

مقاله های پژوهشی

- ۶۷۶ اپیدمیولوژی و تابلوی بالینی لیشمانیوز جلدی در شهر بادرود سال ۱۳۹۲
 دکتر منصوره مؤمن هروری، دکتر حسن افزالی، دکتر حسنعلی احمدی، مریم صبوری کاشانی
- ۶۸۵ بررسی اثر مهار کننده‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی پوست انار سیاه بر روی تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال از طریق گیرنده‌های PPAR- α و PPAR- γ در موش‌های C57BL/6
 دکتر سیما سیف‌آبادی، لاله رفیعی، هاجر ناجی اصفهانی، دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد
- ۶۹۴ بررسی فعالیت کاسپاز ۳، سطح سرمی گلوکوتائون و آهن در بیماران مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو
 هدی رشیدیان، دکتر کهن شاهانی‌پور
- ۷۰۳ اثر تجویز هم‌زمان عامل محرک کلونی گرانولوسیت و اینترفرون آلفا بر پوکی استخوان
 دکتر رویا لاری، سیما جهانبخشی، الهه محمدی، دکتر علی میرشاهی، دکتر ناصر مهدوی شهری، دکتر علی مقیمی

مقاله باز آموزی

- ۷۱۴ مدیریت تغذیه‌ای بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD): مقاله‌ی باز آموزی
 سپیده محبوبی، دکتر رضا روزبهانی

Original Articles

- Epidemiology and Clinical Features of Cutaneous Leishmaniasis in Badrood City, Iran, in 2013 684
 Mansooreh Momen-Heravi MD, Hasan Afzali MD, Hasanali Ahmadi MD, Maryam Saboori-Kashani
- The Inhibitory Effect of Hydroalcoholic Extract of Black Punica Granatum Pericarp on the Number of Endothelial Progenitor Cells (EPCs) in Melanoma through Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α and γ (PPAR- α and γ) Pathways in C57BL/6 Mice 693
 Sima Seifabadi PharmD, Laleh Rafiee MSc, Hajar Najji-Esfahani MSc, Shaghayegh Haghjooy-Javanmard MD, PhD
- Investigating the Serum Levels of Glutathione and Iron and the Activity of Caspase 3 in Patients with Hashimoto's Thyroiditis 702
 Hoda Rashidian, Kahin Shahanipour PhD
- The Effects of Simultaneous Administration of Granulocyte Colony-Stimulating Factor and Interferon-alpha on Osteoporosis 713
 Roya Lari PhD, Sima Jahan-Bakhshi, Elaheh Mohammadian, Ali Mirshahi PhD, Nasser Mahdavi-Shahri PhD, Ali Moghimi PhD

Continuous Medical Education

- Nutritional Management in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) 721
 Sepideh Mahboobi, Reza Rouzbahani



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و سوم، شماره (۳۳۴)، بهمن و دوم تیر ۱۳۹۴

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

E-mail: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مسئول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

E-mail: jims@med.mui.ac.ir

<http://www.journals.mui.ac.ir/jims>

وب سایت مجله:

امور نشر:

(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)

شرکت فرزانتگان راداندیش

اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵

تلفن و دورنگار: ۰۳۱-۳۶۶۸۶۳۰۲

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

- ۱- **اهداف و چشم انداز:** مجله دانشکده پزشکی اصفهان به صورت هفته‌نامه و تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد.
- ۲- این مجله مقالات اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را منتشر می‌نماید و همچنین فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین را بر روی وب سایت مجله قرار می‌دهد.
- ۳- **پذیرش دست‌نوشته:** پذیرش دست‌نوشته‌ها و پیگیری‌های بعدی در این مجله فقط از طریق وب سایت اختصاصی آن به آدرس <http://www.journals.mui.ac.ir/jims> و پس از ثبت نام (Registration) در آن ممکن می‌باشد. همراه دست‌نوشته باید یک نامه تایپ شده (Covering letter) به سردبیر، شامل عنوان و اسامی نویسنده یا نویسندگان و اعلام این که این دست‌نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است و یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد، ارسال گردد.
- ۴- دست‌نوشته باید توسط نرم‌افزار MS Word در سایز A4 و فاصله خطوط دو برابر (Double Spaced) با حاشیه‌های ۲/۵ سانتی‌متری تهیه شوند. جداول بدون حاشیه خارجی و تصاویر در فرمت GIF و JPEG و در تعداد محدود باشند. ارسال مدارک با فرمت PDF به هیچ عنوان پذیرفته نیست.
- ۵- دست‌نوشته باید شامل صفحه عنوان، چکیده، مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع باشد. **صفحه عنوان:** این صفحه باید شامل عنوان کامل، عنوان مکرری، اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان و همچنین آدرس، تلفن، فاکس و پست الکترونیکی نویسنده مسؤول باشد. ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی در این صفحه ضروری است.
- ۶- **چکیده:** تمام مقالات اصلی باید دارای چکیده مقاله به دو زبان فارسی و انگلیسی با حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد. چکیده باید شامل بخش‌های سابقه علمی موضوع، روش‌ها، یافته‌ها و بحث باشد. در پایان چکیده مقاله ۳-۵ کلمه کلیدی قرار می‌گیرد که تنها با استفاده از راهنمای MESH در آدرس (<http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>) استخراج گردند.
- ۷- **مقدمه و معرفی:** در این بخش اهداف و علل انجام مطالعه آورده می‌شود؛ بنابراین نیازی به ارائه گسترده مطالب موجود در متون علمی نیست. در این بخش باید از ارائه اطلاعات، یافته‌های و نتایج مطالعه خودداری گردد.
- ۸- **روش‌ها:** این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط منبع آن ذکر گردد اما اگر روشی نوین است، باید به صورتی توضیح داده شود که برای سایر محققان قابل درک و به طور عینی قابل انجام و تکرار باشد. در صورت استفاده از دستگاه و تجهیزات خاص باید نام، نام کارخانه سازنده و آدرس آن در پرانتز ذکر گردد. اگر از دارو در مطالعه استفاده شده است باید نام ژنریک، دوز و روش مصرف آن آورده شود. در مورد افراد و بیماران تحت مطالعه باید جنس و سن (همراه انحراف معیار) آورده شود. در مورد نرم‌افزارها و سیستم‌های کامپیوتری باید سال و ویرایش آن در پرانتز و پس از نام آن ذکر گردد. در صورتی که مطالعه دارای پرسش‌نامه یا چک لیست است، ضمیمه کردن آن لازم است؛ در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.
- ۹- **یافته‌ها:** این بخش به صورت متن همراه با جدول‌ها، شکل‌ها و نمودارها ارائه می‌گردد. محتوای جداول نباید به صورت کامل در متن ارائه شوند، بلکه کافی است با ذکر شماره جدول، شکل و یا نمودار به آنها اشاره شود. جدول‌ها، نمودارها و شکل‌ها هر کدام باید در یک صفحه جداگانه و پس از منابع، در پایان دست‌نوشته آورده شوند. در این بخش فقط یافته‌ها ارائه می‌شود و باید از ذکر دلایل و استدلال‌های مرتبط با آن خودداری گردد.
- ۱۰- **بحث:** در این بخش در ابتدا به یافته‌های مهم اساسی مطالعه و سپس تشابه و تفاوت‌های آن با یافته‌های سایر پژوهشگران در مطالعات مشابه اشاره می‌گردد. ذکر جزئیات کامل یافته‌ها در این بخش لازم نیست. تأکید بر یافته‌های جدید و با اهمیت مطالعه حاضر و دستاوردهای آن در این قسمت ضروری است. ذکر این که فرضیه ارائه شده در مطالعه صحیح یا نادرست بوده، یا این که دلایل کافی برای رد یا قبول آن به دست نیامده است، ضروری می‌باشد. هدف این بخش، ذکر دلیل اصلی انجام تحقیق، تحلیل و تفسیر یافته‌ها و همچنین نتیجه‌گیری کلی (Conclusion) است.

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

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

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

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

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

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

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

- ۱۹- **ملاحظات اخلاقی:** این ملاحظات باید در بخش روش‌ها اشاره گردند. اخذ رضایت‌نامه از کلیه‌ی افراد بالغ شرکت‌کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأییدکننده‌ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.
- ۲۰- **تداخل منافع (Conflict of Interest):** نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق‌الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه‌ها، سازمان‌ها، نهادها، شرکت‌ها و سایر منابع که انتشار یافته‌های مطالعه می‌تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.
- ۲۱- **هزینه چاپ:** هیچ‌گونه هزینه‌ای برای چاپ مقالات در این مجله دریافت نمی‌شود.
- ۲۲- **حق نسخه‌برداری (Copyright):** تمامی محتویات مجله دانشکده پزشکی اصفهان تحت قانون حق نسخه‌برداری بین‌المللی قرار دارد. این مجله برای استفاده غیر تجاری در اختیار افراد قرار می‌گیرد. اصلاح، انتشار، انتقال و نمایش هر گونه محتویات مجله بدون ذکر نام این مجله ممنوع است.
- ۲۳- **فرآیند مرور دقیق (Peer Review):** تمام دست‌نوشته‌ها توسط حداقل ۳ نفر از داوران منتخب شورای نویسندگان مجله مورد بررسی دقیق قرار می‌گیرد. نویسنده‌ی مسؤؤل در کوتاه‌ترین زمان در جریان تصمیم‌سردبیر در مورد رد، قبول یا اصلاحات مورد نظر داوران و هیأت تحریریه قرار خواهد گرفت. در صورت پذیرش مقاله برای چاپ، نامه پذیرش به همراه ایمیل برای نویسنده‌ی مسؤؤل ارسال می‌شود و مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت.
- ۲۴- هیأت تحریریه در رد، اصلاح، ویرایش و خلاصه کردن مقاله آزاد است.
- ۲۵- مسؤولیت صحت یا سقم مطالب ارائه شده در مقاله بر عهده‌ی نویسنده یا نویسندگان است.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

۶۷۶.....۱۳۹۲. مقاله: اپیدمیولوژی و تابلوی بالینی لیشمانیوز جلدی در شهر بادرود سال ۱۳۹۲

دکتر منصوره مؤمن هروی، دکتر حسن افضلی، دکتر حسنعلی احمدی، مریم صبوری کاشانی

۶۸۵.....C57BL/6. مقاله: بررسی اثر مهارکننده‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی پوست انار سیاه بر روی تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال از طریق گیرنده‌های PPAR- α و PPAR- γ در موش‌های C57BL/6

دکتر سیما سیف‌آبادی، لاله رفیعی، هاجر ناجی اصفهانی، دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد

۶۹۴..... مقاله: بررسی فعالیت کاسپاز ۳، سطح سرمی گلوکوتایون و آهن در بیماران مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو

هدی رشیدیان، دکتر کهن شاهانی‌پور

۷۰۳..... مقاله: اثر تجویز هم‌زمان عامل محرک کلونی گرانولوسیت و ایتترفرون آلفا بر پوکی استخوان

دکتر رویا لاری، سیما جهانبخشی، الهه محمدی، دکتر علی میرشاهی، دکتر ناصر مهدوی شهری، دکتر علی مقیمی

مقاله بازآموزی

۷۱۴..... مقاله: مدیریت تغذیه‌ای بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD): مقاله‌ی بازآموزی

سپیده محبوبی، دکتر رضا روزبهانی

اپیدمیولوژی و تابلوی بالینی لیشمانیوز جلدی در شهر بادرود سال ۱۳۹۲

دکتر منصوره مؤمن هروی^۱، دکتر حسن افضلی^۲، دکتر حسنعلی احمدی^۳، مریم صبوری کاشانی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: لیشمانیوز جلدی، جزء بیماری‌های انگلی اندمیک شایع در ایران به شمار می‌رود و یکی از معضلات مهم بهداشتی در استان اصفهان و به ویژه شهر بادرود می‌باشد که شیوع آن در دهه‌ی گذشته دو برابر شده است. این مطالعه، به منظور تعیین اپیدمیولوژی و تابلوی بالینی لیشمانیوز جلدی در شهرستان بادرود در سال ۱۳۹۲ انجام شد.

روش‌ها: این مطالعه‌ی توصیفی - مقطعی بر روی کلیه‌ی بیماران مبتلا به سالک شناسایی شده از طریق بیماریابی فعال در شهر بادرود در طی یک سال انجام شد. بیماران توسط پزشک ویزیت شدند و پرسش‌نامه‌ی حاوی اطلاعات دموگرافیک و تابلوی زخم، از طریق مصاحبه و معاینه‌ی بیماران تکمیل گردید. تشخیص، با آزمایش زخم از نظر جسم لیشمن انجام گرفت. اطلاعات با نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: ۶۳ بیمار مبتلا به لیشمانیوز جلدی، طی یک سال در شهر بادرود شناسایی شدند. ۵۵/۶ درصد بیماران مرد بودند. گروه سنی ۳۰-۱۵ سال بیشترین فراوانی (۲۳/۸ درصد) را در بین مبتلایان داشت. ۶۶/۷ درصد بیماران سابقه‌ی اقامت در منطقه‌ی آقاعلی‌عباس را داشتند. تمامی زخم‌ها از نوع روستایی بود. بیشتر ضایعات لیشمانیوز جلدی، زخمی با ابعاد کمتر از ۳ سانتی‌متر، بدون درد و همراه با خارش و ترشح بودند. اندام‌ها شایع‌ترین محل ابتلا بود. اغلب موارد مبتلا، پس از درمان بهبودی کامل یا نسبی داشتند.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، مشخص شد که در شهر بادرود، لیشمانیوز جلدی از نوع روستایی بود و در مردان و سنین بالای ۱۵ سال شیوع بیشتری داشت. غالب موارد ابتلا پس از درمان بهبودی کامل یا نسبی داشتند.

واژگان کلیدی: اپیدمیولوژی، تابلوی بالینی، لیشمانیوز جلدی، ایران

ارجاع: مؤمن هروی منصوره، افضلی حسن، احمدی حسنعلی، صبوری کاشانی مریم. اپیدمیولوژی و تابلوی بالینی لیشمانیوز جلدی در شهر

بادرود سال ۱۳۹۲. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۳۴): ۶۷۶-۶۸۴

مقدمه

دارند. از نظر بالینی، به اشکال جلدی، احشایی و جلدی - مخاطی تقسیم می‌گردند (۱).

این بیماری از مشکلات مهم بهداشتی - اقتصادی بسیاری از کشورهای دنیا از جمله ایران به شمار می‌آید. در حال حاضر، ۳۵۰ میلیون نفر در ۸۸ کشور

لیشمانیوز نام گروهی از بیماری‌های تک یاخته‌ای است که توسط گونه‌های مختلف پشه خاکی‌های ماده‌ی زیر خانواده‌ی فلوتومینه منتقل می‌شود و در شمار بیماری‌های مشترک انسان و حیوانات قرار

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲- دانشیار، گروه عفونی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳- متخصص اطفال، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان و بیمارستان بادرود، بادرود، ایران

۴- کارشناس پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

سرمایه‌گذاری‌های ملی و بین‌المللی، نه تنها این بیماری ریشه کن نشده است؛ بلکه همواره با نمایان شدن کانون‌های جدید بیماری در گوشه و کنار کشور، شیوع آن افزایش می‌یابد؛ به طوری که به عنوان یک مشکل اساسی، بخش مهمی از فعالیت‌های بهداشتی و اجتماعی را به خود جلب می‌نماید و با ایجاد مشکلات اقتصادی-اجتماعی و روانی خسارات جبران‌ناپذیری را بر اجتماع وارد می‌نماید.

در برنامه‌ی ملی کنترل سالک، به لزوم تعیین خصوصیات اپیدمیولوژیک بیماری در کانون‌های بیماری تأکید شده است (۱۱). در مطالعه‌ای در کاشان، شیوع سالک در بین ۵۰۹۸ نفر از ساکنین شهر ۶/۴ درصد گزارش شده و بروز سالک ۳۷/۶ در یک صد هزار نفر جمعیت برآورد شده است (۱۲). در مطالعه‌ی دیگری که در منطقه‌ی آران و بیدگل انجام شده است، میزان کل ابتلا به سالک در این منطقه، ۱/۰۳ در هر هزار نفر عنوان شده است (۱۳).

با توجه به کم بودن امکانات تشخیصی و درمانی در بادرود و مراجعه‌ی این بیماران به مراکز تشخیصی-درمانی کاشان، در سال‌های اخیر موارد متعدد این بیماری مشاهده شده‌اند. از این رو، با توجه به عدم وجود مطالعه‌ای در سال‌های اخیر در این منطقه، این مطالعه‌ی اپیدمیولوژیک با هدف بررسی این بیماری در شهر بادرود انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه‌ی توصیفی در طی سال ۱۳۹۲ در شهر بادرود انجام شد. شهر بادرود در استان اصفهان و در ۶۰ کیلومتری جنوب شرق کاشان قرار دارد. جمعیت شهر بادرود، در حدود ۱۴۳۹۱ نفر است که

جهان در معرض ابتلا به بیماری قرار دارند و سالانه، ۵ میلیون نفر مبتلا می‌شوند (۲). ۹۰ درصد موارد لیشمانیوز جلدی، از ۷ کشور افغانستان، الجزایر، برزیل، ایران، عراق، پرو، عربستان سعودی و سوریه گزارش می‌گردد (۳-۲). با وجود پیشرفت‌های روز افزون بشر در خصوص کنترل بیماری‌ها، هنوز هم لیشمانیوزها یکی از معضلات بهداشت به شمار می‌آیند. سازمان بهداشت جهانی، به علت اهمیت این بیماری از نظر بهداشتی، آن را در ردیف ۶ بیماری مهم مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر معرفی نموده است (۴-۵).

لیشمانیوز جلدی، از زمان‌های بسیار دور در ایران وجود داشته است و امروزه، کشور ما یکی از کانون‌های مهم این بیماری در جهان محسوب می‌شود. در ایران، دو شکل لیشمانیازیس جلدی زئونوتیک (Zoonotic cutaneous leishmaniasis یا ZCL) و انسانی (Anthroponotic cutaneous leishmaniasis یا ACL) وجود دارد. ایران در شمار کشورهای ACL که ZCL در بعضی مناطق آن به شکل آندمیک بالاترین میزان بروز عفونت با لیشمانیا ماژور *L. major* مشاهده می‌گردد (۶). آمار ثبت شده‌ی مبتلایان به فرم جلدی در کشور ما، سالیانه حدود ۲۰ هزار نفر است؛ در حالی که ارقام واقعی بیماری چندین برابر این تعداد می‌باشد (۷) و بعد از مالاریا، از مهم‌ترین بیماری‌های انگلی در ایران به شمار می‌رود (۸-۱۰، ۶).

از آن جایی که تاکنون واکسن مؤثر و مطمئنی برای این بیماری ساخته نشده است، مبارزه با این بیماری همواره در برنامه‌ریزی‌های ملی کشور ما مورد توجه بوده است و با وجود کوشش‌های وسیع و

با روستاهای اطراف آن در مجموع، ۲۳۲۱۱ نفر می‌شود.

نمونه‌گیری به روش سرشماری انجام گرفت. کلیه‌ی بیماران مشکوک به سالک توسط مرکز بهداشت شهر بادرود شناسایی و به متخصص ارجاع شدند. بیماران به صورت رایگان توسط متخصص ویزیت شدند و پرسش‌نامه‌ی حاوی اطلاعات دموگرافیک، مشخصات زخم، روش تشخیص و درمان، از طریق مصاحبه و معاینه‌ی بیماران تکمیل گردید. پس از توجیه و کسب رضایت بیمارانی که برای اولین بار شناسایی شدند، از لبه‌ی زخم آنان نمونه‌گیری انجام و به آزمایشگاه ارسال گردید. در صورت مثبت بودن آزمایش از نظر جسم لیثمن، درمان برای آن‌ها آغاز می‌شد. برای بیمارانی که قبل توسط پزشکان دیگر شناسایی شده و تحت درمان بودند، فقط پرسش‌نامه تکمیل گردید. در پایان دوره‌ی درمان نیز از بیماران در مورد رضایت از درمان پرسش شد.

اطلاعات پرسش‌نامه‌ها وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) شد. در مورد متغیرهای کمی میانگین و انحراف معیار و برای متغیرهای کیفی درصد فراوانی (مطلق و نسبی) محاسبه شد. نتایج به صورت آمار توصیفی ارائه گردید.

یافته‌ها

از میان ۱۴۵۰ مراجعه کننده به مرکز بهداشت بادرود در سال ۱۳۹۲، ۷۵ مورد مشکوک شناسایی شدند و نمونه‌برداری انجام گردید که در ۶۳ بیمار، تشخیص لیثمانیوز جلدی با اسمیر مثبت قطعی گردید.

میانگین سنی بیماران $20/84 \pm 35/52$ سال با حداقل ۱/۵ و حداکثر ۸۵ سال بود. بیشترین فراوانی ابتلا به لیثمانیوز جلدی، در گروه سنی ۳۰-۱۵ سال دیده شد.

۵۵/۶ درصد (۳۵ نفر) از بیماران مرد و ۴۴/۴ درصد (۲۸ نفر) آن‌ها زن بودند و تمامی آن‌ها ملیت ایرانی داشتند. ۸۱/۰ درصد از بیماران در شهر و بقیه در روستاهای اطراف سکونت داشتند. ۵۸/۰ درصد مبتلایان بی‌سواد بودند یا تحصیلات در سطح ابتدایی داشتند. شغل خانه‌داری، شایع‌ترین شغل در بین مبتلایان بود. ۶۶/۷ درصد بیماران، سابقه‌ی اقامت در منطقه‌ی زیارتی آقاعلی‌عباس را داشتند.

بیشتر مبتلایان، زخمی با ابعاد کمتر از ۳ سانتی‌متر، بدون درد و دارای ترشح و خارش داشتند. سوزش، تورم اندام و فلیت اطراف زخم، در موارد اندکی از بیماران مشاهده شد.

۶۱/۹ درصد از بیماران، تنها یک زخم داشتند. زخم‌های متعدد (بیشتر از ۵ عدد) تنها در ۴ بیمار مشاهده شد. اندام‌های بیماران، شایع‌ترین محل برای گزش و ابتلا به لیثمانیوز جلدی بود. ۵۷/۱ درصد از بیماران در پاییز مبتلا شده بودند. تابستان و پاییز، شایع‌ترین فصل‌های ابتلا بودند و تنها ۳/۲ درصد از بیماران، در فصل‌های بهار و زمستان مبتلا شده بودند. بیشتر بیماران، پس از درمان به صورت کامل بهبود یافته بودند. میزان عدم بهبودی در بیماران ۱۱/۱ درصد بود. پس از دریافت درمان، ۵۷/۰ درصد بیماران میزان رضایت کامل و ۲۲/۶ درصد رضایت نسبی داشتند و ۲۰/۶ درصد از بیماران، از نتیجه‌ی درمان خود رضایت نداشتند. اغلب بیماران (۶۹/۸ درصد) چند نوع درمان دارویی دریافت کرده

بحث

در این مطالعه، ۶۳ بیمار مبتلا به لیشمانیوز جلدی مورد بررسی قرار گرفتند. بیشتر مبتلایان مرد بودند. در بین مبتلایان مرد، گروه سنی ۳۰-۱۵ سال شایع‌ترین گروه سنی بود؛ اما در بین زنان، وضعیت ابتلا در تمامی گروه‌های سنی به طور تقریبی مشابه بود.

در مطالعه‌ی تقفی‌پور و همکاران در قم روی ۱۸۱۲ بیمار مبتلا به لیشمانیوز ۵۷/۷۸ درصد از بیماران مرد بودند و شایع‌ترین گروه سنی مبتلایان بالاتر از ۱۵ سال بود (۱۴). در مطالعه‌ی جعفری و همکاران که بر روی ۲۱۲۳ بیمار در شهرستان بافق استان یزد انجام شد، مردان بیش از ۵۲ درصد از بیماران دارای زخم حاد یا اسکار را تشکیل می‌دادند و گروه سنی ۲۴-۲۰ سال به عنوان شایع‌ترین بازه‌ی سنی مبتلایان بود (۱۵).

درودرگر و همکاران در مطالعه‌ی خود بر روی ۵۰۹۸ مورد از مبتلایان به سالک در شهرستان کاشان، شیوع ۶۱/۳ درصدی این بیماری را در بین مردان گزارش نموده‌اند. نسبت ابتلا به سالک در این مطالعه در مردان ۱/۶ برابر زنان محاسبه شده است. گروه سنی ۲۹-۲۰ سال بیشترین فراوانی را در بین مبتلایان به زخم سالک داشته‌اند (۱۲). در مطالعه‌ی رفعتی و همکاران در دامغان نیز به شیوع بالاتر لیشمانیوز جلدی در بین مردان اشاره شده است (۱۶).

در مطالعه‌ی Turhanoglu و همکاران در ترکیه، از ۱۲۸ بیمار بین ۷۵-۰ سال مشکوک به لیشمانیوز جلدی، تشخیص آزمایشگاهی در ۵۶ نفر به اثبات رسید که از ۴۱ نفر آن‌ها زن و ۱۵ نفر مرد بودند. ۳۴ نفر بین ۲۰-۰ سال، ۱۰ نفر ۴۱-۲۱ سال و ۱۲ نفر

بودند. تزریق گلوکانتیم موضعی، دومین درمان شایع در بین این بیماران بود. توزیع فراوانی ویژگی‌های زخم لیشمانیوز در افراد مبتلا در شهر بادرود در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. توزیع فراوانی ویژگی‌های زخم لیشمانیوز در افراد مبتلا در شهر بادرود

ویژگی زخم	فراوانی (درصد)	فراوانی (درصد)
نوع زخم	روستایی	۶۳ (۱۰۰)
	شهری	۰ (۰)
قطر زخم	کمتر از ۳ سانتی‌متر	۵۹ (۹۳/۷)
	بیشتر از ۳ سانتی‌متر	۴ (۶/۳)
ترشح	دارد	۴۳ (۶۸/۳)
	ندارد	۲۰ (۳۱/۷)
درد	دارد	۳۲ (۵۰/۸)
	ندارد	۳۱ (۴۹/۲)
خارش	دارد	۶۲ (۵۰/۸)
	ندارد	۱ (۱/۶)
سوزش	دارد	۲۸ (۵۰/۸)
	ندارد	۵۵/۶ (۳۵)
تورم اندام	دارد	۲۵ (۳۹/۷)
	ندارد	۳۸ (۶۰/۳)
فلبیت اطراف زخم	دارد	۱۴ (۲۲/۲)
	ندارد	۴۹ (۷۷/۸)
لنفادنوپاتی ناحیه‌ای	دارد	۹ (۱۴/۳)
	ندارد	۵۴ (۸۵/۷)
تعداد زخم	۱	۳۹ (۶۱/۹)
	۲	۹ (۱۴/۳)
	۳	۲ (۳/۲)
	۴	۹ (۱۴/۳)
	۵	۱ (۱/۶)
	۶	۳ (۴/۸)
محل زخم	دست	۱۷ (۲۷/۰)
	پا	۲۵ (۳۹/۷)
	صورت	۸ (۱۲/۷)
	تنه	۳ (۴/۸)
	دست و تنه	۸ (۱۲/۷)
	پا و تنه	۲ (۳/۲)

به کارگیری روش‌های مختلف حفاظت فردی نظیر استفاده از قلم دافع حشرات به مردان این مناطق ضروری و مفید به نظر می‌رسد.

در مطالعه‌ی حاضر، اکثر مبتلایان بی‌سواد بودند یا سواد در سطح ابتدایی داشتند. در مطالعه‌ی Gontijo و همکاران بر روی ۷۲ مورد لیشمانیوز حاد در طی یک طغیان در منطقه‌ای از برزیل، سطح سواد پایین، درآمد کم و بهداشت ضعیف در افراد مورد مطالعه دیده شد (۲۱).

در این مطالعه مشخص شد که شایع‌ترین فصل ابتلا به لیشمانیوز پاییز است؛ به طوری که ۵۷/۱ درصد از بیماران در این فصل مبتلا شده بودند. در مطالعه‌ی رفعتی و همکاران نیز شایع‌ترین فصل ابتلا، پاییز بوده است (۱۶). همچنین، در مطالعه‌ی حمزوی و همکاران در استان کرمانشاه، بیش از ۳۵ درصد از موارد ابتلا به لیشمانیوز جلدی در فصل پاییز رخ داده بود (۲۲).

در مطالعه‌ی Tiwary و همکاران در هندوستان نیز اواخر تابستان و اوایل پاییز را شایع‌ترین زمان‌ها برای ابتلا به لیشمانیوز دانسته‌اند (۲۳). در مطالعه‌ی Yemisen در Sanliurfa ترکیه، موارد بروز لیشمانیوز در پاییز افزایش و در تابستان کاهش داشت (۲۴). در مطالعه‌ی Uzun و همکاران در منطقه‌ی Cukurova ترکیه نیز اختلاف فصلی در فراوانی وجود داشت و بالاترین فراوانی در پاییز بود (۲۵). در مطالعه‌ای که در نطنز انجام شده است، فصل فعالیت پشه‌خاکی عامل لیشمانیوز، از اواخر خرداد ماه تا پایان آبان ماه اعلام شده است (۲۶).

شیوع بیشتر موارد ابتلا در فصل پاییز، به دلیل بهبود شرایط زیست پشه‌خاکی در این زمان است.

۴۲ سال و بالاتر داشتند (۱۷). در مطالعه‌ی Uzun و همکاران از ۱۰۳۰ بیمار ۴۰/۲ درصد مرد و ۵۹/۸ درصد زن بودند (۱۸).

در مطالعه‌ی Aytakin و همکاران در منطقه‌ی دیاربکر ترکیه روی ۷۸ فرد مبتلا به لیشمانیوز جلدی ۱-۸۵ ساله با میانگین سنی ۲۰ سال، همه‌ی گروه‌های سنی درگیر شدند؛ اما اکثریت زیر ۲۰ سال بودند (۱۹). در مطالعه‌ی Gurel و همکاران در منطقه‌ی Sanliurfa ترکیه، اکثر بیماران زیر ۲۰ سال بودند. بالاترین درصد مربوط به سنین ۹-۵ سال بود (۲۰).

مقایسه‌ی مطالعات انجام شده در ایران و مناطق مختلف ترکیه که در همسایگی ما به سر می‌برد، حاکی از تفاوت سن ابتلای بیماران می‌باشد. سن ابتلای بیماران در مطالعات ترکیه اغلب زیر ۲۰ سال است؛ اما در مطالعات ایران، اکثر افراد بالای ۲۰ سال هستند. همچنین بر خلاف مطالعه‌ی حاضر، نسبت ابتلای زنان در مطالعات ترکیه بیش از مطالعات ایران است. ابتلای بیشتر مردان به سالک در ایران را می‌توان به علل مختلفی ارتباط داد. مردان سنین ۳۰-۱۵ اغلب از نظر شغلی فعال هستند و در شرایط خارج از منزل بیشتر در معرض گزش پشه قرار می‌گیرند. بیشتر فعالیت پشه‌خاکی، پس از غروب آفتاب است که در این زمان نیز مردان به دلیل مسایل شغلی بیشتر در مناطق باز فعالیت دارند.

از سوی دیگر، زنان در ایران به واسطه‌ی هنجارهای فرهنگی مناطق ذکر شده، پوشش بیشتری دارند و مناطق کمتری از بدن آن‌ها در معرض گزش پشه قرار می‌گیرد. در حالی که بحث حجاب زنان در ترکیه مانند ایران رعایت نمی‌شود. با توجه به نتایج این مطالعه، توصیه‌ی استفاده از لباس‌های پوشیده‌تر و

معرض تماس بدن مثل صورت و گردن ۵۷/۵ درصد، در اندام فوقانی ۳۲/۲ درصد و در اندام تحتانی، ۱۰/۲ درصد رخ داد (۲۰). در مطالعه‌ی Uzun و همکاران، بیش از ۸۰ درصد ضایعات در نواحی در معرض تماس بودند (۲۵).

با توجه به این که پشه‌ی ناقل انگل لیشمانیا قادر به نیش زدن مناطق دارای پوشش با ضخامت مناسب نیست، ضایعات تنه به ندرت رؤیت می‌شود؛ اما مناطقی نظیر اندام‌ها و صورت که یا فاقد پوشش است و یا پوشش آن ضخیم نیست، بیشتر در معرض نیش پشه‌خاکی و به دنبال آن، ابتلا به لیشمانیوز است (۳۰).

در این مطالعه، مشخص شد که بیشتر مبتلایان به لیشمانیوز جلدی، زخمی با اندازه‌ی کوچک‌تر از ۳ سانتی‌متر، بدون درد و همراه با خارش و ترشح داشتند و موارد معدودی از سوزش، تورم اندام و یا فلبیت اطراف زخم مشاهده شد. بیشتر بیماران تنها یک زخم فعال سالک داشتند. در مطالعه‌ی درودگر و همکاران در کاشان نیز بیشتر مبتلایان تنها یک زخم فعال داشتند (۱۲).

۴۱/۸ درصد از بیماران بررسی شده در مطالعه‌ی آیت‌اللهی و کریمی نیز تنها یک زخم فعال سالک داشتند (۲۸). در مطالعه‌ی Uzun و همکاران روی ۱۰۳۰ نفر ۱۴۳۱ ضایعه شناسایی شد. در ۸۰/۷ درصد افراد یک ضایعه وجود داشت. اندازه‌ی ضایعات در محدوده‌ی ۳-۱۵۰ میلی‌متر (بزرگ‌ترین محور ۱۳/۶ میلی‌متر) بود (۱۸). در مطالعه‌ی Aytakin و همکاران در ترکیه، اندازه‌ی ضایعات در محدوده‌ی ۰/۵-۲۰ سانتی‌متر بود (۱۹).

در این مطالعه، اغلب بیماران (۶۶ درصد) چند

دمای هوای منطقه‌ی بادرود تا بخش عمده‌ای از فصل پاییز، نیمه‌گرم است که دمای مطلوبی برای فعالیت پشه است. از طرف دیگر، بارندگی‌های پاییزی رطوبت مناسب برای ایجاد کانون‌های رشد پشه‌خاکی را فراهم می‌کند.

دست و پا، شایع‌ترین محل درگیری در لیشمانیوز جلدی در بیماران مورد مطالعه‌ی حاضر بود. در مطالعه‌ای که توسط رنجبرتوتونی و سلطانی بر روی ۱۶۶ بیمار در منطقه‌ای حوالی بافق یزد (یکی از کانون‌های آلوده‌ی کشور) انجام شده است اندام فوقانی با ۵۵/۸ درصد فراوانی، شایع‌ترین محل درگیری بدن در لیشمانیوز جلدی ذکر شده است (۲۷).

در مطالعه‌ی آیت‌اللهی و کریمی در منطقه‌ی ابرکوه یزد، شایع‌ترین محل درگیری به طور کلی اندام فوقانی (۶۱/۹ درصد) و صورت (۲۱/۶ درصد) بود که با در نظر گرفتن سن بیماران، شایع‌ترین محل در بیماران زیر ۱۵ سال صورت و در بالغین، اندام فوقانی بوده است (۲۸). مطالعات انجام شده در مناطق دیگر نیز نتایج مشابهی را نشان می‌دهد. در مطالعه‌ی انجام شده در عربستان، اندام‌ها با ۷۶ درصد فراوانی، شایع‌ترین محل ابتلا به لیشمانیوز بوده است (۲۹).

در مطالعه‌ی Turhanoglu و همکاران در ترکیه بر روی ۵۶ بیمار، ضایعات ۳۴ نفر در صورت، ۱۴ نفر در دست و بازو و ۸ نفر در پا و ساق پا دیده شد. ۲۱ نفر ضایعات در جاهای مختلف مثل دست و صورت یا پا و صورت داشتند (۱۷). در مطالعه‌ی Aytakin و همکاران در ترکیه، ضایعات در صورت ۴۶/۷ درصد، در اندام فوقانی ۲۳/۲ درصد و در اندام تحتانی ۵/۱ درصد بود (۱۹). در مطالعه‌ی Gurel و همکاران، ضایعات به طور اساسی در نواحی در

پیدا کردند و فقط در ۸ درصد بهبودی رخ نداد. اکثر بیماران از نتیجه‌ی درمان رضایت داشتند. یکی از دلایل میزان بالای بهبودی و رضایت از درمان در مطالعه‌ی حاضر، بیشتر بودن به کارگیری درمان با چند روش بوده است که برای قطعی شدن تأثیر این روش‌های درمانی، نیاز به مطالعات کارآزمایی بالینی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مشخص شد که در شهر بادرود، لیشمانیوز جلدی از نوع روستایی و بیشتر در مردان و سنین بالای ۱۵ سال، شیوع بیشتری دارد. غالب موارد ابتلا، پس از درمان، بهبودی کامل یا نسبی داشته‌اند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی کسانی که در انجام این پژوهش همکاری نمودند سپاسگزاری می‌گردد.

نوع درمان دارویی دریافت کرده بودند و در حدود یک چهارم از بیماران با تزریق موضعی یا سیستمیک گلوکانتیم درمان شده بودند تزریق گلوکانتیم موضعی دومین درمان شایع در بین این بیماران بود. در مطالعه‌ی Soares و همکاران در برزیل درمان لیشمانیوز جلدی در اغلب موارد ترکیبات پنج ظرفیتی آنتی‌موان بود که میزان بهبودی ۹۱/۱ درصد بود (۳۱). در مطالعه‌ی Uzun و همکاران درمان موضعی به عنوان خط اول درمان در اکثر بیماران استفاده شد (۲۵، ۱۸).

برای درمان لیشمانیوز، ترکیبات مختلفی معرفی شده است. مهم‌ترین درمان پیشنهاد شده، استفاده از ترکیبات آنتی‌موان پنج ظرفیتی مانند گلوکانتیم و پنتوستام است که در سال‌های گذشته بروز مقاومت، یک مشکل اساسی در به کارگیری این ترکیبات بوده است (۳۶-۳۲). زخم، بعد از ۱۲ هفته در ۶۲ درصد بیماران بهبودی کامل و در ۳۰ درصد بهبودی نسبی

References

1. Service M. Medical Entomology for Students. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 1996. p. 95-103.
2. World Health Organization. Scientific working group on Leishmaniasis [Online]. [cited 2004 Feb 2-4]; Available from: URL: <http://www.who.int/tdr/publications/tdr-research-publications/swg-report-leishmaniasis/en/>
3. Piscopo TV, Mallia AC. Leishmaniasis. Postgrad Med J 2007; 83(976): 649-57.
4. Azadeh B, Ardehali S, Javadian E, Seiedi A, Saberi MS, Sadeghi E, et al. Leishmania and leishmaniasis. Tehran, Iran: Iran University Press; 1994. [In Persian].
5. World Health Organization. Leishmaniasis. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1989.
6. Mohebbali M, Yaghoobi P, Hooshmand B, Khamesipour A. Efficacy of Paromomycin ointment prepared in Iran (Paromo-U) against cutaneous Leishmaniasis caused by Leishmania major in mouse model. Iran J Dermatol 2004; 7(26): 88-94. [In Persian].
7. Mohebbali M. Zoonotic protozoa diseases. Tehran, Iran: Nadi Publication; 1996. p. 60. [In Persian].
8. Nadim A, Javadian AE, Tahvildari Gh. Leishmanisation and its usage on cutaneous leishmaniasis control. Proceedings of the 1st Seminar on Leishmaniasis Survey in Iran. Tehran, Iran: Imam Hossein University; 1992; p. 46. [In Persian].
9. World Health Organization. Control of the leishmaniasis. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2010.
10. World Health Organization. Control of tropical diseases: the leishmaniasis. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1993.
11. Shirzadi MR. National Programme of leishmaniasis. Proceedings of the 4th National Congress of diseases transmitted between animals and humans; 1996 Apr 23-26; Tehran, Iran; 1996.
12. Doroudgar A, Mahboubi S, Nematian M, Sayah M, Doroudgar M. An epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Kashan (2007-2008). Koomesh 2009; 10(3): 177-83. [In Persian].
13. Ramezani Y, Mousavi S, Bahrami A, Fereydooni M, Parsa N, Kazemi B. Epidemiological study of

- cutaneous leishmaniasis in Aran and Bidgol from April to September 2009. *Feyz* 2011; 15(3): 254-8. [In Persian].
14. Saghafipour A, Akbari A, Rasi Y, Mostafavi R. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Qom province, Iran, during 2003-2009. *Qom Univ Med Sci J* 2012; 6(1): 83-8. [In Persian].
 15. Jafari R, Mohebalı M, Dehghan-Dehnoee A, Soleimani H, Akhavan A, Hajjaran H. Epidemiological status of cutaneous leishmaniasis in Bafgh City, Yazd province 2005. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci* 2007; 15(2): 76-83. [In Persian].
 16. Rafati N, Shaporimoghadem A, Ghorbani R. Epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Damghan (2000-2006). *Koomesh* 2007; 8(4): 247-54. [In Persian].
 17. Turhanoglu M, Alp ES, Bayindir BF. A nine-year evaluation of cutaneous leishmaniasis patients in Diyarbakir Training and Research Hospital, Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48(2): 335-40.
 18. Uzun S, Durdu M, Culha G, Allahverdiyev AM, Memisoglu HR. Clinical features, epidemiology, and efficacy and safety of intralesional antimony treatment of cutaneous leishmaniasis: recent experience in Turkey. *J Parasitol* 2004; 90(4): 853-9.
 19. Aytekin S, Ertem M, Yagdiran O, Aytekin N. Clinico-epidemiologic study of cutaneous leishmaniasis in Diyarbakir Turkey. *Dermatol Online J* 2006; 12(3): 14.
 20. Gurel MS, Ulukanligil M, Ozbilge H. Cutaneous leishmaniasis in Sanliurfa: epidemiologic and clinical features of the last four years (1997-2000). *Int J Dermatol* 2002; 41(1): 32-7.
 21. Gontijo CM, da Silva ES, de Fuccio MB, de Sousa MC, Pacheco RS, Dias ES, et al. Epidemiological studies of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in the Rio Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil. *Acta Trop* 2002; 81(2): 143-50.
 22. Hamzavi Y, Sobhi SA, Rezaei M. Epidemiological factors of cutaneous leishmaniasis in patients referred to health centers in Kermanshah province (2001 – 2006). *Behbood J* 2009; 13(2): 151-61. [In Persian].
 23. Tiwary P, Kumar D, Mishra M, Singh RP, Rai M, Sundar S. Seasonal variation in the prevalence of sand flies infected with *Leishmania donovani*. *PLoS One* 2013; 8(4): e61370.
 24. Yemisen M, Ulas Y, Celik H, Aksoy N. Epidemiological and clinical characteristics of 7172 patients with cutaneous leishmaniasis in Sanliurfa, between 2001 and 2008. *Int J Dermatol* 2012; 51(3): 300-4.
 25. Uzun S, Uslular C, Yucel A, Acar MA, Ozpoyraz M, Memisoglu HR. Cutaneous leishmaniasis: evaluation of 3,074 cases in the Cukurova region of Turkey. *Br J Dermatol* 1999; 140(2): 347-50.
 26. Parvizi P, Akhondi M, Mirzaei H. Distribution, fauna and seasonal variation of sandflies, simultaneous detection of nuclear internal transcribed spacer ribosomal DNA gene of *Leishmania major* in *Rhombomys opimus* and *Phlebotomus papatasi*, in Natanz district in central part of Iran. *Iran Biomed J* 2012; 16(2): 113-20.
 27. Ranjbar Totoni A, Soltani AM. Epidemiologic study of cutaneous Leishmaniasis in Noogh/Rafsanjan in 2005. *J Kerman Univ Med Sci* 2006; 13(2 Suppl): 95. [In Persian].
 28. Ayatollahi J, Karimi M. Cutaneous leishmaniasis prevalence in Abarkuh-Yazd. *Iran J Infect Dis Trop Med* 2005; 10(30): 13-8. [In Persian].
 29. Kubeyinje EP, Belagavi CS, Jamil YA. Cutaneous leishmaniasis in expatriates in northern Saudi Arabia. *East Afr Med J* 1997; 74(4): 249-51.
 30. Magill AJ. *Leishmania species*. In: Bennett J, Dolin R, Blaser MJ, Editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 7th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Health Sciences; 2010. p. 3463-538.
 31. Soares ME, Pedrosa-Silva AL, Sa E Rocha, Lima NL, Verli FD, Ferreira FO, et al. Epidemiological profile of individuals with American cutaneous leishmaniasis in Jequitinhonha Valley, Brazil. *East Mediterr Health J* 2014; 19 (Suppl 3): S81-S88.
 32. Jaffary F, Nilforoushzadeh MA, Tavakoli N, Zolfaghari B, Shahbazi F. The efficacy of *Achilles millefolium* topical gel along with intralesional injection of glucantime in the treatment of acute cutaneous leishmaniasis major. *Adv Biomed Res* 2014; 3: 111.
 33. Català A, Barnadas MA, Muñoz C, Puig L. Cutaneous Leishmaniasis in a Patient Receiving Infliximab for Psoriatic Arthritis: Treatment with Cryotherapy and Intralesional Meglumine Antimonate. *Actas Dermosifiliogr* 2014; 105: 714-6.
 34. Masmoudi A, Hariz W, Marrekchi S, Amouri M, Turki H. Old World cutaneous leishmaniasis: diagnosis and treatment. *J Dermatol Case Rep* 2013; 7(2): 31-41.
 35. Croft SL. Monitoring drug resistance in leishmaniasis. *Trop Med Int Health* 2001; 6(11): 899-905.
 36. Nilforoushzadeh M, Ansari N, Derakhshan R, Siadat AH. Prevalence distribution of resistance to systemic glucantime (meglumine antimony) in the treatment of acute cutaneous leishmaniasis. *Journal of Cell and Tissue Research* 2008; 8(2): 1379-81.

Epidemiology and Clinical Features of Cutaneous Leishmaniasis in Badrood City, Iran, in 2013

Mansooreh Momen-Heravi MD¹, Hasan Afzali MD², Hasanali Ahmadi MD³,
Maryam Saboori-Kashani⁴

Original Article

Abstract

Background: Cutaneous Leishmaniasis (CL) is a common endemic parasitic disease in Iran. This disease is always a serious health problem in Isfahan province, especially in Badrood city, and its prevalence has been doubled over the last decade. This study was designed to determine the epidemiology and clinical features of cutaneous leishmaniasis in Badrood city in 2013.

Methods: This descriptive cross-sectional study was done on all detected patients with cutaneous leishmaniasis in Badrood city via active detection during one year. Patients were visited by physician and a questionnaire including the demographic data and characteristics of the wounds were filled through interview and examination of patients. Diagnosis was confirmed via revealing of the leishman body in smear of the wounds. The results were analyzed using SPSS software.

Findings: 55.6% of the patients were men. Age group of 15-30 years had the highest rate (23.8%) among the patients. 66.7% of patients had history of staying in Agha Ali Abbas region. All the wounds were of the rural form. The lesions of cutaneous leishmaniasis were painless, pruritus, less than 3 cm, and with secretion. Extremities were the most common sites for the infection. There was complete or partial healing after the treatment in most of the patients.

Conclusion: Based on the findings of this study, cutaneous leishmaniasis in Badrood city is rural form and most of the patient are men and older than 15 years of age. Complete or partial healing can be seen after the treatment in most of the patients.

Keywords: Epidemiology, Clinical features, Cutaneous leishmaniasis, Iran

Citation: Momen-Heravi M, Afzali H, Ahmadi H, Saboori-Kashani M. **Epidemiology and Clinical Features of Cutaneous Leishmaniasis in Badrood City, Iran, in 2013.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(323): 676-84

1- Associate Professor, Social Determinants of Health (SDH) Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

2- Associate Professor, Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

3- Pediatrician, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan AND Badrood Hospital, Badrood, Iran

4- Nurse, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Corresponding Author: Hasan Afzali MD, Email: hasanafzali@yahoo.com

بررسی اثر مهار کننده‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی پوست انار سیاه بر روی تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال از طریق گیرنده‌های PPAR- α و PPAR- γ در موش‌های C57BL/6

دکتر سیما سیف‌آبادی^۱، لاله رفیعی^۲، هاجر ناجی اصفهانی^۲، دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال، نقش مهمی در رشد و آنژیوژنز تومور ایفا می‌کنند. انار با نام علمی *Punica granatum*، متعلق به خانواده‌ی Punicaceae، در انواع سرطان‌ها خاصیت مهار کننده‌ی نشان داده است. در این مطالعه، اثر عصاره‌ی هیدروالکلی پوست انار بر تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در مدل موش مبتلا به سرطان ملانوما و همچنین مکانیسم اثر آن مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: عصاره‌ی هیدروالکلی پوست انار سیاه با استفاده از حلال اتانول ۷۰ درصد حاوی ۱ درصد اسید استیک تهیه گردید. در روز صفر مطالعه، 1×10^6 سلول ملانوما B16F10 به هر یک از ۸۸ موش C57BL/6 نر با وزن ۲۵ گرم به صورت زیر جلدی تزریق شد. در روز هفتم مطالعه، موش‌ها به طور تصادفی به ۱۱ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه اول به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و آب مقطر دریافت نمود. گروه‌های دوم تا پنجم، از روز ۷ مطالعه به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره‌ی استاندارد را از طریق گاواژ دریافت نمودند. گروه ششم، عصاره را به همراه آنتاگونیست PPAR- γ (Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma) (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) داخل صفاقی دریافت نمود. گروه هفتم، عصاره را به همراه آنتاگونیست PPAR- α (Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha) داخل صفاقی دریافت نمود (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). گروه هشتم و نهم نیز فنوفیبرات (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و روزیگلیتازون (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به ترتیب به عنوان آنتاگونیست‌های PPAR- α و PPAR- γ از طریق گاواژ دریافت نمودند. گروه دهم و یازدهم نیز آنتاگونیست‌های PPAR را به تنهایی دریافت کردند. در روز ۱۶ مطالعه، موش‌ها کشته شدند و خون از قلب آن‌ها برای شمارش تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال به روش فلوسایتومتری گرفته شد. در فلوسایتومتری سلول‌های $CD34^+/VEGFR2^+$ شمارش شدند. مقادیر $P < 0/05$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: عصاره‌ی پوست انار به صورت وابسته به دوز، منجر به کاهش تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال شد ($P < 0/05$). تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در گروه‌های دریافت کننده‌ی فنوفیبرات و روزیگلیتازون کمتر از گروه دریافت کننده‌ی بالاترین دوز انار بود ($P < 0/05$). همچنین تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در گروه‌هایی که آنتاگونیست PPAR به همراه عصاره دریافت کردند، بیشتر از گروه دریافت کننده‌ی عصاره به تنهایی بود ($P < 0/01$).

نتیجه‌گیری: عصاره‌ی پوست انار در کاهش تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال مؤثر است و بخشی از این اثر، از طریق فعال نمودن مسیر PPAR صورت می‌گیرد.

واژگان کلیدی: ملانوما، عصاره‌ی پوست انار، سلول پیش‌ساز اندوتلیال، PPAR

ارجاع: سیف‌آبادی سیما، رفیعی لاله، ناجی اصفهانی هاجر، حق‌جوی جوانمرد شقایق. بررسی اثر مهار کننده‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی پوست انار سیاه بر روی تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال از طریق گیرنده‌های PPAR- α و PPAR- γ در موش‌های C57BL/6.

مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۳۴): ۶۹۳-۶۸۵

۱- داروساز، مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی و گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی و گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی و گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: shaghayegh.haghjoo@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد

مقدمه

ملانوما، نوعی سرطان متاستاتیک و مهاجم با پیش‌آگهی ضعیف و بسیار مقاوم به درمان است که وقوع آن به سرعت در حال افزایش می‌باشد. میزان مرگ و میر ناشی از ملانوما در سال‌های اخیر، در مقایسه با سایر سرطان‌ها افزایش بیشتری داشته است (۱). با وجود پیشرفت‌های اخیر در درمان سرطان، مدت بقای بیماران مبتلا به ملانوما بهبود چندانی نداشته است که این امر، نیاز به روش‌های جدید درمانی را نشان می‌دهد (۲). ملانوما به موازات پیشرفت به یک شبکه‌ی عروقی پیشرفته نیاز دارد تا رشد و متاستاز آن را تأمین نماید (۳). رگ‌زایی ملانوما با پیش‌آگهی ضعیف، مدت بقا و افزایش سرعت عود بیماری مرتبط می‌باشد (۴).

واسکولوژنز فرایند تشکیل عروق جدید از سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال می‌باشد (۵). سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال، سلول‌های خونی نابالغ با قابلیت تمایز به سلول‌های اندوتلیال هستند که نقش مهمی در رشد، متاستاز و رگ‌زایی تومور ایفا می‌کنند (۶). تعدادی از سیتوکین‌ها و عوامل رشد، باعث می‌شوند که سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال، از مغز استخوان به سمت گردش خون محیطی حرکت کنند و در نهایت، باعث تسهیل تشکیل عروق خونی جدید می‌شوند (۶). سطح سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال موجود در خون محیطی در بدخیمی‌ها افزایش می‌یابد (۷). به علاوه، ثابت شده است که رگ‌زایی تومور وابسته به سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در گردش می‌باشد و ایجاد اختلال در عملکرد این سلول‌ها، منجر به مهار رشد و رگ‌زایی تومور شده است (۸-۹). به دلیل اهمیت سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در روند رشد و

رگ‌زایی تومور، این سلول‌ها به عنوان هدف درمانی جدید معرفی شده‌اند (۸). در سال‌های اخیر، نقش مهم و برجسته‌ی فراورده‌های طبیعی در پیشگیری از پیشرفت تومور مشخص شده است (۱۰).

انار با نام علمی *Punica granatum*، متعلق به خانواده‌ی *Punicaceae*، منبعی غنی از ترکیبات فنولی، آنتوسیانین‌ها و تانن‌ها می‌باشد. تأثیرات مفید انار در تعدادی از بیماری‌ها شامل دیابت، چاقی، التهاب و آترواسکلروز مشخص شده است (۱۱-۱۲). تأثیر درمانی آب انار در سرطان‌های گوناگون از جمله سرطان پروستات، سینه، ریه و کولون گزارش شده است (۱۳-۱۶). به علاوه، شواهد نشان می‌دهد که انار، از طریق عوامل مؤثر بر آنژیوژنز باعث مهار سرطان می‌شود (۱۴-۱۲).

گیرنده‌های *PPAR* (*Peroxisome proliferator-activated receptor*) عوامل نسخه‌برداری فعال شده توسط لیگاند هستند و عضو خانواده‌ی گیرنده‌های هسته‌ای هورمونی می‌باشند و شامل سه ایزوفرم α ، β و γ هستند (۱۷). گیرنده‌های *PPAR- α* (*Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha*) و *PPAR- γ* (*Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma*) در سلول‌های سرطانی ملانوما در مقایسه با ملانوسیت‌های عادی بیش از حد بیان می‌شوند و آگونیست‌های *PPAR- α* و همچنین *PPAR- γ* ، باعث مهار رشد رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی می‌گردند (۱۸-۲۱). بنابراین، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثر عصاره‌ی پوست انار بر روی تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال و همچنین مکانیسم اثر آن از طریق گیرنده‌های *PPAR- α* و *PPAR- γ* انجام شد.

روش‌ها

در این مطالعه، عصاره‌ی هیدروالکی پوست انار همراه با اسید استیک جهت استخراج مؤثر آنتوسیانین‌ها مورد استفاده قرار گرفت. انار شیرین پوست سیاه یزد از گونه‌ی Punicaceae از کلکسیون باغ انار مرکز تحقیقات کشاورزی منطقه‌ی دستگرد اصفهان تهیه و نام علمی آن توسط همین مؤسسه تأیید شد. سپس پوست انارها کنده شد و پودر یکنواختی از پوست خشک شده‌ی آن‌ها تهیه گردید. ۵۰ گرم پودر پوست خشک انار با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول ۷۰ درصد حاوی ۱ درصد اسید استیک مخلوط شد و عمل به هم زدن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد ادامه داشت. سپس عصاره‌ی به دست آمده، با کاغذ صافی و تحت خلأ صاف شد.

جهت خارج کردن حلال‌های آن توسط دستگاه Eppendorf concentrator، تحت خلأ قرار داده شد و با دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد حلال‌های آن تبخیر شد. در ادامه، جهت آماده‌سازی عصاره، عصاره‌ی به دست آمده از مرحله‌ی قبل به طور جداگانه درون ویال‌های متعدد ریخته شد و این ویال‌ها جهت پودر شدن در فرایند عصاره‌گیری به مدت ۲۴ ساعت داخل دستگاه فریز درای منتقل گردید. پودر حاصل تا زمان مصرف در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۲-۲۳).

برای انجام این مطالعه، تعداد ۸۸ موش C57BL/6 نر با سن ۸-۶ هفته و وزن ۲۵ گرم به طور تصادفی به ۱۱ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. به همه‌ی موش‌ها در روز صفر مطالعه 1×10^6 سلول ملانومای B16F10 به صورت زیر جلدی تزریق شد و موش‌ها

به مدت ۱۶ روز تیمار شدند.

از روز هفتم مطالعه، گروه اول به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و ۱ میلی‌لیتر آب مقطر از طریق گاوآژ (حلال عصاره) دریافت نمود. گروه دوم تا پنجم به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را از طریق گاوآژ دریافت نمودند. گروه ششم دوز ۴۰۰ را به همراه ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم GW۶۴۷۱ (آنتاگونیست PPAR- α) حل شده در DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) به صورت داخل صفاقی دریافت نمود و گروه هفتم، دوز ۴۰۰ را به همراه T۰۰۷۰۹۰۷ ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (آنتاگونیست PPAR- γ) حل شده در DMEM به صورت داخل صفاقی دریافت نمود (۲۴-۲۵).

علت استفاده از دوزهای متعدد عصاره، بررسی رابطه‌ی دوز- پاسخ بود. گروه هشتم و نهم نیز فنوفیبرات (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و روزیگلیتازون (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به ترتیب به عنوان آگونیست‌های PPAR- α و PPAR- γ از طریق گاوآژ دریافت نمودند. گروه دهم و یازدهم نیز به ترتیب GW۶۴۷۱ و T۰۰۷۰۹۰۷ را به تنهایی دریافت نمودند. موش‌ها هر روز از جهت وجود توده‌ی قابل لمس در محل تزریق، بررسی شدند. در روز ۱۶ مطالعه، موش‌ها کشته شدند و ۱ میلی‌لیتر خون از قلب آن‌ها برای شمارش تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال گرفته شد.

تکنیک فلوسیتومتری با استفاده از دستگاه فلوسیتومتری (BD FACSCalibur، ۹۷۶۰۰۲۹۵) انجام گردید. پس از تجزیه‌ی گلبول‌های قرمز و دو

بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P < 0/050$) و با افزایش دوز از ۵۰ به ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/050$). تعداد سلول‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره به همراه آنتاگونیست‌ها، بیشتر از گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره به تنهایی بود ($P < 0/050$). تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال، در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی فنوفیرات و روزیگلیتازون، کمتر از گروه دریافت‌کننده‌ی بالاترین دوز انار بود ($P < 0/050$). آنتاگونیست‌های PPAR نیز تأثیری بر تعداد سلول‌ها نداشتند (شکل‌های ۱ و ۲).

بحث

در این مطالعه برای اولین بار، اثر عصاره‌ی پوست انار بر روی تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در سرطان ملانوما به همراه مکانیسم اثر آن بررسی شد. عصاره، در همه‌ی دوزهای استفاده شده، به طور معنی‌داری باعث کاهش تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال شد و با افزایش دوز، تعداد سلول‌ها کاهش بیشتری یافت. اما تعداد آن‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی فنوفیرات و روزیگلیتازون کمتر از گروه دریافت‌کننده‌ی بالاترین دوز انار بود. از آن جا که مهار نمودن گیرنده‌های PPAR- γ و PPAR- α منجر به افزایش تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال شد، می‌توان نتیجه گرفت که عصاره‌ی پوست انار، از طریق فعال نمودن این دو گیرنده عمل می‌نماید. بنابراین، فنوفیرات و روزیگلیتازون به عنوان آگونیست‌های PPAR- γ و PPAR- α ، بیشترین اثر را در کاهش تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال داشتند.

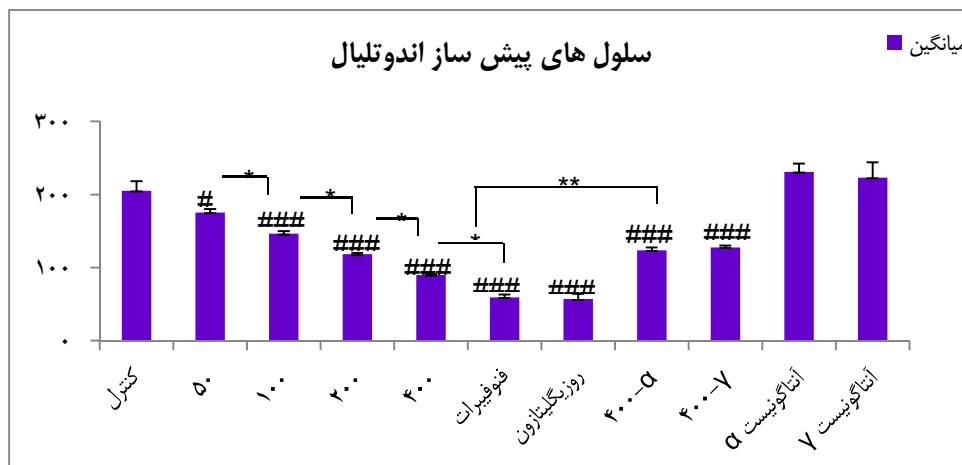
بار شستشو با PBS-EDTA (Phosphate buffered saline-Ethylenediaminetetraacetic acid) با اضافه کردن سرم خرگوش ۳ درصد و انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جایگاه‌های واکنش غیر اختصاصی بلوک شد. پس از شستشوی مجدد با PBS، تعداد مناسب سلول‌ها پس از شمارش با لام ثوبار در دو تیوب A و B ریخته شد. به تیوب‌های A از هر نمونه در محیط تاریک و روی یخ ۱۰ میکرولیتر از هر یک از آنتی‌بادی‌های CD۳۴ کنتروگه با رنگ FITC (Fluorescein isothiocyanate) و آنتی‌بادی VEGFR۲ کنتروگه با رنگ PE (Phycoerythrin) اضافه شد و پس از یک ساعت انکوباسیون، در یخچال با پارافرمالدهید ۱ درصد فیکس شد و سپس مورد مطالعه‌ی فلوسیتومتری قرار گرفت. به تیوب‌های B از هر نمونه‌ی آنتی‌بادی‌های ایزوتایپ شاهد-متناظر با آنتی‌بادی‌های مصرفی اضافه شد. نتایج شمارش سلول‌های VEGFR۲⁺ و CD۳۴⁺ با فلوسایتومتر خوانده شد (۲۶).

در پایان، نتایج اندازه‌گیری متغیرها با استفاده از آزمون One-way ANOVA (One-way analysis of variance) و پس از آزمون Tukey با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) بین گروه‌ها مقایسه شد و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقادیر $P < 0/050$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

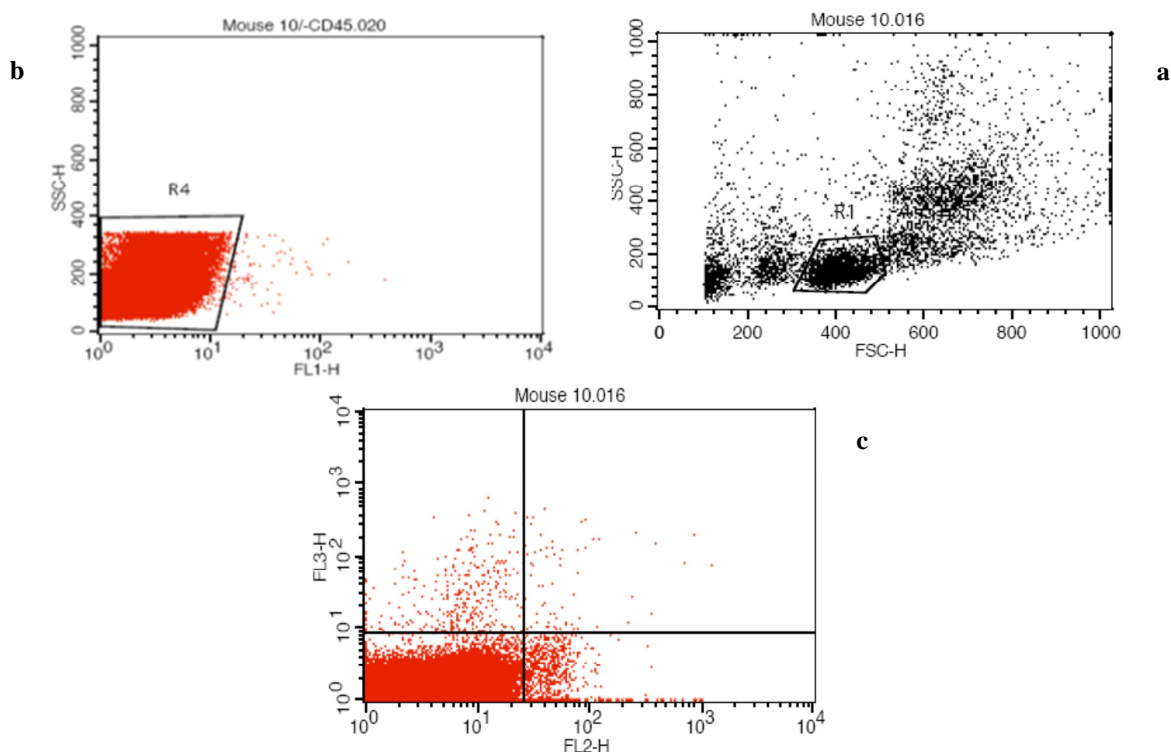
تکنیک فلوسیتومتری

تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در گروه شاهد



شکل ۱. مقایسه‌ی اثر عصاره‌ی پوست انار با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در پایان مطالعه

علامت مربع، اختلاف معنی‌دار سایر گروه‌ها را در مقایسه با گروه شاهد نشان می‌دهد. $P < 0/050$ با نماد #، $P < 0/010$ با نماد *، $P < 0/001$ با نماد ### و $P < 0/001$ با نماد **؛ علامت ستاره، اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها را نشان می‌دهد. $P < 0/050$ با نماد #، $P < 0/010$ با نماد *، $P < 0/001$ با نماد ** و $P < 0/001$ با نماد *** مشخص شده است.



شکل ۲. نمودار Dot plot مربوط به شناسایی و شمارش سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال به روش فلوسایتمتری

(a) جمعیت لنفوسیتی و مونوسیتی در Dot plot مربوط به FSC و SSC گیت شد (جایی که به طور معمول EPC یا Endothelial progenitor cells یافت می‌شوند)؛ (b) برای شناسایی سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال KDR^+ ، $CD45^-$ و $CD34^+ CD33^+$ جمعیت با استفاده از نمودار SSC/FL۱ گیت گردید؛ (c) گیت $CD45^-$ روی نمودار FL۲/FL۳ اعمال شد؛ در این حالت، ناحیه‌ی Double positive نمایانگر EPCها می‌باشد.

نموده بودند. در یک مطالعه، اثر مهار کننده‌ی آنژیوژنز پلی‌فنول‌های موجود در پوست انار، آب تخمیر شده‌ی انار و روغن دانه‌ی انار مورد بررسی قرار گرفت. این عصاره‌ها منجر به کاهش تکثیر سلول‌های اندوتلیال در محیط *In vitro*، کاهش بیان عامل محرک رشد عروقی در سلول‌های سرطان سینه و سلول‌های اندوتلیال، مهار تشکیل تیوب توسط سلول‌های اندوتلیال و مهار آنژیوژنز، در پرده‌ی کوریوآلانتوئیک جوجه شدند (۱۴).

در مطالعه‌ای دیگر، عصاره‌ی غنی از پلی‌فنول حاصل از پوست و میوه‌ی انار، منجر به کاهش تکثیر سلول‌های اندوتلیال ورید بند ناف انسان در محیط *In vitro* و در مدل حیوانی سرطان پروستات، منجر به کاهش رشد و آنژیوژنز تومور و کاهش بیان عامل محرک رشد عروقی شد (۱۳).

در مطالعه‌ای دیگر، عصاره‌ی پوست انار سیاه یزد، منجر به کاهش آنژیوژنز در مدل استاندارد *In vitro* شد (۳۰). به علاوه، انار حاوی مقادیر فراوانی از فلاونوئیدهای استروژنی مانند لوتولین است که دارای خاصیت ضد آنژیوژنز می‌باشد و همچنین، عوامل القا کننده‌ی آنژیوژنز را مهار می‌کند (۳۲-۳۱). بنابراین، از آن جا که انار در سرطان موجب مهار آنژیوژنز می‌شود، کاهش تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال توسط عصاره‌ی پوست انار در این مطالعه، منطبق بر نتایج مطالعات پیشین و نیز تکمیل کننده‌ی آن‌ها می‌باشد.

در این مطالعه، اثبات شد که عصاره‌ی پوست انار، از طریق فعال نمودن گیرنده‌های $PPAR-\alpha$ و $PPAR-\gamma$ ، منجر به کاهش تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال می‌شود. مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که

القای آنژیوژنز با افزایش تعداد سلول‌های اندوتلیال بالغ، از طریق تکثیر و تمایز سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال صورت می‌گیرد (۲۷). همچنین، سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال، ترشح عوامل آنژیوژنیک از قبیل عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF یا Vascular endothelial growth factor)، عامل رشد هیپاتوسیت (HGF یا Hepatocyte growth factor)، عامل تحریک کننده‌ی تشکیل کلونی گرانولوسیت (G-CSF یا Granulocyte-colony stimulating factor) و عامل تحریک کننده‌ی تشکیل کلونی گرانولوسیت-ماکروفاژ (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor یا GM-CSF) را افزایش می‌دهند.

همچنین، نشانگرهای اختصاصی سلول‌های اندوتلیال شامل گیرنده‌ی عامل رشد اندوتلیال عروقی (Vascular endothelial growth factor receptor ۲ یا $VEGFR_2$)، $CD31$ ، $CD133$ ، پروتئین کاده‌رین و عامل ون ویلبراند بر روی سطح سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال بیان می‌شود و به همین دلیل، در چسبندگی، نفوذ پذیری عروق و تنظیم پاسخ‌های سلولی در طی فرایند آنژیوژنز نقش مهمی ایفا می‌کنند (۲۸-۲۷).

سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال، در بهبود شرایط پاتولوژیک مانند ایسکمی با تحریک آنژیوژنز دخیل می‌باشند. به طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در فرایند آنژیوژنز و رشد تومور نقش مهمی ایفا می‌کنند (۲۹).

بر اساس بررسی‌های انجام شده، هیچ مطالعه‌ای به طور اختصاصی به اثر انار بر روی تعداد سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال در سرطان نپرداخته بود. اما برخی از مطالعات، به اثر مهار کننده‌ی آنژیوژنز انار اشاره

پیش‌ساز اندوتلیال مؤثر است و بخشی از این اثر، از طریق فعال نمودن مسیر PPAR صورت می‌گیرد. با این وجود، لازم است نتایج این مطالعه توسط مطالعات بالینی و اپیدمیولوژیک مورد تأیید قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر برگرفته از طرح پژوهشی مصوب مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی به شماره‌ی ۲۹۳۴۰۲ می‌باشد. بدین وسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بابت تأمین هزینه‌ی اجرای این طرح، قدردانی می‌گردد.

آگونیست‌های α -PPAR باعث مهار رشد چندین رده‌ی سلول سرطانی هم در محیط *In vitro* و هم در محیط *In vivo* شده‌اند و اثر مهار کننده‌ی رگ‌زایی این آگونیست‌ها، به فعال نمودن اختصاصی این گیرنده نسبت داده شده است (۱۹-۱۸). آگونیست‌های γ -PPAR هم با تأثیر بر مهاجرت سلول‌های اندوتلیال، رگ‌زایی را مهار می‌کنند. بنابراین، مسیر γ -PPAR نیز یک هدف درمانی مهم در ملانوما به شمار می‌رود (۲۱).

نتیجه‌گیری

عصاره‌ی پوست انار در کاهش تعداد سلول‌های

References

1. Abe R, Fujita Y, Yamagishi S. Angiogenesis and metastasis inhibitors for the treatment of malignant melanoma. *Mini Rev Med Chem* 2007; 7(6): 649-61.
2. Oh SH, Woo JK, Jin Q, Kang HJ, Jeong JW, Kim KW, et al. Identification of novel antiangiogenic anticancer activities of deguelin targeting hypoxia-inducible factor-1 alpha. *Int J Cancer* 2008; 122(1): 5-14.
3. Mahabeleshwar GH, Byzova TV. Angiogenesis in melanoma. *Semin Oncol* 2007; 34(6): 555-65.
4. Ribatti D, Nico B, Floris C, Mangieri D, Piras F, Ennas MG, et al. Microvascular density, vascular endothelial growth factor immunoreactivity in tumor cells, vessel diameter and intussusceptive microvascular growth in primary melanoma. *Oncol Rep* 2005; 14(1): 81-4.
5. Dome B, Hendrix MJ, Paku S, Tovari J, Timar J. Alternative vascularization mechanisms in cancer: Pathology and therapeutic implications. *Am J Pathol* 2007; 170(1): 1-15.
6. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res* 1999; 85(3): 221-8.
7. Goon PK, Lip GY, Boos CJ, Stonelake PS, Blann AD. Circulating endothelial cells, endothelial progenitor cells, and endothelial microparticles in cancer. *Neoplasia* 2006; 8(2): 79-88.
8. Mellick AS, Plummer PN, Nolan DJ, Gao D, Bambino K, Hahn M, et al. Using the transcription factor inhibitor of DNA binding 1 to selectively target endothelial progenitor cells offers novel strategies to inhibit tumor angiogenesis and growth. *Cancer Res* 2010; 70(18): 7273-82.
9. Lyden D, Hattori K, Dias S, Costa C, Blaikie P, Butros L, et al. Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. *Nat Med* 2001; 7(11): 1194-201.
10. Pfisterer PH, Wolber G, Efferth T, Rollinger JM, Stuppner H. Natural products in structure-assisted design of molecular cancer therapeutics. *Curr Pharm Des* 2010; 16(15): 1718-41.
11. Jurenka JS. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): a review. *Altern Med Rev* 2008; 13(2): 128-44.
12. Lansky EP, Newman RA. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J Ethnopharmacol* 2007; 109(2): 177-206.
13. Sartippour MR, Seeram NP, Rao JY, Moro A, Harris DM, Henning SM, et al. Ellagitannin-rich

- pomegranate extract inhibits angiogenesis in prostate cancer in vitro and in vivo. *Int J Oncol* 2008; 32(2): 475-80.
14. Toi M, Bando H, Ramachandran C, Melnick SJ, Imai A, Fife RS, et al. Preliminary studies on the anti-angiogenic potential of pomegranate fractions in vitro and in vivo. *Angiogenesis* 2003; 6(2): 121-8.
 15. Khan N, Hadi N, Afaq F, Syed DN, Kweon MH, Mukhtar H. Pomegranate fruit extract inhibits prosurvival pathways in human A549 lung carcinoma cells and tumor growth in athymic nude mice. *Carcinogenesis* 2007; 28(1): 163-73.
 16. Adams LS, Seeram NP, Aggarwal BB, Takada Y, Sand D, Heber D. Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. *J Agric Food Chem* 2006; 54(3): 980-5.
 17. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med* 2002; 53: 409-35.
 18. Panigrahy D, Kaipainen A, Huang S, Butterfield CE, Barnes CM, Fannon M, et al. PPARalpha agonist fenofibrate suppresses tumor growth through direct and indirect angiogenesis inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(3): 985-90.
 19. Yasui Y, Kim M, Tanaka T. PPAR Ligands for Cancer Chemoprevention. *PPAR Res* 2008; 2008: 548919.
 20. Eastham LL, Mills CN, Niles RM. PPARalpha/gamma expression and activity in mouse and human melanocytes and melanoma cells. *Pharm Res* 2008; 25(6): 1327-33.
 21. Freudlsperger C, Schumacher U, Reinert S, Hoffmann J. The Critical Role of PPARgamma in Human Malignant Melanoma. *PPAR Res* 2008; 2008: 503797.
 22. Ni Q, Xu G, Lu G, Gao Q, Zhou C, Zhang Y. Investigation of the stability and antioxidant properties of anthocyanins-based purple potato colorants after processing. *Afr J Biotechnol* 2012; 11(14): 3379-87.
 23. Oancea S, Draghici O. pH and thermal stability of anthocyanin-based optimised extracts of Romanian Red onion cultivars. *Czech Journal of Food Science* 2013; 31(3): 283-91
 24. Downer EJ, Clifford E, Amu S, Fallon PG, Moynagh PN. The synthetic cannabinoid R(+)-WIN55,212-2 augments interferon-beta expression via peroxisome proliferator-activated receptor-alpha. *J Biol Chem* 2012; 287(30): 25440-53.
 25. Nakajima A, Tomimoto A, Fujita K, Sugiyama M, Takahashi H, Ikeda I, et al. Inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor gamma activity suppresses pancreatic cancer cell motility. *Cancer Sci* 2008; 99(10): 1892-900.
 26. Javanmard Sh, Gheisari Y, Soleimani M, Nematbakhsh M, Monajemi A. Effect of L-arginine on circulating endothelial progenitor cells in hypercholesterolemic rabbits. *Int J Cardiol* 2010; 143(2): 213-6.
 27. Rehman J, Li J, Orschell CM, March KL. Peripheral blood "endothelial progenitor cells" are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. *Circulation* 2003; 107(8): 1164-9.
 28. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275(5302): 964-7.
 29. Kalka C, Masuda H, Takahashi T, Kalka-Moll WM, Silver M, Kearney M, et al. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(7): 3422-7.
 30. Dana N, Haghjooy Javanmard Sh, Fazilati M, Pilehvarian A. Anti-angiogenic effects of pomegranate peel extract (punica granatum l.) on human umbilical vein endothelial cells. *J Isfahan Med Sch* 2012; 30(195): 913-21. [In Persian].
 31. Fotsis T, Pepper MS, Montesano R, Aktas E, Breit S, Schweigerer L, et al. Phytoestrogens and inhibition of angiogenesis. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1998; 12(4): 649-66.
 32. Le ML. Cancer preventive effects of flavonoids-a review. *Biomed Pharmacother* 2002; 56(6): 296-301.

The Inhibitory Effect of Hydroalcoholic Extract of Black Punica Granatum Pericarp on the Number of Endothelial Progenitor Cells (EPCs) in Melanoma through Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α and γ (PPAR- α and γ) Pathways in C57BL6 Mice

Sima Seifabadi PharmD¹, Laleh Rafiee MSc², Hajar Naji-Esfahani MSc²,
Shaghayegh Haghjooy-Javanmard MD, PhD³

Original Article

Abstract

Background: Endothelial progenitor cells (EPCs) play an important role in tumor growth and angiogenesis. Punica granatum, from Punicaceae family, has demonstrated anticancer effects in different types of cancers. This study aimed to determine the effect of hydroalcoholic extract of pomegranate peel on the number of EPCs in mouse model of melanoma and also to determine its mechanism of action.

Methods: The hydroalcoholic extract of black pomegranate pericarp was prepared using 70% ethanol containing 1% acetic acid. 1×10^6 B16F10 melanoma cells were injected to each of 88 C57BL6 male mice weighing 25 g on the day 0, subcutaneously (s.c). On 7th day, mice were randomly divided into 11 groups of 8 animals. The first group (control) received distilled water. Groups second to fifth from the seventh day of the study received 50, 100, 200 and 400 mg/kg of standardized polyphenon E (PPE) via gavage. The sixth group received PPE and peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ) antagonist (5 mg/kg/day) intraperitoneally. The seventh group received PPE and PPAR- α antagonist (10 mg/kg/day) intraperitoneally. Eighth and ninth groups received fenofibrate (100 mg/kg) and rosiglitazone (100 mg/kg) as agonists of PPAR- α and PPAR- γ , respectively, via gavage. Tenth and eleventh groups received PPAR antagonists, merely. On 16th day, mice were euthanized and were bled through heart puncture for EPC enumeration via flow cytometry. In flow cytometry, CD34⁺/VEGFR2⁺ cells were enumerated.

Findings: PPE dose-dependently decreased the number of EPCs ($P < 0.05$). Number of EPCs in the groups which received fenofibrate and rosiglitazone was less than the group that received the highest dose of PPE ($P < 0.05$). Moreover, EPCs in the groups which received both PPAR antagonists and PPE, was more than the group which received PPE ($P < 0.01$).

Conclusion: In conclusion, we demonstrated that PPE is effective in reducing the number of EPCs and part of this effect is through modulation of PPAR pathway.

Keywords: Melanoma, Pomegranate pericarp extract, Endothelial progenitor cell, Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)

Citation: Seifabadi S, Rafiee L, Naji-Esfahani H, Haghjooy-Javanmard Sh. **The Inhibitory Effect of Hydroalcoholic Extract of Black Punica Granatum Pericarp on the Number of Endothelial Progenitor Cells (EPCs) in Melanoma through PPAR α and PPAR γ Pathways in C57BL6 Mice.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(334): 685-93

1- Applied Physiology Research Center AND Department of Physiology, School of Medicine AND Pharmaceutical Sciences Research Center, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Applied Physiology Research Center AND Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Applied Physiology Research Center AND Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Shaghayegh Haghjooy-Javanmard MD, PhD, Email: shaghayegh.haghjoo@gmail.com

بررسی فعالیت کاسپاز ۳، سطح سرمی گلوکاتیون و آهن در بیماران مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو

هدی رشیدیان^۱، دکتر کهن شاهانی پور^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: با توجه به فراوانی اختلال عملکرد تیروئید در شهرستان دزفول و بیماری‌هایی نظیر گریوز و تیروئیدیت هاشیموتو، این مطالعه جهت بررسی تأثیر بیماری تیروئیدیت هاشیموتو بر میزان سطح سرمی گلوکاتیون، آهن و کاسپاز ۳ در افراد مبتلا این نوع بیماری خود ایمن انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی موردی-شاهدی، ۴۴ فرد مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو و ۴۴ فرد سالم در شهرستان دزفول مورد بررسی قرار گرفتند. میزان گلوکاتیون، آهن و فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در این افراد اندازه‌گیری شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون Mann-Whitney مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان آهن (Fe) خون به شکل معنی‌داری در بیماران کمتر بود ($P = 0/041$). میزان گلوکاتیون در افراد سالم کمتر از افراد بیمار بود؛ اما آزمون تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد ($P = 0/502$). میزان فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در افراد سالم، کمتر از بیماران بود؛ اما این تفاوت معنی‌دار نبود ($P = 0/089$).

نتیجه‌گیری: در افراد مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو که در مرحله‌ی هایپوتیروئیدی قرار دارند، سطح سرمی آهن به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. همچنین، بین میانگین سرمی گلوکاتیون بیماران و افراد سالم، تفاوت معنی‌داری دیده نشد. فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در مبتلایان در مقایسه با افراد سالم اختلاف معنی‌داری نشان نداد؛ هر چند که میانگین سطح سرمی بیماران از افراد سالم بیشتر بود. احتمال می‌رود، به دلیل کاهش قابل توجه حجم غده‌ی تیروئید، حجم فعالیت‌های التهابی و در نتیجه، میزان کاسپاز نیز کاهش یابد.

واژگان کلیدی: تیروئیدیت هاشیموتو، گلوکاتیون، آهن، کاسپاز ۳

ارجاع: رشیدیان هدی، شاهانی پور کهن. بررسی فعالیت کاسپاز ۳، سطح سرمی گلوکاتیون و آهن در بیماران مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۳۴): ۶۹۴-۷۰۲

مقدمه

شیوع تیروئیدیت هاشیموتو، دو برابر شیوع دیابت نوع یک گزارش شده است. این بیماری خود ایمن، در زنان بین ۳۰-۵۰ سال بیشتر رخ می‌دهد و باعث اشکال مختلف اعم از کم‌کاری تیروئید (هاشیموتو) و پرکاری تیروئید (گریوز) می‌باشد (۱).

عوامل ژنتیکی، محیط زیست و عوامل درونی مسؤول این رویداد هستند. کمپلکس HLA (Human leukocyte antigen) و ژن تنظیم کننده‌ی لئوسیت T از عوامل ژنتیکی دخیل در ظهور این بیماری می‌باشند. عوامل محیطی مانند عفونت‌های ویروسی، مصرف دخانیات، استرس و مصرف زیاد ید

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، فلاورجان، ایران

۲- استادیار، گروه بیوشیمی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، فلاورجان، ایران

در تیروئیدیت هاشیموتو، حمله‌ی سیستم ایمنی به طور کامل مخرب است و با توجه به ویژگی‌های پاسخ ایمنی تیروئیدیت هاشیموتو، انواع آتروفیک رخ می‌دهد که شاید مرتبط با وراثت ژن HLA-DR^۳ و گواتر مرتبط با HLA-DR^۵ است (۹).

آپوپتوز، یک فرایند شیمیایی و اغلب طبیعی است که موجب مرگ سلول می‌شود. مرگ ناشی از آپوپتوز، لازمه‌ی فرایند رشد و تکامل است و برای حفظ هموستاز کل ارگانیسم ضروری به شمار می‌رود. پیام‌های مختلفی می‌توانند روند آپوپتوز را شروع کنند. این پیام‌ها موجب فعال شدن آنزیم‌های پروتئاز سیتوپلاسمی موسوم به کاسپازها می‌شوند.

کاسپازها جزء خانواده‌ی سیستمین پروتئاز هستند که نقش محوری در شروع و مرحله‌ی اجرایی آپوپتوز ایفا می‌نمایند. به دنبال فعال شدن، این آنزیم‌ها روی سوبستراهای خاصی عمل و تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیک در سلول آپوپتوتیک ایجاد می‌نمایند. بنابراین، ارزیابی فعالیت کاسپاز به عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی آپوپتوز، مطرح است. این آنزیم‌ها به طور پیوسته در تمام سلول‌ها به صورت زیموژن ساخته می‌شوند و در پاسخ به محرک‌های پرو آپوپتوتیک فعال می‌گردند. تمام کاسپازها پیوند پپتیدی خاصی را در پروتئین‌های هدف هیدرولیز می‌کنند و این پروتئین‌ها، با فعال شدن یا از دست دادن فعالیت خود، در روند مرگ سلول شرکت می‌کنند.

آپوپتوز با تغییراتی که در غشای پلاسمایی، اسکلت سلولی و DNA هسته‌ای رخ می‌دهند، مشخص می‌شوند. غشای پلاسمایی حباب‌دار می‌شود و قطعات غشایی که محتویات داخل سلولی را در بر گرفته‌اند، از آن جدا می‌شوند. اندونوکلازاها فعال

با پیشرفت این بیماری همراه است (۲). افزایش TPO (Thyropoxidase) و تیروگلوبولین و گیرنده‌ی هورمون محرک تیروئید، مشخصه‌ی اصلی این بیماری می‌باشد. اگر تیروئیدیت باعث تخریب آهسته‌ی سلول شود، منجر به کاهش سطح هورمون‌های تیروئیدی در خون می‌شود و بیمار علائم و نشانه‌های کم‌کاری تیروئید را نشان می‌دهد، اما اگر تیروئیدیت باعث آسیب سریع سلول‌های تیروئید و تخریب آن‌ها شود، هورمون‌های تیروئیدی که در غده ذخیره است، به بیرون نشت پیدا می‌کند و باعث افزایش سطح هورمون تیروئید خون می‌شود و این بیماران، علائم و نشانه‌های پرکاری را نشان می‌دهند (۱-۳).

کاهش تولید هورمون تیروئیدی در تیروئیدیت هاشیموتو، در نهایت به کاهش سوخت و ساز بدن منجر می‌شود و تأثیر منفی روی اعضای عمده‌ی بدن می‌گذارد (۴-۶). اختلال در سیستم قلبی-عروقی، اختلال در سیستم عصبی و تأخیر در رفلکس‌ها، یبوست، استسقای شکمی و در نهایت، کمای میکزدم از عوارض این بیماری می‌باشند. در تیروئیدیت هاشیموتو، گردش لنفوسیتی افزایش می‌یابد، T سل‌ها، CD^۳ و CD^۴ به سلول‌ها نفوذ می‌کنند؛ در حقیقت، تعداد لنفوسیت و ماکروفاژها زیاد می‌شود و شروع پاسخ خود ایمن به وسیله‌ی T سل‌ها و CD^۴ سلول، موجب تنظیم ترشح IFN-G (Interferon gamma) و در نتیجه، افزایش بی‌میان MHC (Major histocompatibility complex) کلاس ۲ در سلول‌های تیروئید می‌شود. در افراد مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو، گردش پادتن‌های آنتی تیروئید بسیار بالاتر است (۷-۸).

شده‌ی گلوکوتایون همراه است. شناخته شده‌ترین بیماری‌های مرتبط با نقص گلوکوتایون شامل پارکینسون، آلزایمر، سیستمیک فیروز، بیماری‌های خود ایمن و بیماری‌های قلبی- عروقی مثل فشار خون بالا و سکنه‌ی قلبی می‌باشد (۱۲).

با توجه به فراوانی بیماری تیروئیدیت هاشیموتو در شهر دزفول و عوارض ناشی از آن، پژوهش حاضر با هدف بررسی میزان آهن، گلوکوتایون و میزان فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در این بیماران انجام شد تا در صورت امکان، بتوان اطلاعات به دست آمده را در تشخیص و درمان بیماران به کار گرفت.

روش‌ها

تحقیق حاضر بر روی ۸۸ نفر (۴۴ نفر سالم و ۴۴ نفر بیمار) در محدوده‌ی سنی ۷۳-۱۵ سال با میانگین سنی ۳۷/۹۲ و انحراف معیار ۱۳/۴۶ سال انجام شد و افراد مورد بررسی ۳۰ مرد و ۵۸ زن (۲۷ مرد و ۱۷ زن در گروه شاهد و ۳ مرد و ۴۱ زن در گروه مورد) بودند. برای تشخیص افتراقی افراد بیمار از سالم، از آزمایش‌های T_3 (Triiodothyronine)، TSH (Thyroid stimulating hormone) و T_4 (Thyroxin) استفاده شد. معیار تشخیص تیروئیدیت هاشیموتو در این پژوهش، بدین صورت بود که افراد دارای آزمایش آنتی تیروئید پراکسیداز (Anti Tpo) یا (Anti-thyroid peroxidase) مثبت، با تأیید پزشک مربوط مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو شناخته شدند و افرادی که آزمایش TSH و Anti Tpo طبیعی داشتند، گروه شاهد را تشکیل دادند. بیماران در مرحله‌ی آخر بیماری و دچار کم‌کاری تیروئید بودند و میزان هورمون تیروتروپین در آن‌ها بالا و میزان

می‌گردند و DNA کروموزومی را به قطعاتی در اندازه‌ی نوکلئوزوم تخریب می‌نمایند (۱۰).

آهن، یک ماده‌ی مغذی ضروری است که در خون‌سازی و تشکیل گلبول قرمز خون نقش دارد و عضو اصلی میوگلوبین می‌باشد. سایر وظایف آهن در بدن عبارت از تبدیل بتاکاروتن به ویتامین A، برداشتن چربی‌های خون، سنتز کلاژن و تولید آنتی‌بادی است و در نتیجه، سبب مقاومت بدن در برابر عفونت می‌گردد. آهن، به طور بالقوه سمی است؛ چرا که واکنش‌ها نشان داده است که آهن می‌تواند به راحتی با اکسیژن ترکیب شود. به همین دلیل، تمام موجودات از جمله انسان، مکانیسم‌های تکامل یافته‌ای برای محدود کردن مقدار آهن دارند که می‌توانند واکنش‌های شیمیایی را کنترل کنند. از ۳-۵ گرم آهن موجود در بدن، در حدود ۶۰-۷۵ درصد در هموگلوبین، ۳ درصد در میوگلوبین و ۲۰ درصد به صورت ذخیره در کبد، طحال و مغز استخوان است. ۱۵ درصد دیگر نیز در تمام سلول‌ها و آنزیم‌های حاوی آهن پراکنده می‌باشد (۱۱).

گلوکوتایون، یک ملکول غیر پروتئینی سلول است که در غلظت‌های میلی‌مولار در بسیاری از بخش‌های سلول و اعضا یافت می‌شود. این ترکیب، نشان دهنده‌ی قرار گرفتن در معرض گزنویوتیک‌ها است. گلوکوتایون به عنوان آنتی‌اکسیدان و تعیین کننده‌ی پتانسیل اکسیداسیون سلولی است. بسیاری از بیماری‌های مزمن مرتبط با سن، دارای درجه‌ای از اختلال عملکرد میتوکندری می‌باشند که حاصل از تغییرات در هموستاز میتوکندریایی گلوکوتایون هستند. برای مثال، دیابت نوع ۲ که سند خوبی از استرس اکسیداتیو میتوکندریایی است، با کاهش سطح اکسید

هورمون‌های تترایدوتیرونین و تری‌یدوتیرونین در آن‌ها پایین بود. نمونه‌های کودکان، موارد آنمی و تالاسمی از تحقیق حذف شدند. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ با استفاده از کیت Human cysteinyl aspartate specific proteinases ۳ انجام شد که قابلیت اندازه‌گیری میزان فعالیت کاسپاز را در سرم انسان، پلاسما، خون و تمام مایعات بدن دارد. فعالیت کاسپاز با استفاده از روش الیزا (Stat fax) ساندریچ و به کمک دستگاه الیزا (Stat fax) اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه‌گیری گلوتاتیون، از کیت GSH (ELISA Kit for human glutathione) و دستگاه الیزا استفاده شد. این کیت قابلیت انجام آزمایش بر روی سرم خون، پلاسما، خون و تمام مایعات بدن انسان را دارد. اندازه‌گیری آهن به روش رنگ‌سنجی و با استفاده از کیت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر BT-۱۵۰۰ انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰

یافته‌ها

میانگین آهن در گروه مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو، $90/16 \mu\text{g/dl}$ و در گروه سالم، $107/05 \mu\text{g/dl}$ به دست آمد. مقایسه‌ی میانگین آهن بین دو گروه توسط آزمون Mann-Whitney نشان داد که میزان آهن بین افراد مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو و سالم تفاوت معنی‌دار دارد و این میزان، در بیماران کمتر است ($P = 0/041$) (جدول ۱).

همچنین، میانگین گلوتاتیون در گروه مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو، $12/13 \text{ ng/ml}$ و در گروه سالم، $9/66 \text{ ng/ml}$ به دست آمد. آزمون Mann-Whitney نشان داد که میزان گلوتاتیون بین افراد سالم و بیمار تفاوت آماری معنی‌داری نداشت؛ با این که میزان گلوتاتیون در افراد سالم کمتر از بیماران بود ($P = 0/502$) (جدول ۲).

جدول ۱. مقایسه‌ی میزان آهن بین دو گروه سالم و مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو

افراد	آهن	کمینه - بیشینه	میانگین \pm انحراف معیار
شاهد ($\mu\text{g/dl}$)	۵۶-۲۰۶	۹۴/۰	$107/05 \pm 35/08$
مورد ($\mu\text{g/dl}$)	۱۸-۱۹۰	۸۹/۵	$90/16 \pm 36/28$

جدول ۲. مقایسه‌ی میانگین (GSH) Glutathione در دو گروه سالم و مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو

افراد	GSH	کمینه - بیشینه	میانگین \pm انحراف معیار
سالم (ng/ml)	۴/۶۸-۳۷/۱۳	۶/۸۴	$9/66 \pm 7/71$
بیمار (ng/ml)	۴/۰۸-۳۸/۴۳	۸/۰۲	$12/13 \pm 9/37$

GHS: Glutathione

جدول ۳. مقایسه‌ی فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در دو گروه سالم و مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو

افراد	Casepase ^۳	کمینه - بیشینه	میانگین ± انحراف معیار
شاهد (u/l)	۱/۳۴-۱۳/۰۸	۱/۸۲	۲/۹۰ ± ۲/۹۴
مورد (u/l)	۱/۲۳-۱۲/۳۲	۲/۱۰	۳/۸۱ ± ۳/۳۳

جدول ۳، نتایج حاصل از مقایسه‌ی میانگین فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ را بین دو گروه سالم و مبتلا به بیماری تیروئیدیت هاشیموتو نشان می‌دهد. میزان فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در افراد سالم، u/l ۲/۹ و در بیماران u/l ۳/۸۱ بود. میانگین فعالیت این آنزیم در افراد سالم کمتر از بیماران بود؛ اما آزمون Mann-Whitney تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد ($P = ۰/۰۸۹$).

بحث

در این پژوهش، کاهش معنی‌داری در سطح سرمی آهن در گروه مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو نسبت به افراد سالم دیده شد ($P = ۰/۰۴۱$). Onat و همکاران در کشور ترکیه، در بررسی تأثیر متابولیسم آهن در بیماران مبتلا به اختلالات تیروئیدی اظهار کردند که میانگین سطح آهن سرم در بیماران مبتلا به پرکاری تیروئید بیشتر از میانگین آهن در افراد سالم می‌باشد و سطح آهن سرم در افراد هایپوتیروئید، به طور قابل توجهی کمتر از افراد سالم می‌باشد. همچنین، به این نتیجه رسیدند که سطح فریتین و T_3 یک ارتباط بسیار قوی و مثبت با هم دارند (۱۳).

در بررسی شیوع فقر آهن به دلیل کم‌کاری تیروئید توسط Banday و همکاران نشان داده شد که کم‌کاری تیروئید می‌تواند بر تمام اعضا اثر گذارد. در حقیقت، فقر آهن دارای چندین دلیل است که یکی از آن‌ها کم‌کاری

تیروئید می‌باشد. آن‌ها ابراز داشتند که هورمون‌های تیروئیدی بر هماتوپوئز تأثیر می‌گذارد و باعث افزایش تولید اریتروپوئین می‌گردد. در ۶۰-۲۰ درصد افرادی که دچار کم‌کاری تیروئید هستند، آنمی نیز مشاهده شده است و این گونه بیان داشتند که هر دو نقص آهن و کم‌کاری تیروئید بر هم مؤثر هستند (۱۱).

در این تحقیق، تأثیر تیروئیدیت هاشیموتو بر میزان آهن مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که میانگین آهن در افراد بیمار و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری دارد و میزان آهن در بیماران کمتر از افراد سالم است ($P = ۰/۰۴۱$) و این نتیجه با اکثر نتایج بررسی‌هایی که بر روی تیروئید انجام شده بود، همخوانی دارد. ممکن است در افراد مبتلا به هایپوتیروئیدی، به دلیل کاهش سطح سوخت و ساز و متابولیسم، نیاز بدن به آهن کاهش یابد که دو احتمال وجود دارد: (۱) در هایپوتیروئیدی، کاهش جذب آهن از مخاط روده مشاهده می‌شود؛ به دلیل این که در شرایط فیزیولوژیک تنظیم سطح آهن با میزان جذب آن همراه است. (۲) به دلیل کاهش سطح سوخت و ساز، جذب آهن کاهش می‌یابد و به دنبال آن، میزان سطح سرمی آن نیز کم می‌شود.

در این تحقیق، مقایسه‌ی فعالیت کاسپاز ۳ در بیماران مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو و افراد شاهد انجام شد. تیروئیدیت هاشیموتو، یک بیماری است که با ارتشاح سلول‌های ایمنی بدن، حضور پادتن‌های

صحرائی کاسپاز ۸ فعال کننده‌ی مسیر سیگنالینگ بود (۱۶).

شایان ذکر است هیچ تحقیقی در رابطه با تأثیر تیروئیدیت هاشیموتو بر فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ انجام نشده است. در این مطالعه، تأثیر این بیماری بر فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در بیماران شهرستان دزفول بررسی و مشاهده شد که فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در افراد سالم، کمتر از افراد بیمار می‌باشد؛ اما آزمون‌ها تفاوت معنی‌داری را در فعالیت این آنزیم نشان نداد ($P = 0/089$). احتمال می‌رود به دلیل کاهش قابل توجه حجم غده‌ی تیروئید طی بیماری، حجم فعالیت‌های التهابی نیز کاهش یابد؛ در نتیجه، فعالیت کاسپاز هم کاهش پیدا می‌کند.

Arikan و همکاران طی بررسی‌هایی به این نتیجه رسیدند که یک ارتباط بین پرکاری تیروئید و سطح رادیکال‌های آزاد و فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. در سلول‌های هوازی، فعالیت گونه‌های اکسیژن عادی هستند؛ چون توسط متابولیسم اکسیداتیو تولید می‌شوند. پرکاری تیروئید منجر به افزایش سرعت متابولیسم به خصوص سرعت متابولیسم‌های اکسیداتیو می‌شود. همچنین، اظهار کردند که در پرکاری تیروئیدی، پراکسیداسیون لیپیدی و $GSH-PX$ (Glutathione peroxidase) در بافت تیروئیدی افزایش می‌یابد (۱۷).

Halliwell به این نتیجه رسید که آنزیم گلوپاتینون پراکسیداز، می‌تواند ارابه‌کننده‌ی مکانیسم مهمی برای تنظیم سنتز هورمون تیروئید باشد (۱۸). Colzani و همکاران بیان کردند که زندگی مدرن به همراه غذاهای صنعتی، سموم محیطی، استرس مزمن، کمبود خواب و حتی فرکانس‌های الکترومغناطیسی از تلفن

ضد تیروئید و لنفوسیت‌های T خاص و اتوانتی‌ژن‌های تیروئید و تخریب ساختار فولیکولی همراه است. در حقیقت، بیش از ۳۰ درصد بیماری‌های خود ایمن را بیماری‌های خود ایمنی تیروئید تشکیل می‌دهند که تیروئیدیت هاشیموتو و تیروئیدیت گریوز نماینده‌ی شایع‌ترین و شناخته شده‌ترین انواع این بیماری‌ها هستند که در آن، پاسخ غیر طبیعی سلولی و هومورال به آنتی‌ژن فولیکولار تیروئید دیده می‌شود.

به نقل از Bretz و همکاران، Hashimoto علت اصلی کمبود هورمون در این بیماری را، از بین رفتن سلول‌های فولیکولی تیروئید از طریق آپوپتوز اعلام کرده است (۱۴). Mishunina و همکاران به این نتیجه رسیدند که برشی که کاسپاز در روند آپوپتوز ایجاد می‌کند، در نتیجه‌ی تقویت آبشار سیگنالینگ است. کاسپاز، در حقیقت مثل یک آنزیم عمل می‌کند که به تدریج، سلول و مواد ژنتیکی را هضم می‌کند و باعث تغییرات مورفولوژیک در طول آپوپتوز می‌شود. تکنیک‌های بافت‌شناسی مورد استفاده برای شواهد آپوپتوز، نشان دهنده‌ی قطعه‌قطعه شدن DNA، فعال شدن کاسپاز ۳ و بیان پروتئین‌های BAX، BCL و P53 می‌باشد (۱۵).

Bal و همکاران با بررسی پرکاری القا کننده‌ی آپوپتوز در کبد موش صحرائی از طریق فعال‌سازی مسیر گیرنده‌ی مرگ سلولی، به این نتیجه رسیدند که حالت هایپرمتابولیک در افراد مبتلا به هایپر تیروئیدیسم، در نتیجه‌ی آسیب اکسیداتیو بافت‌ها شامل قلب، کبد و ماهیچه است. این مطالعه، نشان داد که فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ در اثر تولید ROS (Reactive oxygen species) است. در کبد موش

مبتلا به تیروئیدیت هاشیموتو که در مرحله‌ی هایپوتیروئیدی قرار دارند، سطح سرمی آهن به طور معنی‌داری از گروه شاهد کمتر است.

همچنین، در افراد مبتلا، میانگین سطح سرمی گلوکوتایون در مقایسه با افراد سالم تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد.

میانگین فعالیت آنزیم کاسپاز ۳، در مقایسه با افراد سالم اختلاف معنی‌داری نشان نداد، هرچند که میانگین سطح سرمی بیماران از افراد سالم بیشتر است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارکنان آزمایشگاه طبی دکتر رشیدیان در شهر دزفول که نهایت همکاری را در اجرای این پژوهش داشتند، کمال سپاسگزاری به عمل می‌آید.

همراه و رایانه، باعث تولید بیماری‌های خود ایمنی از جمله تیروئیدیت هاشیموتو شده است که بهترین دفاع برای حفاظت از آسیب‌ها، تقویت گلوکوتایون است که مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۱۹).

در بررسی اثر بیماری تیروئیدیت هاشیموتو بر میزان گلوکوتایون در شهرستان دزفول، نشان داده شد که میزان گلوکوتایون در افراد سالم کمتر از افراد بیمار می‌باشد، اما آزمون تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P = 0/502$) و شاید به این دلیل است که در افراد هایپوتیروئیدی چون سرعت سوخت و ساز و متابولیسم کاهش یافته است، احتمال دارد سطح سرمی گلوکوتایون در حد پایه باقی بماند.

نتیجه‌گیری

به طور کلی، با توجه به نتایج این مطالعه در افراد

References

1. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, Ridgway EC. The Colorado thyroid disease prevalence study. *Arch Intern Med* 2000; 160(4): 526-34.
2. Swain M, Swain T, Mohanty BK. Autoimmune thyroid disorders-An update. *Indian J Clin Biochem* 2005; 20(1): 9-17.
3. Singh J, Bashir Sh, Hafiz Khan A, Sharma Sh, Rasool M, Rasheed A. Cytological and clinical correlation of Hashimoto's thyroiditis: a four year experience in a tertiary hospital. *International Journal of Advanced Research* 2014; 2(1): 418-21.
4. Staii A, Mirocha S, Todorova-Koteva K, Glinberg S, Jaume JC. Hashimoto thyroiditis is more frequent than expected when diagnosed by cytology which uncovers a pre-clinical state. *Thyroid Res* 2010; 3(1): 11.
5. Seth R, Mathur P, Kothiyal P. Vitamin D and thyroid: a new horizon. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences* 2014; 3(5): 315-28.
6. Chistiakov DA. Immunogenetics of Hashimoto's thyroiditis. *J Autoimmune Dis* 2005; 2(1): 1.
7. Hiromatsu Y, Satoh H, Amino N. Hashimoto's thyroiditis: history and future outlook. *Hormones (Athens)* 2013; 12(1): 12-8.
8. Yoshihara A, Yoshimura NJ, Nakachi A, Ohye H, Sato S, Sekiya K, et al. Severe thyroid-associated orbitopathy in Hashimoto's thyroiditis. Report of 2 cases. *Endocr J* 2011; 58(5): 343-8.
9. Green DR, Kroemer G. Pharmacological manipulation of cell death: clinical applications in sight? *J Clin Invest* 2005; 115(10): 2610-7.
10. Iddah MA, Macharia BN. Autoimmune thyroid disorders. *ISRN Endocrinology* 2013; 2013: 509764.
11. Banday TH, Bhat SB, Bhat SB, Shah N, Bashir Sh. To study prevalence of incipient iron deficiency in primary hypothyroidism. *Int J Res Med Sci* 2014; 2(2): 472-5.
12. Ramirez DJN, Vergara-Villaluz JC, Pilar M, Jasul GV, Anel-Quimpo JS. Prevalence of thyroid dysfunction among individuals taking glutathione supplementation: a cross-sectional study preliminary report. *Philippine Journal of Internal Medicine* 2010; 48(3): 1-6.
13. Onat A, Gonenc A, Gurcan S, Torun M. Iron metabolism in patients with impaired thyroid

- function. *J Fac Pharm Ankara* 2003; 32(4): 221-30.
14. Bretz JD, Baker JR, Jr. Apoptosis and autoimmune thyroid disease: following a TRAIL to thyroid destruction? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; 55(1): 1-11.
15. Mishunina TM, Kalinichenko OV, Tronko MD, Statsenko OA. Caspase-3 activity in papillary thyroid carcinomas. *Exp Oncol* 2010; 32(4): 269-72.
16. Bal CS, Kumar A, Chandra P. Effect of iopanoic acid on radioiodine therapy of hyperthyroidism: long-term outcome of a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(12): 6536-40.
17. Arıkan E, Sabuncu T, Sabuncu T, İynem H, Akcay T, Hatemi H. The effects of hyperthyroidism on lipid peroxidation, erythrocyte glutathione and glutathione peroxidase. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism* 2001; 5(1): 17-9.
18. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1994; 344(8924): 721-4.
19. Colzani RM, Alex S, Fang SL, Stone S, Braverman LE. Effects of iodine repletion on thyroid morphology in iodine and/or selenium deficient rat term fetuses, pups and mothers. *Biochimie* 1999; 81(5): 485-91.

Investigating the Serum Levels of Glutathione and Iron and the Activity of Caspase 3 in Patients with Hashimoto's Thyroiditis

Hoda Rashidian¹, Kahin Shahanipour PhD²

Original Article

Abstract

Background: Considering the prevalence of thyroid dysfunction and diseases such as Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease in the Dezful city, Iran, this study aimed to evaluate the effect of Hashimoto's thyroiditis on serum levels of glutathione and iron and the activity of caspase-3.

Methods: In this case-control study, 44 patients with Hashimoto's thyroiditis and 44 healthy controls were studied. The serum levels of glutathione and iron and the activity of caspase-3 were measured. The results were analyzed using Mann-Whitney test via SPSS software.

Findings: The amount of serum Fe was significantly lower in patients ($P = 0.041$). The glutathione level in healthy people was lower; but tests showed no significant difference ($P = 0.502$). The caspase-3 enzyme activity in healthy subjects was lower; but Mann-Whitney test showed no significant difference ($P = 0.089$).

Conclusion: In patients with Hashimoto's thyroiditis in hypothyroidism phase, the serum iron level was significantly lower than the control group. In addition, the mean serum glutathione level was not significantly different between the groups.

Keywords: Hashimoto's thyroiditis, Glutathione, Iron, Caspase-3

Citation: Rashidian H, Shahanipour K. Investigating the Serum Levels of Glutathione and Iron and the Activity of Caspase 3 in Patients with Hashimoto's Thyroiditis. J Isfahan Med Sch 2015; 33(334): 694-702

1- MSc Student, Department of Biochemistry, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biochemistry, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Kahin Shahanipour PhD, Email: shahanipur_k@yahoo.com

اثر تجویز هم‌زمان عامل محرک کلونی گرانولوسیت و اینترفرون آلفا بر پوکی استخوان

دکتر رویا لاری^۱، سیما جهانبخشی^۲، الهه محمدی^۳، دکتر علی میرشاهی^۳، دکتر ناصر مهدوی شهری^۴،
دکتر علی مقیمی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: پوکی استخوان، یکی از علایم پاتولوژیک عمده‌ی آرتریت روماتوئید (RA یا Rheumatoid arthritis) و برخی از سرطان‌ها است. عامل محرک کلونی گرانولوسیت (Granulocyte-colony stimulating factor یا G-CSF) و اینترفرون- α (IFN- α یا Interferon-alpha) به طور گسترده‌ای در بیماران مبتلا به سرطان به عنوان دارو استفاده می‌شود و همچنین، نقش کلیدی این عوامل در RA شناخته شده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر هم‌زمان این عوامل بر پوکی استخوان بود.

روش‌ها: برای این منظور از ۲۸ سر موش (Mus musculus) (نر، هشت هفته) که به طور تصادفی در چهار گروه ۷ تایی تقسیم شدند، استفاده شد. تیمار به صورت روزانه با تزریق زیر جلدی روزانه با آب مقطر به عنوان شاهد، IFN- α (۱۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$) و همچنین G-CSF (۲۰۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$) به همراه یا بدون IFN- α (۱۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$) به مدت ۲۸ روز انجام شد. پس از کشتن موش‌ها، رادیوگرافی استاندارد از استخوان ران گرفته شد و بررسی‌ها توسط نرم‌افزار Image J برای اندازه‌گیری تراکم استخوان فمور ران مورد استفاده قرار گرفت. همچنین، چگالی استخوان فمور ران با استفاده از MDCT (Multiple detector computed tomography) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، G-CSF تراکم استخوان را به طور موضعی در ناحیه‌ی سر و تروکانتر بزرگ در استخوان فمور کاهش داد. از طرف دیگر، IFN- α به تنهایی موجب افزایش تراکم استخوان در ناحیه‌ی تروکانتر بزرگ و همچنین افزایش حجم استخوان تراکولار شد. این عامل همراه با G-CSF به شدت تراکم استخوان را افزایش داد و همچنین موجب افزایش حجم استخوان تراکولار شد.

نتیجه‌گیری: تجویز IFN- α می‌تواند در کاهش پوکی استخوان در اثر G-CSF، در شرایط التهابی و درمانی مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: پوکی استخوان، Interferon-alpha، Granulocyte-colony stimulating factor، رادیوگرافی، Multiple detector computed tomography

ارجاع: لاری رویا، جهانبخشی سیما، محمدی الهه، میرشاهی علی، مهدوی شهری ناصر، مقیمی علی. اثر تجویز هم‌زمان عامل محرک کلونی

گرانولوسیت و اینترفرون آلفا بر پوکی استخوان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۳۴): ۷۱۳-۷۰۳

مقدمه

پوکی استخوان در شرایط پاتولوژیک مثل بیماری‌های متابولیک و التهابی، حاصل ازدیاد و فعالیت

استئوکلاست می‌باشد. عوامل التهابی از عواملی هستند که با تأثیر بر روی استئوکلاست‌ها، خوردگی استخوان در حالت‌های پاتولوژیک مانند رماتیسم

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- استادیار، گروه علوم درمانگاهی- بهداشت و پیشگیری بیماری‌های دامی، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۴- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

مفصلی را کنترل می‌کنند. خوردگی استخوان، می‌تواند به صورت محلی و یا عمومی بروز کند که در هر صورت، عواقب آن هیپرکلسمی و عدم تعادل مواد معدنی است که منجر به درد، ساییده شدن استخوان و در نهایت شکستگی استخوان و حتی مرگ بر اثر آن می‌شود (۱). در این مطالعه، اثر عوامل محرک کلونی گرانولوسیت یا (Granulocyte-colony stimulating factor) یا (G-CSF) و اینترفرون-الفای (IFN- α) بر روی پوکی استخوان بررسی شد. این عوامل به طور وسیعی در بیماران مبتلا به سرطان به عنوان دارو استفاده می‌شوند و همچنین نقش کلیدی آن‌ها در بیماری آرتریت روماتوئید (روماتیسم مفصلی) اثبات شده است (۲).

G-CSF یکی از سایتوکاین‌های خون‌ساز است که به طور عمده توسط سلول‌های مونوسیت و ماکروفاژ تولید می‌شود (۳). گیرنده‌ی این عامل در انواع سلول‌ها از جمله مونوسیت‌ها و ماکروفاژها بیان می‌شود و اتصال گیرنده با عامل G-CSF، موجب تکثیر و تمایز این سلول‌ها می‌شود (۳). اگر چه در حالت طبیعی، میزان بیان G-CSF بسیار پایین است (۴) و موش‌های فاقد عامل G-CSF ($G-CSF^{-/-}$)، عارضه‌ی پاتولوژیکی عمده‌ای به جز نوتروپنی مزمن نشان ندادند (۵).

گزارش‌های متعدد، بیانگر افزایش بیان عامل G-CSF در بیماری‌های التهابی نظیر آرتریت روماتوئید می‌باشد (۶-۷). تحقیقات نشان داده است که افزایش در سرم و مایع سینوویال بیماران آرتریت روماتوئید، با شدت بیماری نسبت مستقیم دارد (۴). این عامل به عنوان یک عامل کلیدی در پاتوژنز بیماری آرتریت روماتوئید مطرح شده است (۷).

از طرف دیگر، عامل G-CSF به طور گسترده به

عنوان دارو در طول شیمی درمانی سرطان استفاده می‌شود. تزریق زیر جلدی G-CSF تکثیر سلول‌های خون‌ساز اولیه شامل میلوبلاست‌ها، پرومیلوبلاست‌ها و میلوپوسیت‌ها را تحریک می‌کند. همراه با این تغییر، فراخوانی سلول‌های پیش‌ساز اولیه که در مغز استخوان و طحال به وجود آمده‌اند نیز وجود دارد. به عبارت دیگر، این عامل موجب افزایش آزادسازی سلول‌های بنیادی خون‌ساز به گردش خون محیطی می‌شود. این اثر در تکثیر و کشت سلول‌های خونی جهت انتقال خون به کار گرفته می‌شود و در جهت مقابله با انواع عفونت‌های بعد از شیمی درمانی استفاده می‌گردد (۸-۹). این عامل در ایران نیز به طور گسترده استفاده می‌شود.

در محدود تحقیقات انجام شده در زمینه‌ی اثر بر روی پوکی استخوان، نشان داده شده است که درمان طولانی مدت با G-CSF باعث افزایش قابل توجه استئوپروز می‌باشد که با کاهش تراکم معدنی استخوان همراه است. شواهدی وجود دارد که استئوپروز، با تحریک فعالیت استئوکلاست همراه است (۱۰). G-CSF تعداد استئوکلاست‌ها را در موش افزایش می‌دهد و موجب افزایش سطح Deoxyypyridinoline ادرار در انسان است (۱۱). در موش‌های ترنسژنیک برای G-CSF افزایش تعداد استئوکلاست‌ها و بروز پوکی استخوان مشاهده شده است (۱۰).

برای افزایش استئوکلاست‌ها توسط G-CSF، مکانیسم‌های متعددی پیشنهاد شده است. G-CSF باعث افزایش سلول‌های مغز استخوان و به دنبال آن، افزایش گروه‌های پیش‌ساز مونوسیتی سازنده‌ی استئوکلاست می‌شود (۱۲). علاوه بر این، G-CSF به طور مستقیم موجب ازدیاد استئوکلاست و فعالیت آن

افزایش تراکم استخوان در بیماران هیپاتیت B و C می‌شود (۲۱-۲۰). این اثر، همچنین در بیماران لوپوس اریتماتوس سیستمیک نیز مشاهده و پیشنهاد شده است که IFN- α سلول‌های اجدادی مونوسیت/ماکروفاژی را به سمت تمایز به سلول‌های دندریتیک هدایت می‌کند و از این طریق، موجب کاهش تمایز استئوکلاست‌ها می‌شود و در نتیجه، کاهش پوکی استخوان در این بیماران را به دنبال دارد (۲۲). در این مطالعه، اثر G-CSF بر تراکم استخوان مورد بررسی قرار گرفت و همچنین بررسی شد که «آیا هم‌زمانی مصرف IFN- α و G-CSF می‌تواند موجب جلوگیری از کاهش تراکم استخوان شود؟».

روش‌ها

در این پژوهش، ۲۸ سر موش (*Mus musculus*) جنس نر بالغ (سن ۸ هفته و محدوده‌ی وزنی ۳۳-۳۰ گرم) از حیوان‌خانه‌ی دانشگاه علوم پزشکی مشهد گرفته شد. حیوانات مورد آزمایش به صورت گروه‌های ۷ تایی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف، محیطی با دمای 21 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد، چرخه‌ی روشنایی به $12:12$ ساعت و رطوبت 50 ± 5 درصد نگهداری شدند. آب و غذای مورد نیاز آن‌ها به صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار گرفت. تمام مراحل آزمایش با رعایت اصول اخلاقی و مصوبات مربوط به اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

تزریق صفاقی در ۲۸ روز متوالی به شرح زیر انجام شد: به گروه یک، G-CSF ($200 \mu\text{g/Kg}$) تزریق شد. به گروه‌های دوم و سوم، اینترفرون آلفا ($10 \mu\text{g/Kg}$) \pm G-CSF ($200 \mu\text{g/Kg}$) تزریق شد. به حیوانات در گروه شاهد، حامل (آب مقطر) تنها

در *In vitro* می‌گردد (۱۳). در موش، این عامل منجر به کاهش در تعداد استئوبلاست‌ها در استخوان و همچنین کاهش سطح قابل توجهی از کموکاین‌ها و استئوکلسین تولید شده توسط استئوبلاست‌ها می‌شود. این داده‌ها نشان می‌دهد که G-CSF باعث کاهش فعالیت استئوبلاست‌ها در محیط *In vivo* می‌شود (۱۴).

از طرف دیگر، اینترفرون‌ها به عنوان عوامل ضد التهابی شناخته می‌شوند (۱۵). این عوامل، در مهار تکثیر سلول‌ها نقش دارند. در این ویژگی اینترفرون آلفا و بتا از اینترفرون گاما قوی‌تر هستند. تأثیر دیگر اینترفرون، افزایش بروز مولکول‌های MHC (Major histocompatibility complex) بر سطح سلول‌ها است. IFN- α جهت مصرف بالینی در نئوپلاسم‌های گوناگون از جمله لوسمی سلول مویی (Hairy cell leukemia)، لوسمی میلوژن مزمن (Chronic myelogenous leukemia)، ملانوم بدخیم (Malignant melanoma)، سارکوم کاپوزی (Kaposi sarcoma) و عفونت‌های هیپاتیت B و C مورد استفاده قرار گرفته است (۱۶). همچنین در کارسینوم سلول کلیوی (Renal cell carcinoma)، به طور وسیعی استفاده می‌شود (۱۷).

IFN- α در محیط *In vitro* موجب کاهش استئوکلاستورژن می‌شود. هنگامی که سلول‌های اجدادی استئوکلاست انسانی در محیط تمایزی استئوکلاست همراه با IFN- α قرار گرفتند، میزان تمایز به استئوکلاست کاهش داشت (۱۸). همچنین، عدم وجود گیرنده‌ی IFN نوع یک در موش، موجب افزایش تمایز استئوکلاست‌ها در سلول‌های اجدادی آن‌ها می‌شود (۱۹).

در شرایط *In vivo* مصرف IFN- α موجب

تزریق شد. وزن هر حیوان در ابتدا و انتهای آزمایش ثبت شد. بعد از اتمام این دوره، حیوانات در دستگاه دسیکاتور و با رعایت اصول اخلاقی بعد از آخرین تزریق کشته شدند و استخوان ران پای راست بلافاصله بعد از خروج و پاک‌سازی، جهت سنجش تراکم استخوان در دمای 20°C - نگهداری شد. استخوان ران پای چپ، جهت مطالعات بافتی استفاده گردید.

راديوگرافي كل استخوان

تراکم در استخوان فمور پس از حذف بافت نرم اطراف استخوان، اندازه‌گیری شد. برای سنجش تراکم کل استخوان، رادیوگرافی جانبی فمور با استفاده از یک دستگاه اشعه‌ی X (Siemens® MULTIX TOP) و فیلم ماموگرافی با وضوح بالا Kodak® به دست آمد. آلومینیوم Step-wedge شامل 15 Step با افزایش ضخامت 0.25 mm در هر Step، در یک موقعیت ثابت در نوار رادیوگرافی در همان سطح به عنوان مبنا در نظر گرفته شد و به طور هم‌زمان، با استخوان‌ها در معرض اشعه قرار گرفت. در تصویر نهایی با استفاده از نرم‌افزار Image J، شدت متوسط پیکسل برای هر قسمت به نسبت اندازه‌گیری شدت جذب آلومینیوم محاسبه شد. برای جلوگیری از تغییرات جزئی ناشی از پیکسل‌های غیر اختصاصی، مربع بر روی صفحه‌ی نمایش خالی (بدون استخوان) قرار داده شد و به عنوان 0 mm در نظر گرفته شد. تمام اندازه‌گیری‌های بعدی ساخته شده در هر تصویر، بر اساس میلی‌متر معادل آلومینیوم کالیبره شد. با استفاده از Image J، کل استخوان فمور به عنوان یک منطقه‌ی مورد نظر انتخاب و متوسط تراکم رادیوگرافی برای هر استخوان اندازه‌گیری شد و با واحد میلی‌متر آلومینیوم بیان شد. گزارش‌های قبل نشان می‌دهد که Step

سنجش تراکم استخوان

چگالی استخوان فمور ران با استفاده از MDCT (MaxViewer Neusoft, NeuViz 16, Shenyang, China) اندازه‌گیری شد. اسکن در فواصل متوالی 0.4 mm مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از نرم‌افزار دستگاه، تجزیه و تحلیل شد. دقیق‌تر بودن این روش در مقایسه با DEXA نشان داده شده است (25). همچنین، استفاده از این روش برای محاسبه‌ی BMD (Bone mineral density) حیوانات کوچک در گذشته توسط Wang و همکاران گزارش شده است (26).

مطالعات بافت‌شناسی

جهت بررسی تغییرات بافتی حاصل از تیمارهای انجام شده، ناحیه‌ی اپی‌فیز دیستال فمور پای چپ مورد استفاده قرار گرفت. در این تحقیق، از فیکساتور فرمالین 10 درصد جهت تثبیت نمونه‌ها استفاده شد. به منظور گرفتن کلسیم و نرم کردن بافت استخوان مورد نظر (فمور پای چپ)، از محلول اسید نیتریک 10 درصد (به مدت سه تا چهار روز همراه با تعویض روزانه‌ی محلول گیرنده‌ی کلسیم) استفاده شد. بافت فمور مورد نظر پس از نرم شدن، توسط تیغ به سه قسمت مجزا تقسیم شد. بخش اپی‌فیز دیستال فمور جدا شد و به جهت رفع اثر اسید نیتریک، برای مدت یک روز در محلول سولفات سدیم 5 درصد و سپس به مدت یک روز در جریان آب جاری قرار گرفت. بعد از این مرحله، بافت‌ها وارد مرحله‌ی آب‌گیری با درجات صعودی الکترولیت شامل 70، 80، 90 و 96 درصد شدند.

دو با هم ($38/78 \pm 5/06$ گرم)، در مقایسه با گروه شاهد ($39/33 \pm 6/18$ گرم)، اثرات قابل توجهی بر وزن بدن موش‌ها نداشتند.

سنجش تراکم استخوان فمور

سنجش تراکم استخوان فمور در ناحیه‌ی سر، گردن و تروکانتر بزرگ دو بعد عرضی و فرونتال مورد بررسی قرار گرفت. اثر G-CSF در کاهش تراکم استخوان در ناحیه‌ی گردن معنی‌دار نبود، اما در قسمت سر و تروکانتر بزرگ، کاهش تراکم استخوان مشاهده شد ($P < 0/050$) (شکل ۱ A و B).

با این حال، نتایج فرونتال نشان داد که IFN- α به طور قابل توجهی تراکم استخوان در ناحیه‌ی تروکانتر بزرگ فمور را افزایش داده است ($P < 0/010$) (شکل ۱ C).

همچنین، بررسی عرضی تراکم استخوان نیز نشان داد که G-CSF افزایش تراکم استخوان توسط IFN- α در تروکانتر بزرگ را کاهش می‌دهد ($P < 0/050$) (شکل ۱ C).

سنجش تراکم کل استخوان

تراکم کل استخوان نیز با روش رادیوگرافی سنجیده شد. G-CSF به تنهایی موجب کاهش معنی‌دار تراکم کل استخوان نشده بود. اما نکته‌ی قابل توجه این‌که تراکم کل استخوان در حضور IFN- α همراه با G-CSF، به صورت معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها افزایش داشت (شکل ۲).

هیستومورفومتری استخوان بر روی برش‌های

عرضی و تصادفی بخش اسفنجی استخوان فمور

برای بررسی درصد استخوان تراکولار، سطح تیغه‌های اسفنجی اندازه‌گیری شد. نسبت این سطح از

به منظور آغشتگی با پارافین، نمونه‌ها پس از خروج از بوتانول در داخل بشر حاوی پارافین مذاب در انکوباتور با دمای 56°C به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. سپس جهت قالب‌گیری، داخل قالب‌های آلومینیومی کوچک پارافین مایع ریخته شد. برش‌گیری به وسیله‌ی دستگاه میکروتوم (مدل Leitz ۱۵۱۲) انجام شد و برش‌هایی به ضخامت $5-6 \mu$ از قالب‌های پارافینی تهیه شدند. نمونه‌ها با هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی شدند.

برای بررسی اثر تیمارهای انجام شده بر مساحت تیغه‌های استخوانی بافت اسفنجی اپی‌فیز فمور، از هر گروه پنج نمونه به طور تصادفی انتخاب شد و به کمک نرم‌افزار Image J، مساحت تیغه‌ها در هر نمونه و همچنین مساحت کل بافت اسفنجی در نمونه‌ی عکس مورد نظر محاسبه شد. در پایان، مساحت تیغه‌ها به مساحت کل تقسیم و درصد سطح تیغه‌های هر نمونه محاسبه گردید.

محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و پس از بررسی توزیع طبیعی داده‌ها توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov انجام گرفت.

مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون آماری t در سطح معنی‌داری $P < 0/050$ واکاوی شد و نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم گردید.

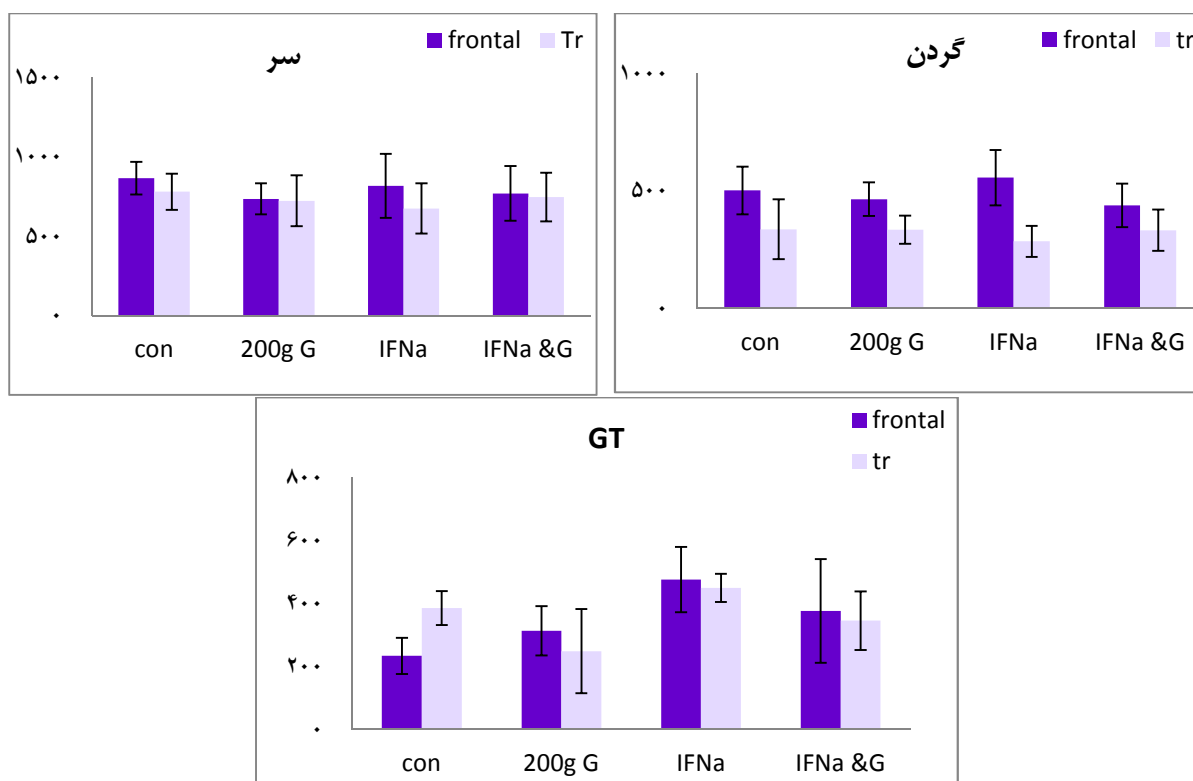
یافته‌ها

اثر IFN- α و G-CSF بر وزن بدن موش‌ها

بررسی اثر تیمارهای انجام گرفته بر موش‌ها نشان داد که هیچ کدام از عوامل G-CSF ($38/14 \pm 2/42$ گرم)، IFN- α ($39/00 \pm 4/17$ گرم) به تنهایی یا هر

نشان داد که در بخش اسفنجی استخوان فمور، افزایش حجم استخوان‌ها در مجاورت IFN- α نسبت به گروه شاهد معنی‌دار می‌باشد (شکل ۳).

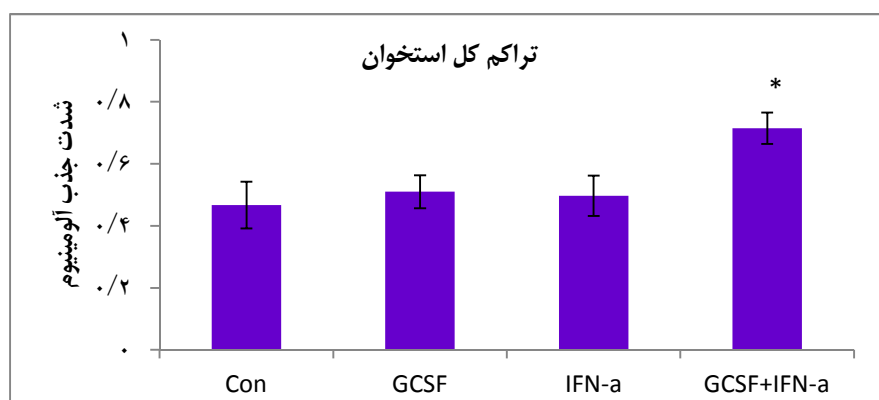
کل استخوان اسفنجی، به صورت درصد محاسبه شد، که نشان دهنده‌ی درصد سطحی است که توسط تیغه‌های تراپکولار اشغال شده است. نتایج حاصل



شکل ۱. سنجش تراکم استخوان فمور در ناحیه‌ی سر، گردن و تروکانتر بزرگ در دو بعد فرونتال (Frontal) و عرضی (Transverse)

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند. * ($P < 0/050$) و ** ($P < 0/010$) نسبت به گروه شاهد

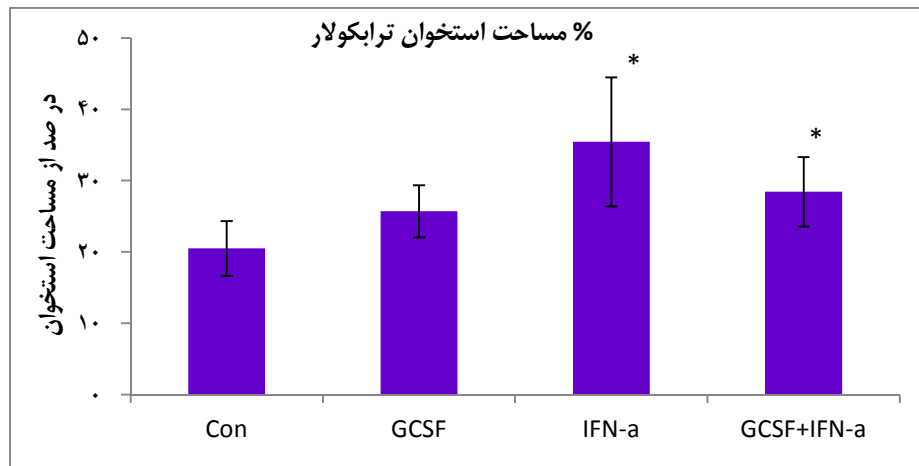
G-CSF: Granulocyte-colony stimulating factor; IFN- α : Interferon-alpha



شکل ۲. رادیوگرافی سنجش تراکم کل استخوان فمور به نسبت شدت جذب آلومینیوم

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند. * ($P < 0/050$) نسبت به گروه شاهد

G-CSF: Granulocyte-colony stimulating factor; IFN- α : Interferon-alpha



شکل ۳. هیستو مورفومتری استخوان بر روی برش‌های عرضی و تصادفی بخش اسفنجی استخوان فمور و

اندازه‌گیری درصد اشغال شده توسط تیغه‌های تراکولار

داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ ارائه شده‌اند؛ * ($P < 0.05$) نسبت به گروه کنترل

G-CSF: Granulocyte-colony stimulating factor; IFN- α : Interferon-alpha

همچنین در درمان هیپاتیت مزمن B و هیپاتیت مزمن C استفاده می‌شود (۲۱-۲۰). پوکی استخوان، از عوارض مزمن بسیاری از بیماری‌های التهابی می‌باشد (۲). تحقیقات گسترده‌ای در زمینه‌ی متابولیسم اثر IFN- α انجام شده است که به طور عمده در مدل‌های *In vitro* بوده است (۲۷). اگر چه هنوز مکانیسم دقیق عملکرد این عامل مشخص نیست؛ با این حال، اغلب تحقیقات *In vitro* و *In vivo* بیانگر کاهش پوکی استخوان توسط IFN- α می‌باشد (۲۸، ۲۰). بنابراین، در مطالعه‌ی حاضر، اثر این عامل به طور هم‌زمان با G-CSF مورد بررسی قرار گرفت، با این هدف که بررسی شود «آیا استفاده از IFN- α می‌تواند پوکی استخوان احتمالی ناشی از G-CSF را خنثی کند؟».

نتایج مطالعه‌ی حاضر، بیانگر کاهش موضعی تراکم استخوان در اثر G-CSF بود. این کاهش به طور عمده در ناحیه‌ی سر و تروکانتر بزرگ مشاهده

بحث

با وجود استفاده‌ی گسترده از عامل G-CSF در بیماران مبتلا به سرطان و همچنین، بالا رفتن میزان ترشح این عامل در بیماری‌هایی مثل رماتیسم مفصلی، اثر این عامل بر پوکی استخوان و تمایز استئوکلاست‌ها کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. با توجه به این که پوکی استخوان به عنوان یکی از پاتوژن‌های اصلی در بیماری رماتیسم مفصلی و همچنین در بعضی از انواع سرطان‌ها مانند سرطان سینه محسوب می‌شود، مطالعه در مورد اثر G-CSF بر روی ایجاد پوکی استخوان در شناخت بهتر این عارضه در این بیماری‌ها مهم است. همچنین، محدودیت تحقیقات در این زمینه و نیز استفاده‌ی گسترده از این عامل، نیاز به بررسی بیشتر در این مورد را مبرهن می‌دارد.

IFN- α نیز دارای کاربردهای بالینی متعدد است و به طور گسترده در درمان انواعی از سرطان‌ها و

اگر چه کاهش تراکم استخوان حاصل از G-CSF را در این منطقه جبران کرد، اما این افزایش تراکم از اثر IFN- α به تنهایی کمتر بود. این اثر در افزایش سطح تیغه‌های استخوانی نیز قابل ملاحظه است. اثرگذاری مهار کننده‌ی IFN- α بر روی پوکی استخوان در بیماری‌های ویروسی هپاتیت B و C مشاهده شده بود (۲۰-۲۱).

به طور کلی بر اساس یافته‌های این مطالعه، IFN- α می‌تواند تا حد زیادی کاهش تراکم استخوان ناشی از میزان بالای G-CSF را جبران کند.

نتیجه‌گیری

G-CSF موجب کاهش موضعی تراکم استخوان در ناحیه‌ی سر و تروکانتر بزرگ شد. موضعی بودن کاهش تراکم حضور، شاید به دلیل درصد بالاتر استخوان متراکم در سنجش تراکم کل استخوان ران بوده است. IFN- α به تنهایی، موجب افزایش تراکم موضعی استخوان در ناحیه‌ی تروکانتر و همچنین، موجب افزایش حجم تیغه‌های استخوانی شد. این عامل در مجاورت با G-CSF کاهش تراکم استخوان حاصل از G-CSF را در این منطقه جبران کرد. تحقیقات حاضر، تأیید کننده‌ی احتمال اثرگذاری IFN- α در شرایط التهابی مزمن پوکی استخوان می‌باشد و IFN- α این پتانسیل را دارد که به عنوان یک دارو در درمان و یا پیشگیری از پوکی استخوان در بیماری‌های مزمن مانند رماتیسم مفصلی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی با شماره‌ی

شد. دلیل تفاوت‌های جزئی در میزان اثر G-CSF بر نواحی مختلف استخوانی و معنی‌دار نبودن کاهش تراکم معدنی کل استخوان ران در اثر G-CSF را می‌توان به حضور بیشتر استخوان متراکم در سنجش تراکم کل استخوان ران نسبت داد؛ چراکه طبق تحقیقات، بیشترین و سریع‌ترین آثار کاهش تراکم در بافت اسفنجی ایجاد می‌شود و بافت متراکم نسبت به کاهش تراکم، مقاومت بیشتری نشان می‌دهد که می‌تواند به دلیل تفاوت‌های ساختاری و عملکرد نواحی مختلف بافت استخوان نسبت به هم باشد (۲۹). موضوع دیگری که احتمال می‌رود تا حدی به توجیه تفاوت پاسخ انواع بافت‌های استخوانی در تحقیق حاضر کمک کند، تفاوت چگالی معدنی نواحی مختلف استخوان است که می‌تواند دلیل اثر کم و بیش متفاوت G-CSF در نواحی استخوانی مختلف در مطالعه‌ی حاضر باشد.

IFN- α به تنهایی، موجب افزایش تراکم موضعی استخوان در ناحیه‌ی تروکانتر و همچنین، موجب افزایش حجم تیغه‌های استخوانی شده است. اگر چه اثرگذاری IFN- α بر روی استئوبلاست قطعی نیست؛ اما این عامل در شرایط *In vitro* موجب کاهش تمایز و فعالیت استئوکلاست می‌شود (۲۷). پیشنهاد شده است که این عامل، تمایز پیش‌سازهای میلوپوستی را بیشتر به سمت سلول‌های دندریتی هدایت می‌کند و در نتیجه، از تمایز به استئوکلاست ممانعت می‌کند (۳۰). در مورد مکانیسم قطعی عملکرد این عامل در شرایط *In vivo*، نیاز به تحقیقات گسترده‌تری می‌باشد.

IFN- α باعث افزایش تراکم استخوان در تروکانتر بزرگ شد و همچنین، مساحت تیغه‌های استخوانی را افزایش داد. همچنین، IFN- α در مجاورت G-CSF،

لازم می‌دانند مراتب سپاس و امتنان خود را از حوزه‌ی معاونت پژوهشی این دانشگاه ابراز نمایند.

۲/۱۷۳۳۷ مصوب ۱۳۹۰/۱/۲۸ در دانشگاه فردوسی مشهد بود و تأمین هزینه‌های آن توسط معاونت پژوهشی دانشگاه صورت گرفت. پژوهشگران بر خود

References

1. Clayton ES, Hochberg MC. Osteoporosis and osteoarthritis, rheumatoid arthritis and spondylarthropathies. *Curr Osteoporos Rep* 2013; 11(4): 257-62.
2. Sozzani S, Bosisio D, Scarsi M, Tincani A. Type I interferons in systemic autoimmunity. *Autoimmunity* 2010; 43(3): 196-203.
3. Barreda DR, Hanington PC, Belosevic M. Regulation of myeloid development and function by colony stimulating factors. *Dev Comp Immunol* 2004; 28(5): 509-54.
4. Nakamura H, Ueki Y, Sakito S, Matsumoto K, Yano M, Miyake S, et al. High serum and synovial fluid granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) concentrations in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18(6): 713-8.
5. Lawlor KE, Campbell IK, Metcalf D, O'Donnell K, van Nieuwenhuijze A, Roberts AW, et al. Critical role for granulocyte colony-stimulating factor in inflammatory arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(31): 11398-403.
6. Eyles JL, Roberts AW, Metcalf D, Wicks IP. Granulocyte colony-stimulating factor and neutrophils--forgotten mediators of inflammatory disease. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006; 2(9): 500-10.
7. Cornish AL, Campbell IK, McKenzie BS, Chatfield S, Wicks IP. G-CSF and GM-CSF as therapeutic targets in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2009; 5(10): 554-9.
8. Dale DC. Colony-stimulating factors for the management of neutropenia in cancer patients. *Drugs* 2002; 62(Suppl 1): 1-15.
9. Grigg A, Begley CG, Juttner CA, Szer J, To LB, Maher D, et al. Effect of peripheral blood progenitor cells mobilised by filgrastim (G-CSF) on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Bone Marrow Transplant* 1993; 11(Suppl 2): 23-9.
10. Kuwabara H, Wada T, Oda T, Yoshikawa H, Sawada N, Kokai Y, et al. Overexpression of the granulocyte colony-stimulating factor gene impairs bone morphogenetic protein responsiveness in mice. *Lab Invest* 2001; 81(8): 1133-41.
11. Takamatsu Y, Simmons PJ, Moore RJ, Morris HA, To LB, Levesque JP. Osteoclast-mediated bone resorption is stimulated during short-term administration of granulocyte colony-stimulating factor but is not responsible for hematopoietic progenitor cell mobilization. *Blood* 1998; 92(9): 3465-73.
12. Purton LE, Lee MY, Torok-Storb B. Normal human peripheral blood mononuclear cells mobilized with granulocyte colony-stimulating factor have increased osteoclastogenic potential compared to nonmobilized blood. *Blood* 1996; 87(5): 1802-8.
13. Hirbe AC, Uluckan O, Morgan EA, Eagleton MC, Prior JL, Piwnica-Worms D, et al. Granulocyte colony-stimulating factor enhances bone tumor growth in mice in an osteoclast-dependent manner. *Blood* 2007; 109(8): 3424-31.
14. Semerad CL, Christopher MJ, Liu F, Short B, Simmons PJ, Winkler I, et al. G-CSF potentially inhibits osteoblast activity and CXCL12 mRNA expression in the bone marrow. *Blood* 2005; 106(9): 3020-7.
15. Billiau A. Interferon beta in the cytokine network: an anti-inflammatory pathway. *Mult Scler* 1995; 1(Suppl 1): S2-S4.
16. Hoyo-Becerra C, Schlaak JF, Hermann DM. Insights from interferon-alpha-related depression for the pathogenesis of depression associated with inflammation. *Brain Behav Immun* 2014; 42: 222-31.
17. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, Dutcher J, Figlin R, Kapoor A, et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356(22): 2271-81.
18. Avnet S, Cenni E, Perut F, Granchi D, Brandi ML, Giunti A, et al. Interferon-alpha inhibits in vitro osteoclast differentiation and renal cell carcinoma-induced angiogenesis. *Int J Oncol* 2007; 30(2): 469-76.
19. Lari R, Fleetwood AJ, Kitchener PD, Cook AD, Pavasovic D, Hertzog PJ, et al. Macrophage lineage phenotypes and osteoclastogenesis--complexity in the control by GM-CSF and TGF-beta. *Bone* 2007; 40(2): 323-36.
20. Nishida N, Komatsu Y, Komeda T, Fukuda Y. Interferon-alpha improves bone resorption and osteopenia in patients with chronic hepatitis C.

- Hepatol Res 2006; 34(4): 222-7.
21. Gur A, Dikici B, Nas K, Bosnak M, Haspolat K, Sarac AJ. Bone mineral density and cytokine levels during interferon therapy in children with chronic hepatitis B: does interferon therapy prevent from osteoporosis? BMC Gastroenterol 2005; 5: 30.
 22. Mensah KA, Mathian A, Ma L, Xing L, Ritchlin CT, Schwarz EM. Mediation of nonerosive arthritis in a mouse model of lupus by interferon-alpha-stimulated monocyte differentiation that is nonpermissive of osteoclastogenesis. Arthritis Rheum 2010; 62(4): 1127-37.
 23. Takaishi Y, Ikeo T, Nakajima M, Miki T, Fujita T. A pilot case-control study on the alveolar bone density measurement in risk assessment for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. Osteoporos Int 2010; 21(5): 815-25.
 24. Boivin G, Meunier PJ. The degree of mineralization of bone tissue measured by computerized quantitative contact microradiography. Calcif Tissue Int 2002; 70(6): 503-11.
 25. Inoue K, Hamano T, Nango N, Matsui I, Tomida K, Mikami S, et al. Multidetector-row computed tomography is useful to evaluate the therapeutic effects of bisphosphonates in glucocorticoid-induced osteoporosis. J Bone Miner Metab 2014; 32(3): 271-80.
 26. Wang YX, Griffith JF, Zhou H, Choi KC, Hung VW, Yeung DK, et al. Rat lumbar vertebrae bone densitometry using multidetector CT. Eur Radiol 2009; 19(4): 882-90.
 27. Takayanagi H, Sato K, Takaoka A, Taniguchi T. Interplay between interferon and other cytokine systems in bone metabolism. Immunol Rev 2005; 208: 181-93.
 28. Wilkison M, Gauss K, Ran Y, Searles S, Taylor D, Meissner N. Type 1 interferons suppress accelerated osteoclastogenesis and prevent loss of bone mass during systemic inflammatory responses to Pneumocystis lung infection. Am J Pathol 2012; 181(1): 151-62.
 29. Johannesdottir F, Aspelund T, Reeve J, Poole KE, Sigurdsson S, Harris TB, et al. Similarities and differences between sexes in regional loss of cortical and trabecular bone in the mid-femoral neck: the AGES-Reykjavik longitudinal study. J Bone Miner Res 2013; 28(10): 2165-76.
 30. Schwarz EM, Looney RJ, Drissi MH, O'Keefe RJ, Boyce BF, Xing L, et al. Autoimmunity and bone. Ann N Y Acad Sci 2006; 1068: 275-83.

The Effects of Simultaneous Administration of Granulocyte Colony-Stimulating Factor and Interferon-alpha on Osteoporosis

Roya Lari PhD¹, Sima Jahan-Bakhshi², Elaheh Mohammadian², Ali Mirshahi PhD³,
Nasser Mahdavi-Shahri PhD⁴, Ali Moghimi PhD⁴

Original Article

Abstract

Background: Bone loss is one of the major pathological symptoms of rheumatoid arthritis (RA) and some types of cancers. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) and interferon-alpha (IFN- α) are widely used in patients with cancer as a drug and o have been known to play a key role in rheumatoid arthritis. This study aimed to investigate the effects of these factors on osteoporosis.

Methods: 28 mouse (*Mus musculus*, male, and eight weeks of age) were divided into 4 groups of 7. They were injected subcutaneously with distilled water as control, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ IFN- α and 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ G-CSF with or without 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ IFN- α per day, for 28 days. After killing mice, standardized radiographs were taken from femur bones and the Image J program was used for measurement of the femoral bone density. The total femoral bone volume was measured using multidetector computed tomography (MDCT).

Findings: G-CSF reduced the density of the head and greater trochanter of femoral bone in mice. The IFN- α alone increased bone density in the greater trochanter and the volume of the trabecular bone. This factor, in combination with G-CSF, strongly enhanced bone density and increased the volume of the trabecular bone.

Conclusion: Therefore, administration of IFN- α may inhibit G-CSF-induced bone loss in inflammatory and treatment conditions.

Keywords: Osteoporosis, Interferon- α , Granulocyte colony-stimulating factor, Radiography, Multidetector computed tomography

Citation: Lari R, Jahahn Bakhshi S, Mohammadian E, Mirshahi A, Mahdavi Shahri N, Moghimi A. **The Effects of Simultaneous Administration of Granulocyte Colony-Stimulating Factor and Interferon-alpha on Osteoporosis.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(334): 703-13

1- Assistant Professor, Department of Biology, School of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- MSc Student, Department of Biology, School of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4- Professor, Department of Biology, School of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Corresponding Author: Roya Lari PhD, Email: rlari@um.ac.ir

مدیریت تغذیه‌ای بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD): مقاله‌ی بازآموزی

سپیده محبوبی^۱، دکتر رضا روزبهانی^۲

مقاله بازآموزی

چکیده

گروه‌های هدف: متخصصین غده، متخصصین گوارش و داخلی، پزشکان عمومی، شاغلین علوم تغذیه

اهداف آموزشی

ارتقای آگاهی پزشکان عمومی در خصوص مدیریت تغذیه‌ای بیماری کبد چرب غیر الکلی
 ارتقای آگاهی متخصصین غده در خصوص مدیریت تغذیه‌ای بیماری کبد چرب غیر الکلی
 ارتقای آگاهی شاغلین علوم تغذیه در خصوص مدیریت تغذیه‌ای بیماری کبد چرب غیر الکلی
 ارتقای آگاهی پزشکان متخصص گوارش و داخلی در خصوص مدیریت تغذیه‌ای بیماری کبد چرب غیر الکلی.

کبد چرب غیر الکلی (NAFLD یا Non-alcoholic fatty liver disease) در برگرفته‌ی طیفی از اختلالات کبدی شامل استئاتوز کبدی تا استئاتوهپاتیت و سیروز می‌باشد. چاقی شکمی، دیابت ملیتوس نوع ۲، دیس‌لیپیدمی و پرفشاری خون، از عوامل خطر پیشرفت NAFLD به شمار می‌روند. در واقع، می‌توان NAFLD را بعد کبدی سندرم متابولیک در نظر گرفت. بیشتر بیماران مبتلا به NAFLD، علایمی ندارند یا علایم غیر اختصاصی مثل خستگی، ضعف و بی‌حالی را تجربه می‌کنند. استاندارد طلایی برای تشخیص NAFLD و تعیین شدت آن، بیوپسی کبدی می‌باشد. درمان بیماری شامل مصرف داروهای افزایشنده حساسیت انسولینی مثل تیازولیدین دیون‌ها به همراه مداخلات شیوه‌ی زندگی (شامل کاهش وزن متوسط، فعالیت بدنی منظم و رژیم غذایی مناسب) و کنترل عوامل خطر همراه با بیماری همچون دیابت ملیتوس نوع ۲ و دیس‌لیپیدمی می‌باشد.

واژگان کلیدی: کبد چرب غیر الکلی، تغذیه

ارجاع: محبوبی سپیده، روزبهانی رضا. مدیریت تغذیه‌ای بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD): مقاله‌ی بازآموزی. مجله دانشکده

پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۳۴): ۷۲۱-۷۱۴

مقدمه

کبد چرب غیر الکلی (NAFLD یا Nonalcoholic fatty liver disease)، با تجمع بیش از حد تری‌گلیسیرید در کبد، در غیاب مصرف بیش از حد الکل مشخص می‌شود. NAFLD در برگرفته‌ی طیفی از اختلالات کبدی شامل استئاتوز تا استئاتوهپاتیت (Nonalcoholic steatohepatitis یا NASH) و سیروز

می‌باشد (۱). NASH فرم پاتولوژیک NAFLD است که با شواهد بافت‌شناسی استئاتوز به همراه آسیب هپاتوسلولار، التهاب قابل توجه کبدی و اغلب فیروز، همراه است (۲). با افزایش اپیدمی چاقی، شیوع و اثرات NAFLD نیز افزایش می‌یابد و NASH را، عمده‌ترین دلیل بالقوه‌ی بیماری پیشرفته‌ی کبدی در دهه‌های آینده می‌نماید (۳).

۱- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات امنیت غذایی و گروه تغذیه‌ی جامعه، دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

را افزایش می‌دهد. زمانی که ظرفیت کبد برای خارج کردن تری‌گلیسیریدها اشباع می‌شود، اسیدهای چرب آزاد اضافی در کبد تجمع می‌یابند و منجر به کبد چرب می‌شوند. تجمع چربی (استئاتوز)، به تنهایی برای کبد آسیب رسان نیست، با این حال تجمع سطوح سمی اسیدهای چرب آزاد استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد شامل هیدروژن پراکسید و سوپراکسید را افزایش می‌دهد. به دنبال این مسأله، پراکسیداسیون غیر طبیعی لیپیدی رخ می‌دهد که باعث آسیب مستقیم به سلول‌های کبد، آزاد شدن فرآورده‌های سمی جانبی، التهاب و فیروز می‌شود (۱۰).

علائم بالینی

بر خلاف بیماران مبتلا به هپاتیت الکلی که به شدت بیمار هستند، افراد مبتلا به NASH، به طور معمول علائم بالینی ندارند؛ مگر این که سیروز کبدی از قبل رخ داده باشد (۱۱).

شایع‌ترین علائم NASH در صورت وجود، بسیار غیر اختصاصی هستند. این علائم ممکن است در بر گیرنده‌ی خستگی، ضعف و بی‌حالی باشد. درد در قسمت یک چهارم بالای سمت راست شکم یا نفخ، از علائم با شیوع کمتر هستند (۱۲).

هپاتومگالی در ۷۵ درصد بیماران رخ می‌دهد که ممکن است به علت چاقی به سختی تشخیص داده شود (۱۰، ۱۳). همچنان که بیماری کبدی ادامه پیدا می‌کند، بیماران ممکن است دچار اختلالات ذهنی، فیزیکی و عملکرد اجتماعی شوند. در کودکان مبتلا به کبد چرب غیر الکلی، ممکن است پیگمانتاسیون پوستی (Acanthosis nigricans) یافت شود (۱۴-۱۵).

شیوع NAFLD در تعداد کمی از مطالعات مورد بررسی قرار گرفته است. به طور کلی، شیوع جهانی NAFLD بین ۶/۳-۳۳/۰ درصد با میانگین ۲۰ درصد در کل جمعیت برآورد شده است که این عدد، بستگی به روش‌های ارزیابی بیماری دارد. از سوی دیگر، شیوع NASH، ۳-۵ درصد برآورد شده است که پایین‌تر می‌باشد (۴). چاقی شکمی، دیابت ملیتوس نوع ۲، دیس‌لیپیدمی و پرفشاری خون، عوامل خطر برای پیشرفت NAFLD هستند؛ اگر چه NAFLD خود می‌تواند پیش‌زمینه‌ای برای این بیماری‌های همراه باشد (۵).

در واقع، NAFLD می‌تواند بعد کبدی سندرم متابولیک در نظر گرفته شود که شامل چاقی، مقاومت انسولینی، پرفشاری خون و دیس‌لیپیدمی در بزرگسالان و کودکان می‌شود (۶). در افراد چاق، شیوع کبد چرب به ۵۷/۵-۷۴/۰ درصد می‌رسد. ارتباط دیابت و چاقی، ممکن است خطر ابتلا به کبد چرب را افزایش دهد؛ در میان بیماران به شدت چاق مبتلا به دیابت، ۱۰۰ درصد بیماران استئاتوز خفیف داشتند، ۵۰ درصد استئاتوهپاتیت و ۱۹ درصد سیروز داشتند (۷).

مهم‌ترین نظریه‌ای که برای پاتوژنز NASH مطرح می‌باشد، فرضیه‌ی دو ضربه‌ای (The two-hit theory) است، که شامل تجمع چربی کبدی و استرس اکسیداتیو به همراه تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود (۸). چاقی، تولید رادیکال‌های آزاد را افزایش و اکسیداسیون آن‌ها را کاهش می‌دهد (۹). علاوه بر آن، دیابت ملیتوس نوع ۲ و یا حتی مقاومت به انسولین، به تنهایی لیپولیز بافت چربی و به دنبال آن، تولید اسیدهای چرب آزاد

تشخیص

بیماران فاقد علامت با سطوح افزایش یافته‌ی آمینوترانسفرازهای سرمی، یافته‌های رادیولوژیک کبد چرب، یا هیپاتومگالی پایدار غیر قابل توضیح، مظنون به تشخیص کبد چرب غیر الکلی هستند. نسبت آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST یا Aspartate transaminase) به آلانین آمینوترانسفراز (ALT یا Alanine transaminase) به طور معمول کمتر از ۱ است، اما این نسبت، هم‌زمان با پیشرفت فیروز کبدی افزایش می‌یابد و در نتیجه، دقت تشخیصی آن در بیماران سیروزی مبتلا به NAFLD کاهش می‌یابد.

با توجه به این مسایل، تشخیص بالینی و آزمایش‌های کبدی در مقایسه با یافته‌های هیستولوژیک، ارزش تشخیصی ضعیف‌تری دارند؛ با وجود این که یافته‌های تصویربرداری در تشخیص وجود و میزان فیلتراسیون کبدی کمک کننده هستند، اما دقت کافی را برای تعیین شدت آسیب کبدی ندارند. دقیق‌ترین روش برای تشخیص بالینی NAFLD و تعیین شدت آن، بیوپسی کبدی می‌باشد (۷).

مدیریت بیماران مبتلا به NAFLD

تغذیه درمانی و مدیریت شیوه‌ی زندگی

در مطالعات، مداخلات شیوه‌ی زندگی (از جمله محدودیت‌های رژیم و فعالیت بدنی) باعث بهبود عملکرد کبدی در بیماران مبتلا به NAFLD شده است (۱۶). با توجه به افزایش شیوع چاقی و سندرم متابولیک در ایران که پیش‌گویی کننده‌های قوی برای ایجاد کبد چرب هستند، انتظار می‌رود که شیوع NAFLD/NASH نیز در آینده در ایران افزایش یابد.

(۱۷). با توجه به نقش تغذیه در بیماری کبد چرب و بیماری‌های شایع همراه، از جمله چاقی، دیس‌لیپیدمی و سندرم متابولیک، در ادامه راهکارهای تغذیه‌ای برای مدیریت کبد چرب و بیماری‌های متابولیک همراه ارائه خواهد شد. درمان NAFLD شامل کاهش وزن متوسط به همراه فعالیت بدنی منظم (بیش از ۲۰ دقیقه فعالیت هوازی)، داروهای افزایش حساسیت انسولینی مثل تیازولیدین دیون‌ها (مثل متفورمین) و درمان دیس‌لیپیدمی می‌شود. کاهش وزن سریع، می‌تواند باعث تشدید بیماری زمینه‌ای کبدی، افزایش پیشرفت NASH به سیروز و افزایش احتمال ابتلا به سنگ‌های صفراوی شود. درمان رژیمی شامل محدودیت کالری، رژیم محدود از اسیدهای چرب اشباع و به نسبت غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع توصیه می‌شود.

همچنین، رژیم غذایی بایستی از نظر کربوهیدرات‌های سریع‌الجذب (غذاهای با نمایه‌ی گلیسمیک بالا) محدود و در عوض از کربوهیدرات‌هایی که جذب آهسته‌ای دارند (به خصوص غذاهای سرشار از فیبر) غنی باشد. در این بیماران، توصیه می‌شود که از مصرف الکل خودداری کنند. پیرامون اثرات مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی بر کبد چرب، مطالعات ناکافی می‌باشد (۱۸-۱۹).

درمان هایپرلیپیدمی در مدیریت NASH می‌تواند مفید باشد، هایپرتری‌گلیسریدمی با یا بدون علامت در ۹۲ درصد بیماران مبتلا به NASH وجود دارد (۱۰). افراد مبتلا به دیس‌لیپیدمی، به پیروی از رژیم غذایی مدیترانه‌ای تشویق شوند. در این رژیم، به مصرف روغن زیتون، ماهی، میوه‌ها و سبزیجات توصیه می‌شود و به راحتی مورد پذیرش افراد قرار

چاقی، یکی از عوامل خطر مهم NAFLD است (۲۱) و میزان شیوع NAFLD با افزایش نمایه‌ی توده‌ی بدنی (BMI یا Body mass index) افزایش می‌یابد (۲۲). با توجه به این مسأله، مدیریت چاقی در افراد مبتلا به NAFLD حایز اهمیت است. مطالعات نشان داده‌اند که تغییرات کوچک در وزن و افزایش فعالیت بدنی، می‌تواند باعث بهبود قابل توجهی در وضعیت سلامت فرد شود. رژیم‌های بسیار کم کالری و رژیم‌های گرسنگی، راه حل خوبی برای کاهش وزن نیستند. بهترین روش، برآورد نیازهای پایه‌ی انرژی برای فرد و تعیین دریافت انرژی مناسب با توجه به آن می‌باشد.

مطالعات نشان می‌دهند که رژیم کاهش وزن بایستی حاوی مقادیر متوسط کربوهیدرات (۲۵-۳۵ درصد انرژی)، چربی متوسط (۳۵-۵۰ درصد انرژی) و پروتئین باشد (۲۰).

برنامه‌های کاهش وزن باید شامل ترکیبی از رژیم غذایی، فعالیت بدنی و اصلاح شیوه‌ی زندگی باشد. رایج‌ترین برنامه‌ی غذایی کاهش وزن، رژیم غذایی محدود از انرژی می‌باشد. رژیم کم کالری از نظر میزان کربوهیدرات، فردی‌سازی می‌شود (۵۵-۵۰ درصد کالری غذایی) و منابع کربوهیدرات شامل سبزیجات، میوه‌جات، لوبیاها و غلات کامل است. پروتئین رژیم غذایی محدود از کالری بایستی به میزان کافی باشد (۱۵-۲۵ درصد کالری مورد نیاز). چربی رژیم غذایی از ۳۰ درصد بیشتر نباشد.

رژیم غذایی کاهش وزن، بایستی حاوی مقادیر مازاد فیبر غذایی باشد تا دانسیته‌ی کالری غذا را کاهش و از طریق افزایش زمان تخلیه‌ی معده، حس

می‌گیرد. همچنین، شیوه‌ی زندگی درمانی (TLC یا Therapeutic lifestyle change) که در برگیرنده‌ی رژیم حاوی ۲۵-۳۵ درصد انرژی از چربی‌ها، کمتر از ۷ درصد انرژی از اسیدهای چرب اشباع و ترانس و کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم کلسترول رژیمی می‌باشد، می‌تواند مفید باشد.

رژیم غذایی بایستی غنی از فیبر کل (۱۷-۳۰ گرم در روز) و فیبر محلول (۷-۱۳ گرم در روز) و محدود از اسیدهای چرب اشباع باشد. فیبر محلول در جو دوسر، آلو برغانی، سبوس ذرت، سیب و حبوبات یافت می‌شود. منابع خالص فیبر از جمله پسیلیوم، پکتین و آگار نیز می‌توانند کلسترول سرم را به میزان ۵-۱۰ درصد کاهش دهند. به منظور کاهش دریافت اسیدهای چرب اشباع و ترانس نیز پیشنهاد می‌شود که افراد برچسب‌های غذایی را بخوانند. برای کاهش کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته‌ی پایین (LDL-c یا Low density lipoprotein-cholesterol)، مصرف روزانه‌ی ۲-۳ گرم استرول گیاهی پیشنهاد می‌شود. مصرف استرول‌های گیاهی حتی در کسانی که استاتین‌ها را مصرف می‌کنند، می‌تواند مفید باشد. پسته، مغز آفتاب‌گردان، دانه‌های کنجد و گندم کامل، غنی از استرول‌های گیاهی هستند. به نظر می‌رسد که مصرف اسیدهای چرب امگا-۳ توانایی کاهش سطوح تری‌گلیسیرید سرم را دارند. به این منظور، مصرف ۲-۳ واحد ماهی (به ویژه ماهی‌های چرب) و همچنین، مصرف منابع گیاهی اسیدهای چرب امگا-۳ (مثل روغن سویا، آفتاب‌گردان، کانولا و برگ‌های سبز مثل خرفه) پیشنهاد می‌شود. ماهی‌هایی مثل ساردین، مکزل، هرینگ و سالمون، غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ می‌باشند (۱۸-۲۰).

معقول و مناسبی در وعده‌ها و میان وعده‌های مصرفی فرد پخش شود. کاهش وزن به میزان ۱۰-۵ درصد وزن اولیه (همان‌طور که اشاره شد، کاهش وزن بایستی به آهستگی صورت گیرد)، محدودیت متوسط کالری (۵۰۰-۲۵۰ کیلوکالری کمتر از دریافت روزانه‌ی فرد) و یک برنامه‌ی غذایی مغذی و کافی توصیه می‌شود. خوردن صبحانه در افراد مبتلا به دیابت، می‌تواند اثرات مفیدی بر چربی خون ناشتا و حساسیت انسولینی بعد از وعده‌ی غذایی داشته باشد. بیماران مبتلا به دیابت می‌توانند از محصولات با پرچسب بدون قند (Sugar-free) استفاده کنند؛ چرا که نسبت به غذاهای معمولی مشابه، کالری پایین‌تری دارند؛ اما در عین حال، باید از زیاده‌روی در مصرف محصولات حاوی این شیرین کننده‌ها خودداری کنند (۱۸-۱۹).

نتیجه‌گیری

از آن جا که بیماری کبد چرب غیر الکلی، می‌تواند مشخصه‌ی کبدی سندرم متابولیک باشد و به طور معمول با چاقی، دیابت نوع ۲، دیس‌لیپیدمی و مقاومت انسولینی ارتباط دارد، درمان این بیماری شامل مدیریت دارویی و تغذیه‌ای بیماری‌های همراه می‌باشد. توصیه‌های کلی تغذیه‌ای شامل کاهش وزن آهسته، رژیم غذایی محدود از غذاهای با نمایه‌ی گلیسمیک بالا، چربی‌های اشباع و غنی از چربی‌های غیر اشباع و فیبر رژیمی و خودداری از مصرف الکل می‌باشد. رژیم غذایی باید با فعالیت بدنی همراه شود تا بهترین نتایج را به دنبال داشته باشد.

سیری را افزایش دهد و تا حد جزئی، کارایی جذب مواد غذایی در روده‌ی کوچک را کاهش دهد. برای رژیم‌های کمتر از ۱۲۰۰ کیلوکالری در خانم‌ها و کمتر از ۱۸۰۰ کیلوکالری در آقایان، برای تأمین نیازهای وابسته به سن، مکمل مولتی ویتامین- مواد معدنی پیشنهاد می‌شود (۱۹-۲۰).

همان‌طور که در پیش اشاره شد، دیابت نوع ۲ یکی دیگر از عوامل خطر مرتبط با NASH می‌باشد. از بین تمام بیماران مبتلا به NASH، حدود ۵۵ درصد آن‌ها به دیابت ملیتوس مبتلا هستند (۲۵-۲۳). با توجه به این مسأله، کنترل دیابت نوع ۲ می‌تواند از بروز یا پیشرفت بیماری کبد چرب در افراد مبتلا به دیابت جلوگیری کند. همانند بسیاری از بیماری‌های متابولیک دیگر، هدف اولیه برای کنترل دیابت نوع ۲، کاهش وزن در صورت لزوم و حفظ وزن سالم از طریق ترکیبی از محدودیت کالری دریافتی و افزایش سطح فعالیت بدنی روزانه می‌باشد. تغذیه درمانی، در بیماری دیابت نوع ۲ نتایج گلیسمیا را بهبود می‌بخشد و هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c) را حدود ۱-۲ درصد کاهش می‌دهد. بیماران بایستی پیرامون ماهیت پیش رونده‌ی دیابت و اهمیت کنترل گلیسمی به همراه انتخاب‌های مناسب غذایی و فعالیت بدنی همراه با داروهای ضد دیابت آموزش یابند. لازم است در ابتدای امر، یک ارزیابی کلی از وضعیت غذایی، فعالیت فیزیکی و الگوهای فعالیت فرد صورت گیرد. منبع کربوهیدرات دریافتی فرد بایستی از غلات کامل، میوه‌جات، سبزیجات و شیر کم چرب باشد و کربوهیدرات مورد نیاز روزانه‌ی فرد، باید به طور

References

- Schneider AL, Lazo M, Selvin E, Clark JM. Racial differences in nonalcoholic fatty liver disease in the U.S. population. *Obesity* (Silver Spring) 2014; 22(1): 292-9.
- Farrell GC, McCullough AJ, Day ChP. What is non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), and why is it important? In: Farrell GC, McCullough AJ, Day ChP, editors. *Non-alcoholic fatty Liver disease: a practical guide*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2015. p. 1-16.
- Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34(3): 274-85.
- Chalasanani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55(6): 2005-23.
- Adams LA, Lymp JF, St SJ, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005; 129(1): 113-21.
- Fu JF, Liang L, Zou CC, Hong F, Wang CL, Wang XM, et al. Prevalence of the metabolic syndrome in Zhejiang Chinese obese children and adolescents and the effect of metformin combined with lifestyle intervention. *Int J Obes (Lond)* 2007; 31(1): 15-22.
- Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346(16): 1221-31.
- Day CP, Saksena S. Non-alcoholic steatohepatitis: definitions and pathogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17(Suppl 3): S377-S384.
- Auwerx J, Staels B. Leptin. *Lancet* 1998; 351(9104): 737-42.
- Yu AS, Keeffe EB. Nonalcoholic fatty liver disease. *Rev Gastroenterol Disord* 2002; 2(1): 11-9.
- Menon KV, Gores GJ, Shah VH. Pathogenesis, diagnosis, and treatment of alcoholic liver disease. *Mayo Clin Proc* 2001; 76(10): 1021-9.
- James OF, Day CP. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH): a disease of emerging identity and importance. *J Hepatol* 1998; 29(3): 495-501.
- Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94(9): 2467-74.
- Rashid M, Roberts EA. Nonalcoholic steatohepatitis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30(1): 48-53.
- Roberts EA. Nonalcoholic steatohepatitis in children. *Curr Gastroenterol Rep* 2003; 5(3): 253-9.
- Hickman IJ, Jonsson JR, Prins JB, Ash S, Purdie DM, Clouston AD, et al. Modest weight loss and physical activity in overweight patients with chronic liver disease results in sustained improvements in alanine aminotransferase, fasting insulin, and quality of life. *Gut* 2004; 53(3): 413-9.
- Sohrabpour A, Rezvan H, Amini-Kafiabad S, Dayhim M, Merat S, Pourshams A. Prevalence of Nonalcoholic Steatohepatitis in Iran: A Population based Study. *Middle East J Dig Dis* 2010; 2(1): 14-9.
- Katsilambros N, Dimosthenopoulos Ch, Kontogianni MD, Manglora E, Poulika KA. *Clinical nutrition in practice*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2010.
- Mahan LK, Raymond JL, Escott-Stump S. *Krause's food and the nutrition care*. Philadelphia, PA: Elsevier; 2012.
- Escott-Stump S. *Nutrition and diagnosis-related care*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2011.
- Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology* 2010; 51(2): 679-89.
- Ruhl CE, Everhart JE. Determinants of the association of overweight with elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. *Gastroenterology* 2003; 124(1): 71-9.
- Comert B, Mas MR, Erdem H, Dinc A, Saglamkaya U, Cigerim M, et al. Insulin resistance in non-alcoholic steatohepatitis. *Dig Liver Dis* 2001; 33(4): 353-8.
- Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2001; 50(8): 1844-50.
- Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001; 120(5): 1183-92.

پرسش‌ها جهت کسب امتیاز بازآموزی

۱- کدامیک از موارد زیر را جزء مشخصه‌های سندرم متابولیک نمی‌توان در نظر گرفت؟

- ۱) دیس‌لیپیدمی
- ۲) کبد چرب
- ۳) دیابت
- ۴) چاقی

۲- کدام یک از گزینه‌های زیر پیرامون علائم NAFLD صحیح نیست؟

- ۱) افراد مبتلا به NASH به طور معمول علائم بالینی ندارند.
- ۲) علائم بیماری NAFLD اغلب اختصاصی هستند.
- ۳) در صورت ادامه‌ی بیماری کبدی، ممکن است فرد دچار اختلالات ذهنی و عملکرد اجتماعی شود.
- ۴) هپاتومگالی ممکن است به علت چاقی به سختی تشخیص داده شود.

۳- کدام یک از موارد زیر، بهترین گزینه برای مدیریت شیوه‌ی زندگی در کبد چرب می‌باشد؟

- ۱) کاهش وزن سریع به همراه فعالیت ورزشی شدید
- ۲) کاهش وزن سریع به همراه فعالیت‌های هوازی متوسط
- ۳) کاهش وزن متوسط به همراه ورزش‌های مقاومتی
- ۴) کاهش وزن متوسط به همراه فعالیت بدنی منظم و هوازی

۴- درمان رژیم‌ی کبد چرب غیر الکلی شامل می‌باشد:

- ۱) رژیم غذایی محدود از اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع
- ۲) رژیم غذایی محدود از چربی‌های اشباع و کربوهیدرات‌های با نمایه‌ی گلیسمیک پایین
- ۳) رژیم غذایی محدود از چربی‌های اشباع و حاوی کربوهیدرات‌های با نمایه‌ی گلیسمیک بالا
- ۴) رژیم‌های غذایی بسیار کم چرب و پرکربوهیدرات

۵- کدام یک از توصیه‌های زیر در شیوه‌ی زندگی درمانی (TLC) در درمان‌های پرلیپیدمی جای نمی‌گیرد؟

- ۱) حداکثر ۲۵ درصد کالری از چربی‌ها تأمین شود.
- ۲) اسیدهای چرب اشباع کمتر از ۷ درصد کالری روزانه را تشکیل دهند.
- ۳) رژیم غذایی غنی از فیبر (۳۰-۱۷ گرم در روز) باشد.
- ۴) حداکثر کلسترول دریافتی در این برنامه، ۲۰۰ میلی‌گرم در روز می‌باشد.

۶- کدام یک از گروه چربی‌های زیر، توانایی کاهش قابل ملاحظه‌ی TGs سرم را دارند؟

(۱) اسیدهای چرب اشباع

(۲) اسیدهای چرب امگا-۶

(۳) اسیدهای چرب امگا-۳

(۴) اسیدهای چرب امگا-۹

۷- در کدام رژیم غذایی کاهش وزن، مکمل مولتی ویتامین - مواد معدنی پیشنهاد می‌شود؟

(۱) رژیم‌های کمتر از ۱۸۰۰ کالری در خانم‌ها

(۲) رژیم‌های کمتر از ۱۲۰۰ کالری در خانم‌ها

(۳) رژیم‌های کمتر از ۱۲۰۰ کالری در آقایان

(۴) رژیم‌های کمتر از ۱۸۰۰ کالری در خانم‌ها و آقایان

۸- توصیه‌ی پزشک به بیماران مبتلا به دیابت پیرامون محصولات با برچسب بدون قند چیست؟

(۱) افراد مبتلا به دیابت می‌توانند به راحتی و بدون محدودیت از این محصولات به طور روزانه استفاده کنند.

(۲) این محصولات نسبت به محصولات معمول مشابه، کالری کمتری دارند، اما باید از زیاده‌روی در مصرف این محصولات خودداری شود.

(۳) این محصولات فاقد کالری هستند و می‌توانند مازاد بر کالری مورد نیاز روزانه توسط افراد مصرف شوند.

(۴) مصرف این محصولات ممنوع می‌باشد.

۹- کدام گزینه از خواص فیبر رژیمی نمی‌باشد؟

(۱) افزایش دانسیته‌ی کالری غذا

(۲) افزایش زمان تخلیه‌ی معده

(۳) افزایش احساس سیری

(۴) کاهش جزیبی کارایی جذب مواد غذایی در روده‌ی کوچک

۱۰- کدام یک جزء راهکارهای رژیمی و شیوه‌ی زندگی برای کاهش وزن افراد دچار اضافه وزن نمی‌باشد؟

(۱) رژیم‌های غذایی بسیار کم کالری

(۲) رژیم غذایی حاوی کربوهیدرات و چربی متوسط به همراه پروتئین کافی

(۳) رژیم غذایی محدود از کالری که فردی‌سازی شده باشد

(۴) همراه کردن برنامه‌ی غذایی با ورزش و اصلاحات رفتاری

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

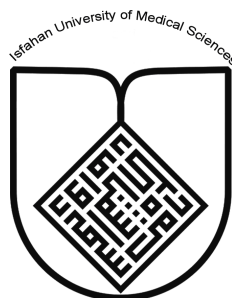
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer.* New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.
 - c. **Book:** Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology.* 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.
14. **Proof Reading:** A computer printout is sent to the corresponding author for proof reading before publication in order to avoid any mistakes. Corrections should be marked clearly and sent immediately to the Journal office.
 15. **Abbreviations and symbols:** Use only standard abbreviations. **Avoid using them in the title and abstract.** The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.
 16. The **corresponding author:** Will be supplied with 1 free issue.
 17. **Ethical guidelines:** Ethical considerations must be addressed in the Materials and Methods. Please state that **informed consent** was obtained from all human adult participants and from the parents or legal guardians of minors. Include the name of the appropriate institutional review board that approved the project. Indicate in the text that the maintenance and care of experimental animals complies with National Institutes of Health guidelines for the humane use of laboratory animals, or those of your Institute or agency.
 18. **Conflicts of interest:** Authors must acknowledge and declare any sources of funding and potential conflicting interest, such as receiving funds or fees by, or holding stocks and shares in, an organization that may profit or lose through publication of your paper. Declaring a competing interest will not lead to automatic rejection of the paper, but we would like to be made aware of it.
 19. **Page charges:** There are no charges for publication in this Journal.
 20. **Copyright:** The entire contents of the Journal of Isfahan Medical School are protected under international copyrights. This Journal is for your personal noncommercial use. You may not modify copy, distribute, transmit, display, or publish any materials contained on the Journal without the prior written permission of it or the appropriate copyright owner.
 21. **Peer review process:** All manuscripts are considered to be confidential. They are peer-reviewed by at least 3 anonymous reviewers selected by the Editorial Board. The corresponding author is notified as soon as possible of the editor decision to accept, reject, or require modifications. If the manuscript is completely acceptable according to the criteria set forth in these instructions, it is scheduled for the next available issue.
 22. Journal has entire right for accept or reject any of received manuscripts.
 23. The editors, editorial board, sponsoring organization, and publisher do not accept responsibility for the statements expressed by authors in their contributions.
 24. **Communicating with the Editorial Office:** We encourage you to communicate with the JIMS Editorial Office and to check on the status of a manuscript via journal site: (<http://journals.mui.ac.ir/jims>) only. For more information you can contact with JIMS office via E-mail address (jims@med.mui.ac.ir).

INSTRUCTION TO AUTHORS

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

Editorial Board (In alphabetical order)

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



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 33, No. 334, 2nd Week, July 2015

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:

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

Telefax: +98 31 37922291

E-mail: jims@med.mui.ac.ir

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

P.O. Box 81465-1798, Isfahan, I.R. IRAN

Telefax: +98 31 36686302

E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexes

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

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

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