buffer (eBioScience) با ۵ میکرولیتر از ایزوتایپ شاهد PE Mouse IgG2a,  $\kappa$  (Biolegend) مخلوط گردید و به میکروتیوب مربوط به ایزوتایپ شاهد اضافه گردید و برای مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شد. آن گاه، تمامی میکروتیوب‌های حاوی آنتی‌بادی و ایزوتایپ شاهد، برای مدت ۵ دقیقه با شتاب ۳۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شدند و سوپرناتانت حذف گردید. در این مرحله، سلول‌ها دوباره با ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر PBS شستشو داده شدند و برای مدت ۵ دقیقه با شتاب ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و سوپرناتانت دور ریخته شد. به هر میکروتیوب، مقدار ۵۰۰ میکرولیتر بافر PBS اضافه گردید و برای سنجش فلوسایتومتری در دستگاه فلوسایتومتر BD Biosciences قرار گرفتند.

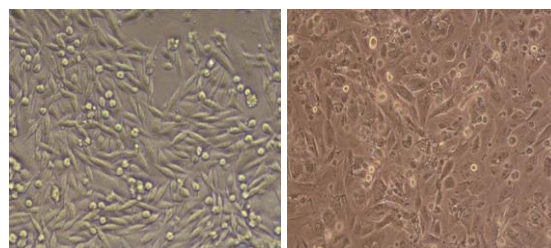
#### تعیین میزان بیان ژن گیرنده‌ی پولیوویروس CD155 (PVR) با

استفاده از سایبرگرین Real-Time PCR برای تعیین میزان بیان ژن گیرنده‌ی پولیوویروس CD155 (PVR) از تکنیک سایبرگرین Real-Time PCR با به کارگیری پرایمرهای اختصاصی برای ژن CD155 به عنوان گیرنده‌ی پولیوویروس استفاده گردید. برای این منظور، ابتدا استخراج RNA رده‌های سلولی سرطانی و طبیعی کولون با استفاده از محلول تریزول طبق TRI Reagent sigma-Aldrich catalog number: T9242 طبق شیوه‌نامه‌ی استفاده از آن صورت گرفت.

به صورت ویال فریز شده از انیستیتو پاستور ایران خریداری و رده‌ی سلولی طبیعی کولون به صورت ویال فریز شده از بانک سلولی آمریکا تهیه گردید. نام این رده‌ی سلولی SW480 متعلق به کولون مرد بیمار ۵۰ ساله مبتلا به سرطان کولون در مراحل ۳-۴، با KRAS نوع G12V و BRAF، PIK3CA و PTEN از نوع wt و TP53 R273H:P309S بود (۲۹).

پس از شمارش سلول و تعیین تعداد سلول‌های زنده‌ی موجود در هر میلی‌لیتر از محیط کشت سلولی، تعداد  $10^4 \times 10^3$  سلول زنده به ازای هر سانتی‌متر مربع از فلاسک کشت سلولی، کشت داده شد؛ به طوری که یک ویال حاوی  $10^6 \times 10^6$  سلول زنده برای فلاسک T25 مناسب می‌باشد. برای این منظور، به رسوب سلولی به دست آمده پس از سانتریفیوژ، مقدار ۳ میلی‌لیتر محیط کشت استریل حاوی Roswell Park Memorial Institute (RPMI) و Fetal bovine serum (FBS) ۱۰ درصد و پنی‌سیلین/استرپتومایسین ۱ واحد بر میلی‌لیتر که از قبل در انکوباتور گرم شده بود، اضافه گردید.

بدیهی است که برای کشت رده‌ی سلولی طبیعی کولون، عوامل رشد ۰/۰۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر انسولین، ۰/۰۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ترانسفرین، ۱۰ میلی‌مولار HEPES (با فرمول 2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl]ethanesulfonic acid برای غلظت نهایی ۲۵ میلی‌مولار)، ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر کلراتوکسین و ۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر هیدروکورتیزون، نیز به محیط کشت اضافه گردید. پس از هموژن‌سازی سوسپانسیون سلولی با محیط کشت مورد نظر، سلول در فلاسک T25 کاشته و درون انکوباتور حاوی  $CO_2$  ۵ درصد در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. زمان دو برابر شدن برای سلول SW480 و رده‌ی سلولی FHC به ترتیب ۳۸ و ۹۶ ساعت بود. شکل ۱، کشت رده‌های سلولی سرطانی و طبیعی کولون مورد استفاده در این تحقیق را با بزرگ‌نمایی ۴۰ نشان می‌دهد.



شکل ۱. سمت راست: رده‌ی سلولی SW480، سمت چپ: رده‌ی سلولی طبیعی کولون (Fetal human colon یا FHC) با بزرگ‌نمایی ۴۰

#### آماده‌سازی سلول‌ها برای سنجش فلوسایتومتری برای نشانگر

CD155. به منظور بررسی میزان بیان پروتئین CD155 به عنوان گیرنده‌ی پولیوویروس در سطح سلول سرطانی و طبیعی کولون، از

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده برای آمپلیفیکاسیون ژن گیرنده‌ی پولیویروس (CD155)

نام	توالی پرایمر 5'→3'	ناحیه اتصال	طول محصول PCR
C1 پرایمر	TGGACGGCAAGAATGTGACC	۹۴۰-۹۵۹	
C2 پرایمر	ATCATAGCCAGAGATGGATAACC	۱۰۳۴-۱۰۵۵	۱۱۶ bp
$\beta$ -actin/F	GTCTGCCTTGGTAGTGATAATG	۱۲۰-۱۴۲	
$\beta$ -actin/R	TCGAGGACGCCCTATCATGG	۲۰۳-۲۲۲	۱۲۰ bp

نسخه‌های RNA استخراج شده‌ی تمام رده‌های سلولی سرطانی و طبیعی کولون، cDNA سنتز گردد. در این مطالعه، از کیت سنتز cDNA ساخت شرکت K1621: ThermoScientific catalog numer و بر طبق دستورالعمل کیت استفاده گردید.

#### سایبرگرین Real-Time PCR برای ژن گیرنده‌ی پولیویروس

**CD155 (PVR):** به منظور تعیین میزان بیان ژن گیرنده‌ی پولیویروس انسانی (CD155) از روش سایبرگرین Real-Time PCR انجام شد که از پرایمرهای اختصاصی (۳۰) که در جدول ۱ آمده است و به آگزون‌های ۳ و ۴ ژن CD155 انسانی با نواحی مختلف اسپلیسینگ متصل می‌شوند، استفاده گردید. در این مطالعه از ژن  $\beta$  اکتین، به عنوان شاهد داخلی استفاده شد. Real-Time PCR در ترموسایکلر ABI Prism 7300 (Applied Biosystems) انجام شد.

مخلوط واکنش شامل Real Q Plus 2x Master Mix Green با غلظت 1x، پرایمر (۱۰ میکرومولار) C1، C2،  $\beta$ -actin/F و  $\beta$ -actin/R با غلظت ۰/۴ میکرومولار بر روی یخ آماده و به طور کامل مخلوط و حجم ۲۲ میکرولیتر آن در داخل میکروتیوب‌های PCR تقسیم گردید. نمونه‌های cDNA که برای رده‌ی سلولی سرطانی و سلول طبیعی کولون با غلظت یکسان و به غلظت ۴ میکروگرم تهیه شده به مقدار ۳ میکرولیتر به هر میکروتیوب دارای مخلوط واکنش اضافه گردید. سپس، با برنامه‌ای شامل ۱۵ دقیقه دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به منظور فعال‌سازی آنزیم و به دنبال آن برای ۴۰ دوره، به مدت ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ به منظور واسرشت الگوی cDNA و ۱ دقیقه در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به منظور اتصال و گسترش پرایمر، در ترموسایکلر Real Time ABI7300 قرار داده شدند. متحنی‌های ذوب و تکثیر برای ژن گیرنده‌ی پولیویروس انسانی CD155 در رده‌ی سلولی SW480 به همراه رده‌ی سلولی طبیعی کولون و نمونه‌ی شاهد منفی در شکل‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است.

**آنالیز آماری:** ارتباط میان سطح بیان CD155 در رده‌های سلولی سرطانی و طبیعی کولون با استفاده از آزمون ANOVA دو مرحله‌ای (Post-Hoc) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) انجام گردید و  $P < ۰/۰۵۰$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

#### استخراج RNA از رده‌های سلولی سرطانی و طبیعی کولون:

به رسوب سلولی به دست آمده که حاوی  $۱۰^6 \times ۵-۶$  سلول بود، بر طبق شیوه‌نامه، مقدار ۱ میلی‌لیتر از محلول تریزول اضافه گردید. میکروتیوب‌ها برای مدت ۵ دقیقه بر روی یخ انکوبه شدند و سپس، به هر یک از میکروتیوب‌ها مقدار ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه گردید. میکروتیوب‌ها برای مدت ۱۵ ثانیه به شدت ورتکس گردید و برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و در دور  $۱۲۰۰۰ \times g$  سانتریفیوژ شدند. در این مرحله، در هر میکروتیوب، سه بخش مشاهده شد. بخش بالایی که به طور کامل شفاف و بی‌رنگ حاوی اسید نوکلئیک بود، بخش میانی که سفید رنگ و حاوی پروتئین بود و بخش زیرین که همان تریزول بود. در این مرحله، با سمپلر بخش بالایی تا حدود ۳/۱ آن جدا و به میکروتیوب جدید منتقل شد و به آن ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانل سرد اضافه گردید و برای مدت ۱۶ ساعت در فریزر  $-۲۰$  درجه‌ی سانتی‌گراد به منظور افزایش رسوب RNA انکوبه شد. سپس، تمامی میکروتیوب‌ها برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و در دور  $۱۲۰۰۰ \times g$  سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، محلول رویی خالی گردید. در این مرحله، رسوب RNA مشاهده شد و این رسوب با ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد شستشو داده شد. برای مدت کوتاهی، نمونه‌ها ورتکس شدند. آن گاه، برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و در دور  $۷۵۰۰ \times g$  سانتریفیوژ شدند. رسوب RNA برای مدت ۱۰-۵ دقیقه در زیر هود قرار گرفت تا به طور مختصری خشک شود. مقدار ۳۰ میکرولیتر از آب مقطر تیمار شده با Diethyl pyrocarbonate (DEPC) به هر میکروتیوب اضافه گردید و برای مدت ۱۵-۱۰ دقیقه در ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به منظور حل شدن رسوب RNA انکوبه شدند. پس از استخراج RNA، آنالیز کمی و کیفی بر روی نمونه‌های استخراج شده صورت گرفت.

#### هضم آنزیمی DNaseI و سنتز cDNA بر روی نمونه‌های RNA

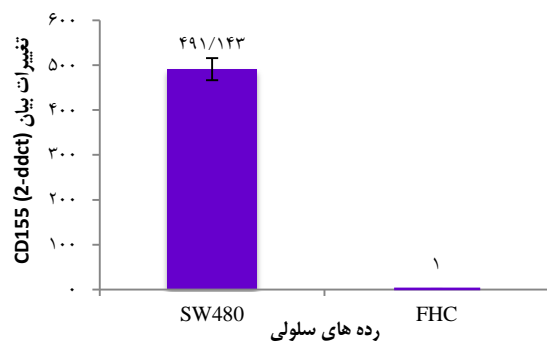
استخراج شده‌ی رده‌ی سلولی سرطانی و طبیعی کولون: مقدار ۴ میگروگرم از RNA برای هضم آنزیمی DNaseI (Cinnagen) و در نهایت سنتز Complementary DNA (cDNA) مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام سایبرگرین Real-Time PCR لازم است که از روی



CD155 به طور معنی‌داری ( $P < 0/001$ ) در رده‌ی سلولی سرطان کولون در مقایسه با رده‌ی سلولی طبیعی بالاتر بود. همان‌طور که در جدول ۲ آمده است، بالاترین میزان بیان ژن CD155 در رده‌ی سلولی SW480 مشاهده گردید و کمترین میزان بیان این ژن، مربوط به رده‌ی سلول طبیعی کولون (FHC) بود. چنانچه در شکل ۴ نشان داده شد، میزان بیان ژن CD155 در رده‌ی سلولی SW480 نسبت به رده‌ی سلولی طبیعی کولون، ۴۹۱/۱۴ برابر افزایش بیان را نشان داد. تغییرات لگاریتمیک بیان ژن CD155 در رده‌ی سلولی سرطانی و طبیعی کولون نشان داد که میزان بیان Log10 ژن CD155 به طور معنی‌داری در رده‌ی سلولی SW480 در مقایسه با سلول طبیعی کولون بالاتر می‌باشد ( $P < 0/001$ ) (شکل ۵).

#### پروتئین گیرنده‌ی پولیوویروس انسانی CD155 در رده‌های

سلولی سرطان کولون نسبت به رده‌ی سلولی طبیعی بیشتر بیان می‌شود. به منظور تعیین میزان بیان پروتئین CD155 در رده‌های سلولی سرطانی و طبیعی کولون، نتایج به دست آمده از فلوسایتومتری به روش زیر آنالیز گردید. در ابتدا، جمعیت سلول‌های منفرد (Single) بر اساس پراکنش مستقیم و جانبی انتخاب شد (P1) که در سمت چپ شکل ۶ نشان داده شده است. سپس، بعد از حذف کردن رنگ زمینه به کمک ایزوتایپ شاهد که در تصویر میانی آمده است،



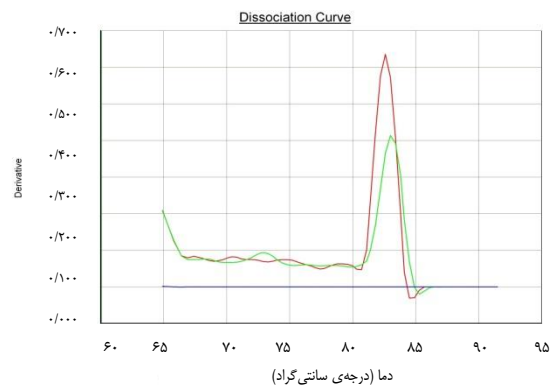
شکل ۴. بررسی بیان ژن گیرنده‌ی پولیوویروس انسانی CD155 در مقایسه با ژن مرجع ( $\beta$  اکتین) در رده‌های سلولی سرطانی و طبیعی کولون

جدول ۲. تغییرات میزان بیان ژن CD155 در رده‌های سلولی سرطانی و طبیعی کولون با استفاده از سایبرگرین Real-Time Polymerase chain reaction (Real-Time PCR)

رده‌های سلولی	بیان ژن طبیعی شده	تغییرات بیان ژن CD155	SD	log10 تغییرات بیان
FHC	۱/۳۱	۱	۰	۰
SW480	۶۴۸/۰۶	۴۹۱/۱۴۳۲	۰/۰۵۶۵۶۰۹	۲/۶۹۱۲۰۸

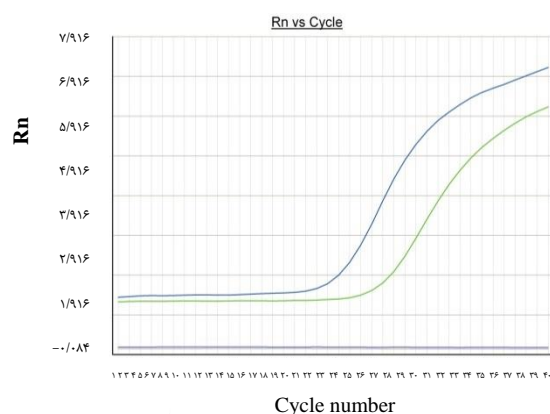
$2^{-\Delta CT}$  = بیان ژن طبیعی شده؛  $\Delta\Delta CT = 2$  = تغییرات بیان ژن CD155

SD: Standard deviation; FHC: Fetal human colon



شکل ۲. منحنی ذوب رده‌ی سلولی SW480 به همراه رده‌ی سلولی طبیعی کولون و نمونه‌ی شاهد منفی برای ژن گیرنده‌ی پولیوویروس انسانی CD155

ملاحظات اخلاقی: منبع تأیید کننده‌ی ملاحظات اخلاقی مطالعه‌ی دانشگاه علوم پزشکی گلستان با کد تصویب ۹۳۱۱۲۸۲۵۳ بود.



شکل ۳. منحنی تکثیر رده‌ی سلولی SW480 به همراه رده‌ی سلولی طبیعی کولون و نمونه‌ی شاهد منفی برای ژن گیرنده‌ی پولیوویروس انسانی CD155

#### یافته‌ها

ژن گیرنده‌ی پولیوویروس انسانی CD155 در رده‌های سلولی سرطانی کولون بیشتر از رده‌ی سلولی طبیعی بیان می‌شود. بیان ژن

درصد سلول‌های SW480 رنگ‌آمیزی شده با آنتی‌بادی CD155 در کانال FL2A که در تصویر سمت راست نشان داده شده است، به کمک دستگاه فلوسایتومتر اندازه‌گیری شد. کانال FL2A به این دلیل استفاده گردید که حداکثر میزان انتشار رنگ PE که برای نشان‌دار کردن آنتی‌بادی استفاده شد، در طول موج ۵۷۵ نانومتر بود که با کانال FL2A قابل شناسایی بود.

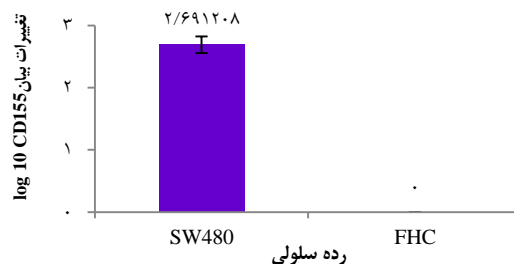
نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که بیان گیرنده‌ی CD155 هم در سطح پروتئین و هم در سطح اسید نوکلئیک به طور معنی‌داری در سرطانی کولون، نسبت به سلول طبیعی کولون بیشتر می‌باشد.

### بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که بیان گیرنده‌ی CD155 هم در سطح پروتئین و هم در سطح اسید نوکلئیک به طور معنی‌داری در سرطانی کولون، نسبت به سلول طبیعی کولون بالاتر می‌باشد. به نظر می‌رسد میزان بیان CD155/PVR در پیشبرد راهبرد ویروس‌درمانی سرطان کولورکتال مؤثر باشد.

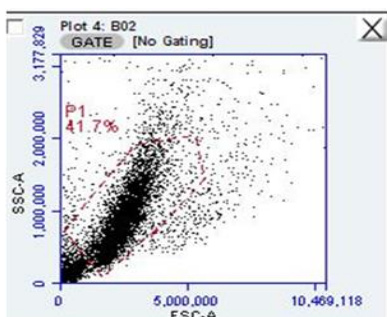
Nishiwada و همکاران، بیان ژن CD155 را در ۱۳۴ بیمار مبتلا به سرطان پانکراس بررسی کردند و ارتباط CD155 را با پیش‌بینی ایمنی تومور و آنژیوژنز مورد بررسی قرار دادند و مطابق با نتایج یافته‌های این پروژه نشان دادند که بیان CD155 در بافت‌های سرطان پانکراس بسیار فراوان می‌باشد علاوه بر این، خاموش‌سازی CD155 باعث مهار پرولیفراسیون می‌شود (۳۱). مزیت مطالعه‌ی حاضر، استفاده از سلول طبیعی کولون، به عنوان شاهد و نیز به کارگیری روش نوین اندازه‌گیری میزان بیان پروتئین سطحی CD155 بود.

نتایج مطالعات Iguchi-Manaka و همکاران نشان داد که سطح CD155 ترشحی به طور معنی‌داری در سرم ۲۶۲ بیمار با سرطان‌های ریه، گاسترواینتستینال، پستان و سرطان‌های زنان در مقایسه با سرم اهداکنندگان سالم، بالاتر می‌باشد. علاوه بر این، سطح CD155 به طور معنی‌داری در بیماران با مراحل اولیه‌ی بیماری (مراحل ۱ و ۲) سرطان گاستریک نسبت به اهداکنندگان سالم بالاتر بوده است و در بیماران با مراحل پیشرفته‌ی بیماری (مراحل ۳ و ۴) نسبت به بیماران با مراحل اولیه‌ی بیماری و اهداکنندگان سالم به طور معنی‌داری بالاتر بوده است.

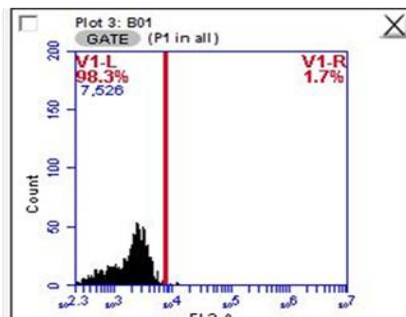


شکل ۵. تغییر میزان بیان ژن گیرنده‌ی پولیوویروس انسانی CD155 در رده‌ی سلولی سرطانی در مقایسه با سلول طبیعی کولون FHC: Fetal human colon

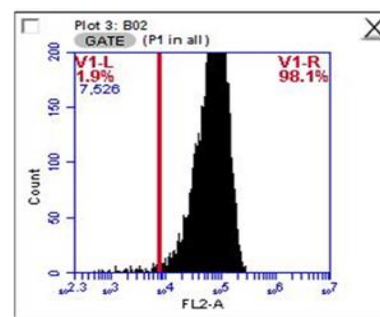
میزان بیان پروتئین CD155 با استفاده از فیتواریترین (PE) آنتی‌بادی مونوکلونال ضد انسانی CD155 (PVR) شناسایی گردید و بیان بیش از حد این پروتئین، در رده‌ی سلولی سرطانی کولون مشاهده شد. پروتئین CD155 در رده‌ی سلولی SW480 به میزان ۹۸/۱ درصد بیان شد و این در حالی است که این پروتئین، در رده‌ی سلولی طبیعی کولون، تنها ۱/۳ درصد بیان گردید (شکل‌های ۷-۶). به طور کلی، با توجه به نتایج حاصل از آنالیز فلوسایتومتری و سایبرگرین Real-Time PCR برای بررسی میزان بیان ژن گیرنده‌ی پولیوویروس انسانی CD155 در سطح اسید نوکلئیک و پروتئین، مشخص شد که رده‌ی سلولی سرطانی کولون SW480، بالاترین میزان بیان ژن گیرنده‌ی پولیوویروس انسانی CD155 را به خود



نمودار نقطه‌ای FSC-SSC رده‌ی سلولی SW480

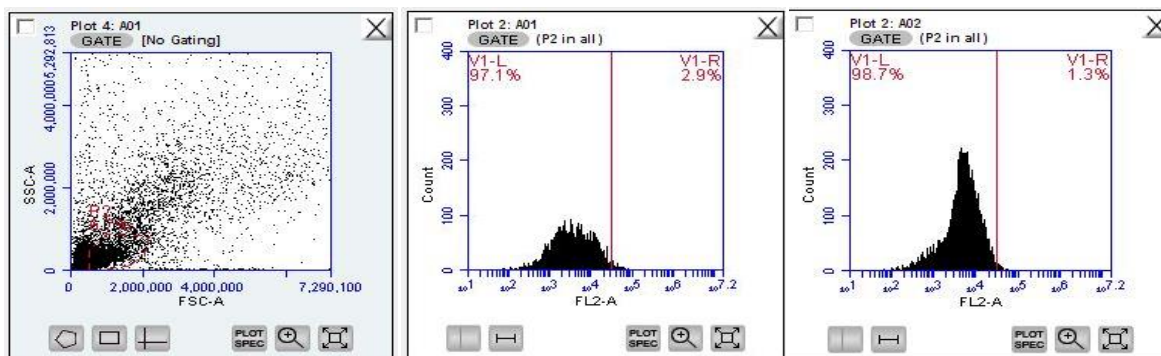


نمودار هیستوگرام سلول SW480 رنگ‌آمیزی شده با ایزوتاپ شاهد



نمودار هیستوگرام سلول SW480 رنگ‌آمیزی شده با آنتی‌بادی CD155

شکل ۶. میزان بیان پروتئین گیرنده‌ی ویروس فلج اطفال انسانی CD155 در رده‌ی سلولی SW480 با استفاده از فلوسایتومتری



نمودار نقطه‌ای FSC-SSC رده‌ی سلولی (FHC) Fetal human colon

نمودار هیستوگرام سلول Fetal human colon (FHC) رنگ‌آمیزی شده با ایزوتایپ شاهد

نمودار هیستوگرام سلول Fetal human colon (FHC) رنگ‌آمیزی شده با آنتی‌بادی CD155

شکل ۷. میزان بیان پروتئین گیرنده‌ی ویروس فلج اطفال انسانی CD155 در رده‌ی سلولی Fetal human colon (FHC) با استفاده از فلوسایتومتری

۶۳ بیمار مشاهده شده است و نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز با به کارگیری روش‌های حساس‌تر بیولوژی ملکولی، به یافته‌های مشابهی در ارتباط با سرطان کولون دست پیدا کرد. علاوه بر این، مطالعه‌ی Nakai و همکاران، هم‌راستا با نتایج مطالعه‌ی حاضر، نشان داد که CD155 با بدخیمی تومور در ارتباط است و بیان بیش از حد CD155 در سلول‌های سرطانی، برای پیش‌بینی ارزیابی بیماران با آدنوکارسینوما‌ی اولیه‌ی ریوی، اهمیت بالینی دارد (۳۴).

نتایج مطالعه‌ی Masson و همکاران با استفاده از واکنش نیمه کمی زنجیره‌ی پلیمراز رونوشت‌بردار معکوس (Reverse transcription polymerase chain reaction) و آنالیز ایمونوهیستوشیمی بر روی نمونه‌های بافت بیماران با آدنوماها و آدنوکارسینوماهای کولورکتال، هم‌راستا با نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که سطح mRNA CD155 در ۶ بافت از ۶ بافت مورد مطالعه‌ی سرطان کولورکتال، در مقایسه با بافت‌های موکوزی عاری از تومور کولون، افزایش پیدا کرده است. آنالیز ایمونوهیستوشیمی، سطح افزایش یافته‌ی پروتئین CD155 در ۱۲ نمونه از ۱۲ نمونه را نشان داده است (۱۹). لازم به ذکر است که در مطالعه‌ی حاضر، رده‌ی سلولی سرطانی کولون متفاوتی نسبت به رده‌های سلولی استفاده شده در مطالعه‌ی Masson و همکاران (۱۹) به کار گرفته شد و همچنین، مزیت مطالعه‌ی حاضر در استفاده از سلول طبیعی کولون، به عنوان شاهد می‌باشد.

نتایج مطالعه‌ی Sloan و همکاران نشان داد که CD155 از طریق ایفای نقش آن در مهاجرت، تعدیل کننده‌ی تهاجم سلول توموری می‌باشد. خاموش کردن CD155، منجر به کاهش معنی‌داری در مهاجرت سلول‌های فیبروسارکوما HT1080 از طریق جاذب‌های شیمیایی سرم شد (۱۷). Sloan و همکاران، هم‌راستا با نتایج مطالعه‌ی

علاوه بر این، سطح CD155 ترشحی بعد از جراحی برداشتن سرطان‌ها، به طور معنی‌داری کاهش یافته است. بنابراین، سطح CD155 ترشحی در سرم، ممکن است به صورت بالقوه به عنوان نشانگر زیستی برای پیشرفت سرطان و توسعه‌ی آن مفید باشد (۳۲). اگر چه در مطالعه‌ی حاضر، از رده‌ی سلولی سرطانی و طبیعی کولون به منظور بررسی میزان بیان گیرنده‌ی پولیوویروس CD155 به جای نمونه‌های سرمی استفاده شده است، نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد؛ به طوری که نشان داده شد که رده‌ی سلولی سرطانی SW480 در ۴ مرحله‌ی بیماری می‌باشد و بالاترین میزان بیان CD155 را هم در سطح پروتئین و هم در سطح اسید نوکلئیک به خود اختصاص داده است.

در مطالعه‌ای Atsumi و همکاران، سطح بیان CD155 را در ۴۳ بیمار با تومور بافت نرم که توسط جراحی برداشته شدند، با استفاده از واکنش زنجیره‌ی پلیمرز کمی مورد ارزیابی قرار دادند. عوامل بالینی پاتولوژیکی که بیان Messenger RNA CD155 (mRNA CD155) را تحت تأثیر قرار می‌دهند، بررسی شدند و ارتباط میان سطح بیان CD155 و پیش‌بینی بیماری مشخص شد (۳۳). نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز هم‌راستا با مطالعه‌ی Atsumi و همکاران، با استفاده از واکنش زنجیره‌ی پلیمرز کمی و نیز آنالیز فلوسایتومتری، نشان داد که بالاترین میزان بیان CD155 در دو سطح پروتئین و mRNA، در رده‌ی سلولی سرطان کولون مشاهده گردید.

نتایج مطالعه‌ی Nakai و همکاران بر روی ۶۳ بافت آدنوکارسینوما‌ی اولیه‌ی ریوی که به منظور بررسی بیان CD155 توسط ایمونوهیستوشیمی مورد مطالعه قرار گرفتند، نشان داده است که بیان بیش از حد CD155 در سلول‌های سرطانی ۴۳ بیمار از

به بیان ژن‌های خارجی، تخریب می‌کند. مکانیزم‌های متعدد تجزیه‌ی سلولی وابسته به پولیوویروس به طور کامل شناخته نشده است، اما همراهی توقف سنتز پروتئین سلولی، مهار انتقال گلیکوپروتئین‌های سلولی و هضم پروتئولیتیک عوامل رونوشت‌برداری (۲۰)، منجر به تخریب کامل رده‌های سلولی اولیه می‌شود. پژوهشگران در نظر دارند با استفاده از یافته‌های مطالعه‌ی اخیر و با توجه به مناسب بودن و عدم نیاز به دست‌ورزی ژنی پولیوویروس به عنوان ابزاری برای ویروس‌درمانی سرطان، از این ویروس در تحقیقات بعدی مربوط به ویروس‌درمانی سرطان کولون استفاده نمایند. هر چند که تحقق این هدف نیازمند مطالعات بالینی و *In vivo* بیشتر و کامل‌تر می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی این که بیان گیرنده‌ی پولیوویروس در هر دو سطح mRNA و پروتئین در رده‌ی سلولی سرطان کولون، نسبت به رده‌ی سلولی طبیعی کولون بالاتر می‌باشد و همچنین، این افزایش بیان با درجه‌ی سرطان کولون، نسبت مستقیم دارد؛ به طوری که بیشترین میزان بیان گیرنده‌ی پولیوویروس در رده‌ی سلولی با پیشرفته‌ترین مرحله‌ی سرطان کولون مشاهده شد و در نتیجه، می‌توان از این یافته، به عنوان ابزار سلولی قدرتمند برای مطالعات ویروس‌درمانی با استفاده از پولیوویروس استفاده کرد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از حمایت‌های مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گلستان سپاسگزاری می‌نمایند. همچنین، از زحمات و حمایت‌های سرکار خانم دکتر فرزانه و جناب آقای دکتر نسیمیان از ذخایر ملی ژنتیکی و زیستی ایران و جناب آقای دکتر محمدرضا کلانی و سرکار خانم دکتر ماریه سقاییان، نهایت تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

حاضر، سطوح بالای بیان پروتئین CD155 در زیر مجموعه‌ای از انواع مختلفی از سلول‌های توموری شامل سرطان‌های پروستات، کلیه، پانکراس، ریه، تخمدان، پستان و مغز را نشان دادند و نقش وسیع‌تری از CD155 را در تومورزایی پیشنهاد کردند (۱۷).

تحقیق بر روی کتابخانه‌ی پایگاه داده‌های SAGE و EST نگهداری شده توسط طرح آناتومی ژنوم سرطان (CGAP) به آدرس <http://cgap.nci.nih.gov> با استفاده از معرف منحصر به فرد AACCCACCCAG از این نظریه که بیان ژن CD155 ممکن است در انواعی از سلول‌های توموری شامل کولون، مغز، کلیه، پانکراس، ریه و شکم افزایش پیدا کند، حمایت کرد (۱۷).

همچنین، Ochiai و همکاران نیز مطابق یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان دادند که بیان CD155 در انواعی از رده‌های سلولی سرطان‌های پستان و تومورهای اولیه‌ی پستان به میزان بالایی تنظیم می‌شود و یک پولیوویروس نو ترکیب انکولایتیک که می‌تواند بار سمی را حمل کند، می‌تواند به صورت انتخابی سلول‌های سرطانی پستان را بکشد (۳۵).

نشان داده شده است که پولیوویروس به طور انتخابی سلول‌های حاوی CD155 انسانی را هدف قرار می‌دهد (۲۸-۲۷). همچنین، مطالعات مختلف نشان داده است که پولیوویروس زنده‌ی ضعیف شده، مرگ سلولی آپوپتوتیک را در تومورها شامل گلیوماها (۳۶) و نوروبلاستوماها (۳۷) از طریق میان‌کنش با CD155 در شرایط *in vitro* و *in vivo* القا می‌کند. در گذشته نیز نشان داده شده است که پولیوویروس زنده‌ی ضعیف شده، به عنوان فرمی از انکولایتیک و پروتئینی، برای درمان سارکومای بافت نرم که CD155 را بیان می‌کند، دارای پتانسیل درمانی می‌باشد (۳۸).

انکولایتیک ویروس‌هایی مانند پولیوویروس، سلول‌های توموری را به سرعت از طریق ابزارهای خودش برای کشتن سلول و بدون نیاز

### References

1. Ries LAG, Eisner MP, Kosary CL, Hankey BF, Miller BA, Clegg L, et al. SEER cancer statistics review, 1975-2002. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2002.
2. Macrae FA. Colorectal cancer: Epidemiology, risk factors, and protective factors. UpToDate [Online]. [cited 2010]; Available from: URL: <http://www.uptodate.com/contents/colorectal-cancer-epidemiology-risk-factors-and-protective-factors>
3. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 2011; 61(2): 69-90.
4. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer 2015; 136(5): E359-E386.
5. Zhivotovsky B, Orrenius S. Carcinogenesis and apoptosis: paradigms and paradoxes. Carcinogenesis 2006; 27(10): 1939-45.
6. Dorer DE, Nettelbeck DM. Targeting cancer by transcriptional control in cancer gene therapy and viral oncolysis. Adv Drug Deliv Rev 2009; 61(7-8): 554-71.
7. Ries SJ, Brandts CH. Oncolytic viruses for the treatment of cancer: current strategies and clinical trials. Drug Discov Today 2004; 9(17): 759-68.
8. Singh PK, Doley J, Kumar GR, Sahoo AP, Tiwari AK. Oncolytic viruses and their specific targeting to tumour cells. Indian J Med Res 2012; 136(4): 571-84.

9. Russell SJ, Peng KW. Viruses as anticancer drugs. *Trends Pharmacol Sci* 2007; 28(7): 326-33.
10. Bell JC, Lichty B, Stojdl D. Getting oncolytic virus therapies off the ground. *Cancer Cell* 2003; 4(1): 7-11.
11. Blondel B, Duncan G, Couderc T, Delpyroux F, Pavio N, Colbere-Garapin F. Molecular aspects of poliovirus biology with a special focus on the interactions with nerve cells. *J Neurovirol* 1998; 4(1): 1-26.
12. Tolskaya EA, Romanova LI, Kolesnikova MS, Ivannikova TA, Smirnova EA, Raikhlin NT, et al. Apoptosis-inducing and apoptosis-preventing functions of poliovirus. *J Virol* 1995; 69(2): 1181-9.
13. Koike S, Horie H, Ise I, Okitsu A, Yoshida M, Iizuka N, et al. The poliovirus receptor protein is produced both as membrane-bound and secreted forms. *EMBO J* 1990; 9(10): 3217-24.
14. Faris RA, McEntire KD, Thompson NL, Hixson DC. Identification and characterization of a rat hepatic oncofetal membrane glycoprotein. *Cancer Res* 1990; 50(15): 4755-63.
15. Chadeneau C, LeMoullac B, Denis MG. A novel member of the immunoglobulin gene superfamily expressed in rat carcinoma cell lines. *J Biol Chem* 1994; 269(22): 15601-5.
16. Lim YP, Fowler LC, Hixson DC, Wehbe T, Thompson NL. TuAg.1 is the liver isoform of the rat colon tumor-associated antigen pE4 and a member of the immunoglobulin-like supergene family. *Cancer Res* 1996; 56(17): 3934-40.
17. Sloan KE, Eustace BK, Stewart JK, Zehetmeier C, Torella C, Simeone M, et al. CD155/PVR plays a key role in cell motility during tumor cell invasion and migration. *BMC Cancer* 2004; 4: 73.
18. Ikeda W, Kakunaga S, Itoh S, Shingai T, Takekuni K, Satoh K, et al. Tage4/Nectin-like molecule-5 heterophilically trans-interacts with cell adhesion molecule Nectin-3 and enhances cell migration. *J Biol Chem* 2003; 278(30): 28167-72.
19. Masson D, Jarry A, Baury B, Blanchardie P, Laboisce C, Lustenberger P, et al. Overexpression of the CD155 gene in human colorectal carcinoma. *Gut* 2001; 49(2): 236-40.
20. Gromeier M, Lachmann S, Rosenfeld MR, Gutin PH, Wimmer E. Intergeneric poliovirus recombinants for the treatment of malignant glioma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(12): 6803-8.
21. Mueller S, Wimmer E. Recruitment of nectin-3 to cell-cell junctions through trans-heterophilic interaction with CD155, a vitronectin and poliovirus receptor that localizes to alpha(v)beta3 integrin-containing membrane microdomains. *J Biol Chem* 2003; 278(33): 31251-60.
22. Sato T, Irie K, Ooshio T, Ikeda W, Takai Y. Involvement of heterophilic trans-interaction of Necl-5/Tage4/PVR/CD155 with nectin-3 in formation of nectin- and cadherin-based adherens junctions. *Genes Cells* 2004; 9(9): 791-9.
23. Fujito T, Ikeda W, Kakunaga S, Minami Y, Kajita M, Sakamoto Y, et al. Inhibition of cell movement and proliferation by cell-cell contact-induced interaction of Necl-5 with nectin-3. *J Cell Biol* 2005; 171(1): 165-73.
24. Ikeda W, Kakunaga S, Takekuni K, Shingai T, Satoh K, Morimoto K, et al. Nectin-like molecule-5/Tage4 enhances cell migration in an integrin-dependent, Nectin-3-independent manner. *J Biol Chem* 2004; 279(17): 18015-25.
25. Kakunaga S, Ikeda W, Shingai T, Fujito T, Yamada A, Minami Y, et al. Enhancement of serum- and platelet-derived growth factor-induced cell proliferation by Necl-5/Tage4/poliovirus receptor/CD155 through the Ras-Raf-MEK-ERK signaling. *J Biol Chem* 2004; 279(35): 36419-25.
26. Mendelsohn CL, Wimmer E, Racaniello VR. Cellular receptor for poliovirus: molecular cloning, nucleotide sequence, and expression of a new member of the immunoglobulin superfamily. *Cell* 1989; 56(5): 855-65.
27. Ren RB, Costantini F, Gorgacz EJ, Lee JJ, Racaniello VR. Transgenic mice expressing a human poliovirus receptor: a new model for poliomyelitis. *Cell* 1990; 63(2): 353-62.
28. Koike S, Taya C, Kurata T, Abe S, Ise I, Yonekawa H, et al. Transgenic mice susceptible to poliovirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88(3): 951-5.
29. Ahmed D, Eide PW, Eilertsen IA, Danielsen SA, Eknaes M, Hektoen M, et al. Epigenetic and genetic features of 24 colon cancer cell lines. *Oncogenesis* 2013; 2: e71.
30. Baury B, Masson D, McDermott BM, Jr., Jarry A, Blottiere HM, Blanchardie P, et al. Identification of secreted CD155 isoforms. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309(1): 175-82.
31. Nishiwada S, Sho M, Yasuda S, Shimada K, Yamato I, Akahori T, et al. Clinical significance of CD155 expression in human pancreatic cancer. *Anticancer Res* 2015; 35(4): 2287-97.
32. Iguchi-Manaka A, Okumura G, Kojima H, Cho Y, Hirochika R, Bando H, et al. Increased soluble CD155 in the serum of cancer patients. *PLoS One* 2016; 11(4): e0152982.
33. Atsumi S, Matsumine A, Toyoda H, Niimi R, Iino T, Sudo A. Prognostic significance of CD155 mRNA expression in soft tissue sarcomas. *Oncol Lett* 2013; 5(6): 1771-6.
34. Nakai R, Maniwa Y, Tanaka Y, Nishio W, Yoshimura M, Okita Y, et al. Overexpression of Necl-5 correlates with unfavorable prognosis in patients with lung adenocarcinoma. *Cancer Sci* 2010; 101(5): 1326-30.
35. Ochiai H, Moore SA, Archer GE, Okamura T, Chewing TA, Marks JR, et al. Treatment of intracerebral neoplasia and neoplastic meningitis with regional delivery of oncolytic recombinant poliovirus. *Clin Cancer Res* 2004; 10(14): 4831-8.
36. Merrill MK, Bernhardt G, Sampson JH, Wikstrand CJ, Bigner DD, Gromeier M. Poliovirus receptor CD155-targeted oncolysis of glioma. *Neuro Oncol* 2004; 6(3): 208-17.
37. Toyoda H, Ido M, Hayashi T, Gabazza EC, Suzuki K, Kisenge RR, et al. Experimental treatment of human neuroblastoma using live-attenuated poliovirus. *Int J Oncol* 2004; 24(1): 49-58.
38. Atsumi S, Matsumine A, Toyoda H, Niimi R, Iino T, Nakamura T, et al. Oncolytic virotherapy for human bone and soft tissue sarcomas using live attenuated poliovirus. *Int J Oncol* 2012; 41(3): 893-902.



## Study of the Transcript and Protein Expression of Poliovirus Receptor (CD155 Protein) on Colorectal Cancer Cell Line

Sareh Zhand<sup>1</sup>, Seyed Masoud Hoseini<sup>2</sup>, Alijan Tabarraei<sup>3</sup>, Mohsen Saeedi<sup>4</sup>, Abdovahab Moradi<sup>5</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Poliovirus receptor (CD155 protein or PVR) expressed on many types of cells and exerts diverse functions. Several studies have demonstrated that changes in CD155 expression in cancer cell lines affect metastasis, proliferation, and migration. The purpose of the present study was to investigate the transcript and protein expression of CD155 in human colon adenocarcinoma cell lines in comparison to normal fetal human colon (FHC) cells.

**Methods:** The CD155 expression levels in a human adenocarcinoma cell line and normal colon cell line were evaluated using the quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) and flow cytometry. All statistical analyses were performed using SPSS software at the statistical significance level of  $P < 0.050$ .

**Findings:** Real-time polymerase chain reaction indicated that CD155 significantly overexpressed in human adenocarcinoma cell line significantly more than normal fetal cells ( $P < 0.001$ ). Flow cytometry showed that protein was strongly expressed in cancer cell line and SW480 cell line showed the highest CD155 protein expression level of 98.0%, whereas this protein expression was 1.3% in human normal colon cell line ( $P < 0.001$ ).

**Conclusion:** Collectively, these data indicate that CD155 expression is frequently elevated in cancer cell line. The preferential expression of CD155 on cancer cell line rather than on normal cell line suggests that CD155 could be targeted for future poliovirus virotherapy.

**Keywords:** CD155 protein, Gene expression, Colorectal cancer, Real-Time polymerase chain reaction, Flow cytometry

**Citation:** Zhand S, Hoseini SM, Tabarraei A, Saeedi M, Moradi A. **Study of the Transcript and Protein Expression of Poliovirus Receptor (CD155 Protein) on Colorectal Cancer Cell Line.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(427): 453-62.

1- PhD Candidate, Department of Microbiology, School of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

3- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

4- Assistant Professor, Stem Cell Research Center AND Department of Immunology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

5- Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

**Corresponding Author:** Abdovahab Moradi, Email: abmoradi@gmail.com

## بررسی مقایسه‌ای تغییرات قلبی - عروقی تجویز دو رژیم دارویی پروپوفول و تیوپنتال سدیم در بیهوشی کودکان تحت الکتروشوک درمانی

بهزاد ناظم رعایا<sup>۱</sup>، سید وحید سید معلمی<sup>۲</sup>، سید علی امامی<sup>۲</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** در طول الکتروشوک‌درمانی (Electroconvulsive therapy یا ECT)، تشنج ایجاد شده توسط تحریک الکتریکی باید از نظر بیهوشی مدیریت شود. در غیر این صورت، الکتروشوک‌درمانی تجربه‌ای ناخوشایند است. در این راستا، داروهای کوتاه اثر متعددی نظیر متوهگزیتال، تیوپنتال، پروپوفول و ... استفاده می‌شوند که تأثیرات همودینامیکی و عوارض متفاوتی را در پی دارند. برخی مطالعات، به تغییرات همودینامیک و عوارض محدودتر در استفاده از پروپوفول اشاره کرده‌اند. هدف از انجام این مطالعه، مقایسه‌ی تغییرات قلبی - عروقی و عوارض داروهای پروپوفول و تیوپنتال سدیم در گروه سنی کودکان تحت درمان با الکتروشوک‌درمانی بود.

**روش‌ها:** مطالعه‌ی حاضر، کارآزمایی بالینی دو سو کور بود که در بیمارستان الزهرای (س) اصفهان انجام گرفت. قبل از انجام الکتروشوک‌درمانی، یک گروه، ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیوپنتال سدیم و گروه دیگر، ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروپوفول دریافت نمودند. سپس، هر دو گروه به میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سوکسینیل کولین دریافت کردند و حداقل ۹۰ ثانیه (۱/۵ دقیقه) بعد، شوک اعمال شد. پس از پایان شوک، ضربان قلب، فشار خون و میزان اشباع اکسیژن در دقایق ۱، ۵ و ۱۰ اندازه‌گیری شد. علاوه بر آن، مدت زمان تشنج، پاسخ کلامی، بازگشت کامل هوشیاری، بازگشت تنفس خود به خودی پس از تشنج، مدت زمان اقامت در ریکاوری و عوارض دارویی نیز بررسی شد.

**یافته‌ها:** مطالعه‌ی حاضر، شامل ۷۰ کودک ۶-۱۸ ساله‌ی تحت درمان با الکتروشوک‌درمانی بود. مدت زمان تشنج القایی ( $P < ۰/۰۰۱$ )، زمان پایان تشنج تا پاسخ کلامی ( $P < ۰/۰۰۱$ ) و زمان برگشت کامل هوشیاری ( $P < ۰/۰۰۱$ ) به طور معنی‌داری در گروه پروپوفول کوتاه‌تر بود. سردرد ( $P = ۰/۰۰۱$ )، تهوع ( $P = ۰/۰۲۰$ ) و درد عضلانی ( $P < ۰/۰۰۱$ ) در گروه پروپوفول بیشتر دیده شد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به یافته‌ها، زمان پاسخ کلامی و هوشیاری کامل بعد از تشنج در القای بیهوشی با پروپوفول سریع‌تر حاصل می‌شود، اما عوارض جانبی در بعضی موارد بیشتر است.

**واژگان کلیدی:** الکتروشوک‌درمانی، پروپوفول، تیوپنتال سدیم

**ارجاع:** ناظم رعایا بهزاد، سید معلمی سید وحید، امامی سید علی. **بررسی مقایسه‌ای تغییرات قلبی - عروقی تجویز دو رژیم دارویی پروپوفول و تیوپنتال سدیم در بیهوشی کودکان تحت الکتروشوک‌درمانی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۲۷): ۴۶۹-۴۶۳

افسردگی اساسی به کار می‌رود و تا مدت ۳۰ سال بدون بیهوشی انجام می‌گرفت (۳).

تأثیر این درمان بر اختلال افسردگی اساسی در افراد مختلف، بسته به مدت زمان تشنجی که ایجاد می‌کند، متفاوت است (۳). کسانی که زمانی کمتر از ۲۰ ثانیه و یا بیش از ۹۰ ثانیه تشنج را تجربه کنند، نتیجه‌ی مطلوبی را از الکتروشوک‌درمانی نخواهند گرفت (۴). بیماران باید قبل از الکتروشوک‌درمانی، داروی بیهوشی دریافت

### مقدمه

الکتروشوک‌درمانی (Electroconvulsive therapy یا ECT)، از درمان‌های معمول برای تعداد زیادی از بیماری‌های روان‌پزشکی است که از جمله‌ی این بیماری‌ها، می‌توان اختلال افسردگی اساسی را نام برد (۱). این درمان، به خصوص در مورد بیماران که از دارودرمانی سود نمی‌برند، سریع‌ترین و مؤثرترین روش درمانی می‌باشد (۲). الکتروشوک‌درمانی، از سال ۱۹۳۰ تا کنون جهت درمان اختلال

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

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

Email: moalemivahid@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: سید وحید سید معلمی

و پروپوفول به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت دو نوع بسته‌ی A و B تهیه شد که بسته‌ی A شامل سوکسینیل کولین و تیوپنتال سدیم و بسته‌ی B شامل سوکسینیل کولین و پروپوفول بود. حداقل ۹۰ ثانیه بعد از تزریق سوکسینیل کولین، الکتروشوک‌درمانی انجام شد. پس از اخذ رضایت آگاهانه از بیماران برای آن‌ها، یک عدد Intravenous line (IV line) تعبیه شد و دستگاه‌هایی مانند ECG) Electerocardiogrphy)، پالس‌اکسی‌متری و اندازه‌گیری فشار خون غیر تهاجمی (None-invasive blood pressure یا NIBP) به مریض متصل گردید و تغییرات آن‌ها قبل، حین و بعد از ECT ثبت گردید و الکترودهای الکتروشوک‌درمانی، به صورت تمپورال دو طرفه به بیمار متصل شد. روش تقسیم بسته‌های دارویی بین بیماران (به منظور تزریق قبل از الکتروشوک‌درمانی) تصادفی ساده بود.

در این مطالعه، شخص تزریق‌کننده داروها و نیز شخص ناظر بر دستگاه‌های مراقبت و پایش بیمار، از محتوای بسته‌ها آگاه نبودند و محتوای بسته‌ها از طریق علایم درج شده بر روی آن‌ها مشخص شد. در ادامه، دندان‌گیر برای بیمار تعبیه گردید تا از گاز گرفتگی زبان جلوگیری شود. سپس، برای آغاز تشنج، به بیمار تحریک الکتریکی داده شد. پس از پایان شوک، ضربان قلب، فشار خون و میزان اشباع اکسیژن در دقایق ۱، ۵ و ۱۰ اندازه‌گیری شد. به علاوه، مدت زمان تشنج، پاسخ کلامی، بازگشت کامل هوشیاری و بازگشت تنفس خود به خودی و مدت زمان اقامت در ریکاوری محاسبه گردید. پس از پایان تشنج، مریض وارد ریکاوری شد. در زمان ریکاوری، آپنه‌ی بعد از الکتروشوک‌درمانی اندازه‌گیری شد. همچنین، وجود و یا عدم وجود مواردی نظیر سرفه، سردرد و لارنگواسپاسم در ریکاوری بررسی گردید.

داده‌های به دست آمده بعد از ورود به رایانه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون‌های آماری مورد استفاده جهت آنالیز داده‌ها شامل آزمون‌های  $t$  و Repeated measures ANOVA بود.  $P < 0/050$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

مطالعه‌ی حاضر بر روی ۷۰ نفر از کودکان ۶-۱۸ ساله که تحت الکتروشوک‌درمانی قرار گرفتند، انجام شد. مشخصات دموگرافیک بیماران به تفکیک دو گروه در جدول ۱ آمده است. میانگین سنی بیماران در گروه تیوپنتال سدیم  $7/09 \pm 16/78$  سال و در گروه پروپوفول  $4/38 \pm 16/96$  سال بود و به ترتیب، ۳۶ درصد و ۳۱ درصد بیماران دو گروه، مذکر بودند. بیماران دو گروه از لحاظ سن، جنس و وزن تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۱).

کنند تا از تجربه‌ی ناخوشایند القای تشنج پیش‌گیری شود (۵). داروهای بیهوشی مورد استفاده در الکتروشوک‌درمانی، باید به گونه‌ای انتخاب شوند که به طور سریع، کاهش هوشیاری ایجاد کنند، تأثیر محرک‌های الکتریکی در همودینامیک بیمار را به حداقل برسانند، از حرکت واکنشی شدید در اثر تحریک الکتریکی جلوگیری کنند، حداقل تداخل با تشنج را داشته و بازگشت سریع تنفس خود به خودی و هوشیاری را در پی داشته باشند (۶).

داروهای کوتاه اثر متعددی در این زمینه به کار رفته است که از جمله شایع‌ترین آن‌ها، می‌توان به متوهگزیتال و تیوپنتال سدیم و نیز پروپوفول اشاره کرد که به علت تأثیر کم بر همودینامیک و البته بازگشت سریع سطح هوشیاری، استفاده می‌گردد. این دارو، همچنین در پیش‌گیری از لارنگواسپاسم و سرفه‌ی بعد از اکستوباسیون نیز مفید است (۷-۹).

در حال حاضر، رایج‌ترین داروی بیهوشی در الکتروشوک‌درمانی که در ایران کاربرد دارد، تیوپنتال سدیم می‌باشد. مطالعات انجام شده، حاکی از آن است که استفاده از پروپوفول طول مدت تشنج را بدون تغییر در نتایج بالینی حاصل از درمان کاهش می‌دهد (۸) و همچنین، پایداری همودینامیک و بازگشت هوشیاری سریع‌تری دارد (۱۰).

با توجه به موارد پیش‌گفته و همچنین، مطالعات محدودی که در زمینه‌ی مقایسه‌ی رژیم‌های درمانی در الکتروشوک‌درمانی کودکان انجام شده بود، این مطالعه، با هدف بررسی مقایسه‌ای دو داروی تیوپنتال سدیم و پروپوفول در الکتروشوک‌درمانی کودکان در مرکز پزشکی تخصصی و فوق تخصصی الزهراء (س) اصفهان انجام شد.

### روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی دو سو کور است که در مرکز پزشکی تخصصی و فوق تخصصی الزهراء (س) اصفهان در سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ انجام گرفت. این طرح توسط کمیته‌ی اخلاق پژوهش‌های دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب شد. فرم رضایت به همراه توضیح نحوه‌ی انجام طرح به صورت کامل در اختیار بیماران قرار گرفت. کلیه‌ی بیماران بستری در بیمارستان الزهراء (س) در سنین ۶-۱۸ سال که درجه‌ی II (ASA) American Society of Anesthesiologists داشتند و کاندیدای دریافت الکتروشوک‌درمانی بودند، وارد این مطالعه شدند. معیارهای خروج از مطالعه عبارت از تشنج بیشتر از ۹۰ ثانیه و زیر ۲۰ ثانیه، نیاز به ایتوباسیون، بروز ایست قلبی و آلرژی شدید بیمار بودند. قبل از انجام الکتروشوک‌درمانی، سه داروی سوکسینیل کولین به میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تیوپنتال سدیم ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم



تغییرات همودینامیک و قلبی- عروقی شامل فشار خون سیستول، دیاستول و متوسط فشار خون شریانی، تعداد ضربان قلب و همچنین، میزان اشباع اکسیژن دو گروه پس از تزریق دارو و در ادامه در دقایق ۱، ۵ و ۱۰ پس از اتمام تشنج در جدول ۲ و شکل‌های ۱ و ۲ آمده است.

جدول ۱. مشخصات دموگرافیک افراد شرکت کننده به تفکیک گروه‌های

## مورد مطالعه

متغیر	گروه سدیم تیوپنتال	گروه پروپوفول	مقدار P
سن (سال)	۱۶/۷۸ ± ۷/۰۹	۱۶/۹۶ ± ۴/۳۸	۰/۸۹۰
جنس (مذکر/مؤنث)	۲۴/۱۴	۲۲/۱۰	۰/۸۱۰
وزن (کیلوگرم)	۶۲/۳۳ ± ۱۵/۲۱	۶۰/۳۳ ± ۱۱/۴۰	۰/۵۴۰

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، فشار خون بیماران دو گروه پس از تزریق ماده‌ی بیهوشی و قبل از القای تشنج و همچنین،

حین تشنج تفاوت معنی‌داری نداشت، اما پس از گذشت ۱ دقیقه از اتمام تشنج، فشار خون سیستول، دیاستول و متوسط شریانی در گروه تیوپنتال سدیم و در زمان‌های ۵ و ۱۰ دقیقه پس از اتمام تشنج در گروه پروپوفول بالاتر بود، اما ضربان قلب پس از تزریق دارو و قبل از القای تشنج و همچنین، یک دقیقه پس از آن در گروه تیوپنتال سدیم به صورت معنی‌داری بالاتر گزارش شد. در حالی که پس از ۵ دقیقه، میانگین ضربان قلب در گروه پروپوفول، به صورت معنی‌داری بالاتر بود. میزان اشباع اکسیژن در تمامی زمان‌ها در گروه تیوپنتال سدیم، به صورت معنی‌داری بیشتر بود.

میانگین مدت زمان تشنج، مدت زمان پایان تشنج تا پاسخ کلامی، طول مدت زمان برگشت تنفس خود به خودی از زمان قطع تشنج، مدت زمان برگشت تنفس خود به خودی، مدت زمان پایان تشنج تا هوشیاری کامل و مدت زمان اقامت در ریکاور در جدول ۳ آمده است.

جدول ۲. تغییرات قلبی- عروقی و همودینامیک بیماران بعد از تزریق رژیم‌های دارویی و همچنین ۱، ۵ و ۱۰ دقیقه پس از تشنج

متغیر	گروه	گروه تیوپنتال سدیم	گروه پروپوفول	مقدار P
فشار خون (میلی‌متر جیوه)	بعد از تزریق دارو و قبل از القای تشنج	سیستول	۱۲۳/۹۱ ± ۱۳/۹۸	۱۲۰/۳۴ ± ۱۰/۸۷
		دیاستول	۷۸/۰۲ ± ۱۳/۶۲	۷۹/۶۵ ± ۷/۷۵
		متوسط شریانی	۹۴/۰۰ ± ۱۱/۹۲	۹۳/۲۱ ± ۸/۲۱
	حین تشنج	سیستول	۱۴۴/۷۸ ± ۸۴/۲۵	۱۳۸/۴۵ ± ۱۶/۲۵
		دیاستول	۹۲/۰۲ ± ۱۹/۲۲	۸۵/۲۰ ± ۸/۴۰
		متوسط شریانی	۱۰۹/۶۱ ± ۲۰/۰۳	۱۰۲/۹۵ ± ۹/۴۱
	۱ دقیقه پس از تشنج	سیستول	۱۴۲/۵۰ ± ۲۵/۹۷	۱۳۷/۶۵ ± ۱۴/۸۵
		دیاستول	۹۴/۵۵ ± ۱۸/۹۳	۸۵/۰۹ ± ۷/۴۲
		متوسط شریانی	۱۱۰/۵۳ ± ۱۷/۷۹	۱۰۲/۶۱ ± ۸/۵۰
	۵ دقیقه پس از تشنج	سیستول	۱۳۸/۸۴ ± ۱۷/۲۷	۱۵۹/۶۲ ± ۱۴/۹۸
		دیاستول	۸۹/۶۳ ± ۲۱/۶۸	۹۳/۰۳ ± ۸/۵۰
		متوسط شریانی	۱۰۶/۰۳ ± ۱۷/۰۸	۱۱۵/۲۲ ± ۸/۵۹
	۱۰ دقیقه پس از تشنج	سیستول	۱۲۱/۷۰ ± ۱۳/۳۶	۱۳۰/۰۶ ± ۱۱/۰۸
		دیاستول	۷۸/۹۴ ± ۱۷/۳۴	۸۳/۹۶ ± ۵/۷۶
		متوسط شریانی	۹۳/۳۴ ± ۱۳/۲۷	۹۹/۳۳ ± ۶/۵۰
ضربان قلب (تعداد در دقیقه)	بعد از تزریق دارو و قبل از القای تشنج		۱۰۰/۲۲ ± ۲۰/۷۶	۷۴/۸۷ ± ۱۰/۶۸
		۱ دقیقه پس از تشنج	۱۰۴/۵۰ ± ۲۲/۲۳	۹۴/۶۵ ± ۱۶/۸۵
		۵ دقیقه پس از تشنج	۱۱۴/۶۳ ± ۱۶/۴۲	۱۳۱/۶۲ ± ۲۳/۶۶
	۱۰ دقیقه پس از تشنج		۱۰۴/۰۵ ± ۱۵/۲۳	۱۰۵/۲۸ ± ۱۶/۹۰
		بعد از تزریق دارو و قبل از القای تشنج	۹۷/۲۶ ± ۱۸/۸۴	۹۶/۰۰ ± ۰/۷۶
		۱ دقیقه پس از تشنج	۹۴/۴۸ ± ۴/۹۰	۹۱/۵۳ ± ۲/۴۷
میزان اشباع اکسیژن (درصد)	بعد از تزریق دارو و قبل از القای تشنج		۹۳/۸۶ ± ۴/۹۴	۸۶/۹۰ ± ۲/۸۲
		۵ دقیقه پس از تشنج		
		۱۰ دقیقه پس از تشنج	۹۷/۲۹ ± ۲/۲۲	۹۵/۵۰ ± ۱/۲۴

جدول ۳. مقایسه‌ی میانگین مدت زمان تشنج، پاسخ کلامی، تنفس خود به خودی، هوشیاری کامل و مدت زمان اقامت در ریکاوری پس از القای تشنج در دو گروه

متغیر	گروه تیوپنتال سدیم	گروه پروپوفول	مقدار P
طول مدت زمان تشنج القایی (ثانیه)	۳۵/۷۹ ± ۱۰/۷۶	۲۶/۵۳ ± ۴/۲۵	< ۰/۰۰۱
طول مدت زمان پایان تشنج تا پاسخ کلامی (دقیقه)	۱۲/۹۴ ± ۸/۱۳	۱۲/۵۰ ± ۲/۹۸	< ۰/۰۰۱
طول مدت زمان برگشت تنفس خودبه‌خودی از زمان قطع تشنج (دقیقه)	۷۰/۵۹ ± ۱۵/۹۳	۷۷/۸۴ ± ۱۱/۰۳	۰/۲۰۰
طول مدت زمان پایان تشنج تا هوشیاری کامل (دقیقه)	۳۱/۸۰ ± ۱۰/۹۰	۲۶/۶۷ ± ۱۲/۵۴	< ۰/۰۰۱
طول مدت زمان اقامت در ریکاوری (دقیقه)	۳۹/۳۱ ± ۸/۶۸	۴۲/۵۹ ± ۵/۹۲	۰/۰۷۰

جدول ۴ به مقایسه‌ی عوارض پس از القای تشنج و مقایسه‌ی آن بین دو گروه پرداخته است. ملاحظه می‌شود که سردرد ( $P = ۰/۰۰۱$ )، تهوع ( $P = ۰/۰۲۰$ ) و درد عضلانی ( $P < ۰/۰۰۱$ ) نیز در گروه پروپوفول بیشتر دیده شد.

جدول ۴. بررسی عوارض دارویی پس از تزریق دارو و اتمام تشنج در دو گروه

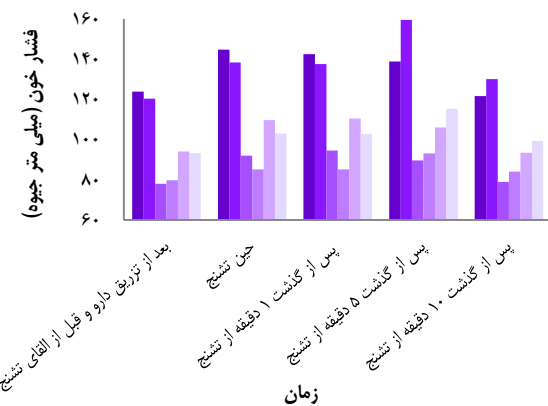
متغیر	گروه تیوپنتال سدیم	گروه پروپوفول	مقدار P
سرفه (دارد)	۴ (۱۰/۵)	۳ (۱۰/۳)	۰/۹۸۰
سردرد (دارد)	۱ (۲/۶)	۱۰ (۳۳/۳)	۰/۰۰۱
لارنگواسپاسم (دارد)	۱ (۲/۶)	۲ (۶/۲)	۰/۴۰۰
تهوع (دارد)	۲ (۵/۲)	۷ (۲۱/۸)	۰/۰۲۰
درد عضلانی (دارد)	۰ (۰)	۱۶ (۵۰/۰)	< ۰/۰۰۱

## بحث

الکتروشوک‌درمانی، یکی از درمان‌های رایج در علم روان‌پزشکی است. داروی بیهوشی مورد استفاده برای ECT از جهت مدت زمان اثر، مدت زمان شروع بیهوشی پس از تزریق، مدت زمان به دست آمدن هوشیاری کامل و عوارض دارویی، اهمیت دارد و نوع ماده‌ی دارویی مورد بحث است. در این مطالعه، مقایسه‌ای بین تغییرات قلبی- عروقی و عوارض دو داروی تیوپنتال سدیم و پروپوفول در گروه سنی کودکان انجام شد که با توجه به دانسته‌های پژوهشگران، مطالعه‌ی مشابهی در این گروه سنی انجام نشده بود.

در مطالعه‌ی حاضر، فشار خون بیماران دو گروه پس از تزریق ماده‌ی بیهوشی و قبل از القای تشنج و همچنین، حین تشنج تفاوت معنی‌داری نداشت، اما پس از گذشت ۱ دقیقه از اتمام تشنج، فشار خون سیستول، دیاستول و متوسط شریانی در گروه تیوپنتال سدیم و در زمان‌های ۵ و ۱۰ دقیقه پس از اتمام تشنج در گروه پروپوفول بالاتر بود، اما ضربان قلب پس از تزریق دارو و قبل از القای تشنج و همچنین، یک دقیقه پس از آن در گروه تیوپنتال سدیم به صورت معنی‌داری بالاتر گزارش شد. در حالی که پس از ۵ دقیقه، میانگین

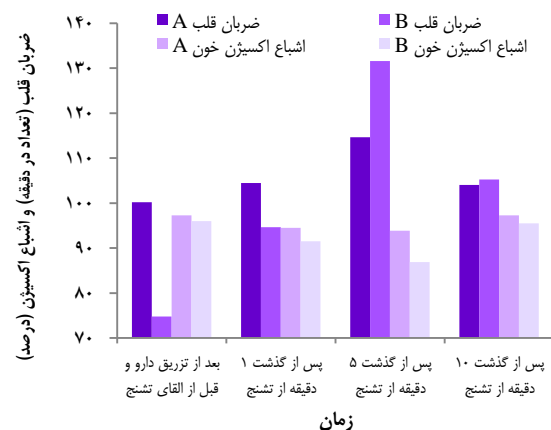
فشار خون دیاستولی A فشار خون سیستولی B فشار خون دیاستولی A فشار متوسط شریانی B فشار متوسط شریانی A فشار خون سیستولی B فشار خون سیستولی A فشار متوسط شریانی B فشار متوسط شریانی



شکل ۱. مقایسه‌ی میانگین فشار خون در زمان‌های مختلف پس از تزریق دارو و القای تشنج در دو گروه

A = گروه دریافت‌کننده‌ی تیوپنتال سدیم و B = گروه دریافت‌کننده‌ی پروپوفول

مدت زمان تشنج القایی ( $P < ۰/۰۰۱$ )، زمان پایان تشنج تا پاسخ زمانی ( $P < ۰/۰۰۱$ ) و زمان برگشت کامل هوشیاری از پایان تشنج ( $P < ۰/۰۰۱$ ) به صورت معنی‌داری در گروه پروپوفول کوتاه‌تر بود.



شکل ۲. مقایسه‌ی میانگین ضربان قلب و میزان اشباع اکسیژن در زمان‌های مختلف پس از تزریق دارو و القای تشنج در دو گروه

A = گروه دریافت‌کننده‌ی تیوپنتال سدیم و B = گروه دریافت‌کننده‌ی پروپوفول

بیهوش کننده است. در تحقیقات Rasimas و همکاران (۱۶) و نیز Butterfield و همکاران (۱۷) مشابه مطالعه‌ی حاضر، مدت زمان کوتاه‌تری را جهت بازگشت هوشیاری در پروپوفول بیان کرده‌اند. در حالی که در مطالعات Bauer و همکاران (۸)، Ingram و همکاران (۱۸) عکس این نتیجه به دست آمده است.

در مجموع، به غیر از افزایش غیر معنی‌دار سرفه در گروه تیوپنتال سدیم، سایر عوارض شامل سردرد، لارنگواسپاسم، تهوع و درد عضلانی در گروه پروپوفول بیشتر بود. در مطالعه‌ی اخوان‌اکبری و همکاران، بر خلاف یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، تهوع و استفراغ در گروه تیوپنتال سدیم بیشتر دیده شد که البته از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (۱۹). در مطالعه‌ی Martinez-Amoros و همکاران، سردرد در گروه پروپوفول بیشتر دیده شد که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود؛ یافته‌ای که به صورت معنی‌داری در مطالعه‌ی حاضر بیشتر دیده شد (۲۰).

از محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر، تعداد کم نمونه‌ی مورد مطالعه می‌باشد. از این رو، بررسی و مقایسه‌ی تأثیر و همچنین، عوارض این داروها در جامعه‌ی آماری بزرگ‌تری ضروری می‌نماید. همچنین، پیشنهاد می‌شود با توجه به این که الکتروشوک درمانی به طور معمول در چندین جلسه تکرار می‌شود، اثرات رژیم‌های دارویی پس از گذشت اولین جلسه و همچنین، سنجش مدت زمان تشنج ظاهری و واقعی مورد تأیید الکتروانسفالوگرافی، بررسی گردد.

به عنوان نتیجه‌گیری نهایی چنین استنباط می‌شود که با توجه به مطالعه‌ی حاضر، شاخص‌های قلبی- عروقی پس از گذشت ۱ دقیقه از اتمام تشنج، در تزریق تیوپنتال سدیم بیشتر بود، اما در دقایق ۵ و ۱۰ پس از تشنج در گروه پروپوفول به صورت معنی‌داری بالاتر بوده است. همچنین، پاسخ کلامی و هوشیاری کامل بعد از تشنج در اثر مصرف پروپوفول سریع‌تر حاصل می‌شود. از این رو، تصمیم‌گیری نهایی در مورد به کارگیری این دو دارو برای هر بیمار، با توجه به شرایط بالینی وی و همچنین، قضاوت بالینی پزشک متخصص بیهوشی می‌باشد. با توجه به افت واضح میزان اشباع اکسیژن ۵ دقیقه پس از اتمام تشنج در مورد بیماران تحت بیهوشی با پروپوفول، پیشنهاد می‌شود بیماران پس از دریافت این دارو، تحت پره‌اکسیژناسیون و در ادامه، مراقبت و پایش دقیق قرار گیرند تا از بروز عوارض احتمالی و ناخواسته‌ی ناشی از آن جلوگیری شود.

### تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر حاصل پایان‌نامه‌ی دانشجویی دکتری حرفه‌ای پزشکی عمومی است که با شماره‌ی ۳۹۳۹۲۸ در حوزه‌ی معاونت پژوهشی

ضربان قلب در گروه پروپوفول، به صورت معنی‌داری بالاتر بود. میزان اشباع اکسیژن در تمامی زمان‌ها در گروه تیوپنتال سدیم، به صورت معنی‌داری بیشتر بود. تنها در مورد گروه پروپوفول و پس از گذشت ۵ دقیقه از اتمام تشنج، میزان اشباع اکسیژن خون به زیر ۹۰ درصد کاهش یافت.

طبق مطالعه‌ی Kumar و همکاران که تغییرات علائم حیاتی را در دو گروه بالا بررسی کرده بودند، افزایش فشار خون و ضربان قلب در گروه دریافت کننده‌ی تیوپنتال سدیم به صورت معنی‌داری بیشتر بوده است؛ در حالی که این تغییرات، در ارتباط با میزان اشباع اکسیژن به صورت کاهش معنی‌دار در گروه پروپوفول دیده شد (۶).

در مطالعه‌ی جاری نشین و همکاران، میانگین فشار خون سیستول و دیاستول و ضربان قلب، بلافاصله پس از تشنج، ۳ و ۵ دقیقه پس از تزریق دارو، به طور معنی‌داری در گروه دریافت کننده‌ی تیوپنتال سدیم بالاتر گزارش شد، اما تفاوتی در میزان اشباع اکسیژن دو گروه در هیچ یک از زمان‌ها دیده نشد (۱۱).

Yazici و همکاران نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند و تغییرات همودینامیک کمتری را در گروه دریافت کننده‌ی پروپوفول مشاهده نمودند (۱۲). در مطالعه‌ی دیگری نیز پروپوفول در مقایسه با دیگر عوامل هوشبر با تغییرات بیشتر همودینامیک در طی بیهوشی همراه است (۱۳) که این تفاوت میان یافته‌ها، می‌تواند ناشی از اختلاف گروه‌های سنی مورد بررسی در مطالعه‌ی حاضر و مطالعات پیش گفته باشد.

در مطالعه‌ی حاضر، طول زمان تشنج القایی، زمان پایان تشنج تا پاسخ کلامی و تا هوشیاری کامل به صورت معنی‌داری در گروه پروپوفول کمتر بود. این در حالی است که زمان کوتاه‌تری برای برگشت تنفس خود به خودی و همچنین، مدت اقامت در اتاق ریکاوری در گروه تیوپنتال سدیم یافت شد؛ اگر چه از لحاظ آماری، این تفاوت معنی‌دار نبود. نتایج مشابهی از لحاظ طول مدت تشنج در مطالعه‌ی دیگری به دست آمد (۱۱).

در مطالعه‌ی ایمان طلب و حقیقی، مدت زمان تشنج، باز کردن چشم با صدا کردن و نشست بدن کمک، در گروه تیوپنتال سدیم به طور معنی‌داری بیش از گروه پروپوفول گزارش شد، اما ترخیص از ریکاوری و بازگشت تنفس در گروه پروپوفول کوتاه‌تر بود که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مغایرت دارد (۱۴). در مطالعه‌ی Lihua و همکاران، تفاوت معنی‌داری در مدت زمان تشنج القایی دیده نشد، اما مدت زمان لازم برای انتقال به ریکاوری در دریافت کنندگان تیوپنتال سدیم طولانی‌تر بود (۱۵).

از نکات قابل توجه که در مطالعات مختلف مورد اختلاف نظر است، اختلال هوشیاری می‌باشد که در اثر استفاده از این دو ماده‌ی

کودکان و نوجوانان بیمارستان الزهراء (س) اصفهان و جناب آقای دکتر عظیم هنرمند معاون محترم پژوهشی گروه بیهوشی که در اجرای این مطالعه همراهی نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب شده و با حمایت‌های ایشان به انجام رسیده است. همچنین، از پزشکان، پرستاران و کارکنان واحد الکتروشوک‌درمانی بخش روان‌پزشکی

## References

- Rosa MA, Rosa MO, Belegarde IM, Bueno CR, Fregni F. Recovery after ECT: comparison of propofol, etomidate and thiopental. *Rev Bras Psiquiatr* 2008; 30(2): 149-51.
- Kheirabadi GR, Vafaei M, Attari A. Intravenous ketamine therapy vs. electroconvulsive therapy in depressive cases. *J Isfahan Med Sch* 2012; 29(163): 1289-97. [In Persian].
- Ding Z, White PF. Anesthesia for electroconvulsive therapy. *Anesth Analg* 2002; 94(5): 1351-64.
- Geretsegger C, Nickel M, Judendorfer B, Rochowanski E, Novak E, Aichhorn W. Propofol and methohexital as anesthetic agents for electroconvulsive therapy: a randomized, double-blind comparison of electroconvulsive therapy seizure quality, therapeutic efficacy, and cognitive performance. *J ECT* 2007; 23(4): 239-43.
- Miner JR, Burton JH. Clinical practice advisory: Emergency department procedural sedation with propofol. *Ann Emerg Med* 2007; 50(2): 182-7, 187.
- Kumar A, Sharma DK, Mani R. A comparison of propofol and thiopentone for electroconvulsive therapy. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2012; 28(3): 353-7.
- Dew RE, Kimball JN, Rosenquist PB, McCall WV. Seizure length and clinical outcome in electroconvulsive therapy using methohexital or thiopental. *J ECT* 2005; 21(1): 16-8.
- Bauer J, Hageman I, Dam H, Baez A, Bolwig T, Roed J, et al. Comparison of propofol and thiopental as anesthetic agents for electroconvulsive therapy: a randomized, blinded comparison of seizure duration, stimulus charge, clinical effect, and cognitive side effects. *J ECT* 2009; 25(2): 85-90.
- Honarmand A, Khazaei M, Safavi-Homami M. Comparing the effects of low doses of propofol, ketamine and combination of propofol-ketamine in prevention of post-extubation coughing and laryngospasm. *J Isfahan Med Sch* 2014; 32(297): 1299-309. [In Persian].
- Fredman B, d'Etienne J, Smith I, Husain MM, White PF. Anesthesia for electroconvulsive therapy: effects of propofol and methohexital on seizure activity and recovery. *Anesth Analg* 1994; 79(1): 75-9.
- Jarineshin H, Kashani S, Fekrat F, Vatankeh M, Golmirzaei J, Alimolaei E, et al. Seizure Duration and Hemodynamic State During Electroconvulsive Therapy: Sodium Thiopental Versus Propofol. *Glob J Health Sci* 2015; 8(2): 126-31.
- Yazici E, Bosgelmez S, Tas HI, Karabulut U, Yazici AB, Yildiz M, et al. Comparing ECT data of two different inpatient clinics: propofol or thiopental? *Int J Psychiatry Clin Pract* 2013; 17(4): 307-12.
- Naghbi K, Moradi Farsani D, Ali Kiaei B, Hirmanpour A. Comparing the effect of intravenous and inhalational anesthetics on hemodynamic changes in deep vitrectomy surgery. *J Arak Univ Med Sci* 2016; 19(2): 80-8. [In Persian].
- Imantalab V, Haghghi M. Effect of hemodynamic propofol and thiopental sodium and during electroconvulsive therapy. *J Guilan Univ Med Sci* 2006; 15(57): 59-64. [In Persian].
- Lihua P, Su M, Ke W, Ziemann-Gimmel P. Different regimens of intravenous sedatives or hypnotics for electroconvulsive therapy (ECT) in adult patients with depression. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; (4): CD009763.
- Rasimas JJ, Stevens SR, Rasmussen KG. Seizure length in electroconvulsive therapy as a function of age, sex, and treatment number. *J ECT* 2007; 23(1): 14-6.
- Butterfield NN, Graf P, Macleod BA, Ries CR, Zis AP. Propofol reduces cognitive impairment after electroconvulsive therapy. *J ECT* 2004; 20(1): 3-9.
- Ingram A, Schweitzer I, Ng CH, Saling MM, Savage G. A comparison of propofol and thiopentone use in electroconvulsive therapy: cognitive and efficacy effects. *J ECT* 2007; 23(3): 158-62.
- Akhvan Akbari P, Molavi P, Akhvan Akbari G, Ghodrati MR. Comparing the effects of propofol and sodium thiopental in the induction of anesthesia for electro convulsive therapy (ECT). *J Ardabil Univ Med Sci* 2009; 9(3): 249-55. [In Persian].
- Martinez-Amoros E, Galvez Ortiz V, Porter Moli M, Llorens Capdevila M, Cerrillo Albaiges E, Garcia-Pares G, et al. Propofol and thiopental as anesthetic agents in electroconvulsive therapy: a retrospective study in major depression. *Rev Psiquiatr Salud Ment* 2014; 7(1): 42-7.

## Comparison of Cardiovascular Effects of Propofol versus Sodium Thiopental Anesthesia in Children Undergoing Electroconvulsive Therapy (ECT)

Behzad Nazemoroaya<sup>1</sup>, Sayedvahid Sayedmoalemi<sup>2</sup>, Sayed Ali Emami<sup>2</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Seizures caused by electrical stimulation during electroconvulsive therapy (ECT) should be managed; otherwise, electroconvulsive therapy can be an unpleasant experience. Therefore, sedative short-acting drugs like sodium thiopental, propofol, methohexital, etc. can be used with different hemodynamic changes and adverse effects. Some studies showed that propofol was associated with less complication and hemodynamic changes. The aim of this study was to compare cardiovascular effects and complications of propofol and sodium thiopental in pediatric age group treated with electroconvulsive therapy.

**Methods:** This census double-blind clinical trial study was conducted in Alzahra hospital affiliated to Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. Before electroconvulsive therapy, one group received 2 mg/kg sodium thiopental and the other one 1 mg/kg propofol; then, both groups received 0.5 mg/kg succinylcholine and electroconvulsive therapy was done at least 90 second (1.5 minutes) after that. Heart rate, blood pressure and O<sub>2</sub> saturation were measured at 1, 5 and 10 minutes after the seizure. Duration of seizure, language response, return to full consciousness, spontaneous breathing after seizure, and recovery time were measured and also drug adverse effect were assessed as well.

**Findings:** This study was conducted on 70 children aged 6-18 years treated with electroconvulsive therapy. Seizure induction time ( $P < 0.001$ ), language response time after seizure ( $P < 0.001$ ) and return to full consciousness ( $P < 0.001$ ) were significantly shorter in patients received propofol. Headache ( $P = 0.001$ ), nausea ( $P = 0.020$ ) and myalgia ( $P < 0.001$ ) were observed more commonly in group received propofol.

**Conclusion:** According to this study, verbal response time and return to full consciousness following seizure caused by propofol were achieved faster; but the drug caused more adverse effects.

**Keywords:** Electroconvulsive therapy, Propofol, Thiopental sodium

**Citation:** Nazemoroaya B, Sayedmoalemi S, Emami SA. Comparison of Cardiovascular Effects of Propofol versus Sodium Thiopental Anesthesia in Children Undergoing Electroconvulsive Therapy (ECT). J Isfahan Med Sch 2017; 35(427): 463-9.

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

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

**Corresponding Author:** Sayedvahid Sayedmoalemi, Email: moalemivahid@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. 427, 3<sup>rd</sup> Week June 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](mailto: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](mailto: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](mailto: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](http://www.sid.ir))
- [www.iranmedex.com](http://www.iranmedex.com)

---

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

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