

مقاله های پژوهشی

- 377 بررسی مقایسه ای تأثیر کتامین و استامینوفن وریدی در پیشگیری از درد پس از عمل جراحی دکتر مرتضی حیدری، مینا احمدی، علی مهربانی کوشکی
- 378 اثر تباط سرسختی روان شناختی با Alexithymia و شدت علائم گوارشی در مبتلایان به اختلالات عملکردی گوارشی ... مینا مظاهری
- 388 اثرات داروهای ضد التهابی ایبوپروفن و ایندومتاسین بر رده ی سلولی لوسمی میلوئیدی مزمن K562 در شرایط آزمایشگاهی افسانه باپیری، دکتر مهدی محمدزاده
- 399 بررسی اثربخشی رژیم های پر تودرمانی تقطیعی کوچک بر رده ی سلولی ACHN کارسینوما سلول کلیوی مریم خرمی زاده، دکتر سید علی حسین صابری، دکتر پروانه شکرانی، دکتر محمد جواد طهماسبی بیرگانی، دکتر سید حسین حجازی، دکتر علی رضا عموحیدری

مقاله مروری

- 409 مکانیسم های جدید مولکولی مقاومت به آنتی بیوتیک ها در باکتری ها داریوش شکری، دکتر محمد ربانی خوراسگانی

Original Articles

- 377 Comparing the Effect of Preemptive Intravenous Acetaminophen and Ketamine on Postoperative Pain Seyyed Morteza Heidari MD, Mina Ahmadi, Ali Mehrabi-Koushki MSc
- 388 The Relationship of Psychological Hardiness with Alexithymia and Severity of Gastrointestinal Symptoms in Patients with Functional Gastrointestinal Disorders Mina Mazaheri MSc
- 399 The Effects of Ibuprofen and Indomethacin on Human Chronic Myelocytic Leukemia K562 Cell Line: An In-Vitro Study Afsaneh Bapiri MSc, Mehdi Mohammadzadeh PhD
- 409 Evaluating the Effectiveness of Small Fractionation Radiotherapy Regimens on the ACHN Renal Cell Carcinoma Cell Line Maryam Khorrami-Zadeh PhD, Seyed Ali Hosein Saberi PhD, Parvaneh Shokrani PhD, Mohammad Javad Tahmasebi-Birgani PhD, Seyed Hosein Hejazi PhD, Ali Reza Amouhedari MD

Review Article

- 428 New Molecular Resistance Mechanisms against Antibiotics in Bacteria Dariush Shokri MSc, Mohammad Rabbani-Khorasgani PhD



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و سوم، شماره (۳۲۸)، هفته چهارم اردیبهشت 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

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

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
تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷
دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
وب سایت مجله: http://www.journals.mui.ac.ir/jims

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 زیست‌شناسی 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 نوروایمونولوژی، 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 آسیب‌شناسی 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 مغيثی	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

۳۶۸..... بررسی مقایسه‌ای تأثیر کتامین و استامینوفن وریدی در پیشگیری از درد پس از عمل جراحی.....
دکتر مرتضی حیدری، مینا احمدی، علی مهربانی کوشکی

۳۷۸..... ارتباط سرسختی روان‌شناختی با **Alexithymia** و شدت علائم گوارشی در مبتلایان به اختلالات عملکردی گوارشی.....
مینا مظاهری

۳۸۹..... اثرات داروهای ضد التهابی ایبوپروفن و ایندومتاسین بر رده‌ی سلولی لوسمی میلوئیدی مزمن **K562** در شرایط آزمایشگاهی.....
افسانه باپیری، دکتر مهدی محمدزاده

۴۰۰..... بررسی اثربخشی رژیم‌های پرتودرمانی تقطیعی کوچک بر رده‌ی سلولی **ACHN** کارسینومای سلول کلیوی.....
مریم خرمی‌زاده، دکتر سید علی حسین صابری، دکتر پروانه شکرانی، دکتر محمد جواد طهماسبی بیرگانی، دکتر سید حسین حجازی،
دکتر علی رضا عموحیدری

مقاله مروری

۴۱۰..... مکانیسم‌های جدید مولکولی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها.....
داریوش شکری، دکتر محمد ربانی خوراسگانی

بررسی مقایسه‌ای تأثیر کتامین و استامینوفن وریدی در پیشگیری از درد پس از عمل جراحی

دکتر مرتضی حیدری^۱، مینا احمدی^۲، علی مهربانی کوشکی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: درد پس از عمل جراحی از جمله مشکلاتی است که فرد بیمار، اعضای خانواده و کارکنان بهداشتی را درگیر می‌کند. روش جدید درمان درد پس از عمل جراحی، بی‌دردی پیش‌گیرانه است که مبتنی بر پیش‌گیری یا کاهش بروز درد قبل از رخداد آن می‌باشد. در این تحقیق، تأثیر دو داروی کتامین و استامینوفن وریدی قبل از القای بیهوشی، بر درد پس از عمل جراحی مورد مقایسه قرار گرفت.

روش‌ها: طی یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی دوسو کور، ۸۶ بیمار کاندید اعمال جراحی اندام تحتانی با کلاس I و II در طبقه‌بندی ASA (American Society of Anesthesiologists) و در محدوده‌ی سنی ۷۰-۱۵ سال، به روش تخصیص تصادفی به دو گروه ۴۳ نفری تقسیم شدند که در گروه اول، ۰/۳ mg/kg کتامین و در گروه دوم، ۱۵ mg/kg استامینوفن داخل وریدی قبل از القای بیهوشی مورد استفاده قرار گرفت. سپس، درد بیماران، بلافاصله پس از عمل جراحی و به مدت ۴۸ ساعت بعد از عمل با Visual analogue scale (VAS) مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین، میزان نیاز به مواد مخدر پس از عمل و عوارض جانبی داروها بررسی شد.

یافته‌ها: میانگین شدت درد در انتهای ریکاوری در دو گروه کتامین و استامینوفن به ترتیب $3/8 \pm 1/6$ و $6/6 \pm 1/6$ در ۶ ساعت بعد، به ترتیب $1/4 \pm 2/5$ و $4/7 \pm 1/5$ در ۱۲ ساعت بعد از عمل به ترتیب $1/2 \pm 1/5$ و $2/8 \pm 1/3$ در ۲۴ ساعت بعد از عمل به ترتیب $0/8 \pm 0/6$ و $1/3 \pm 1/3$ بود و بیماران دریافت‌کننده‌ی استامینوفن در کلیه‌ی زمان‌ها از میانگین درد پایین‌تری برخوردار بودند ($P < 0/001$). همچنین، میانگین تغییرات شدت درد تا ۲۴ ساعت بعد عمل، در دو گروه اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0/001$). میانگین مصرف مورفین در دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت ($P = 0/37$).

نتیجه‌گیری: استفاده از استامینوفن به عنوان پیش‌داروی قبل از عمل جراحی می‌تواند به میزان قابل قبولی از شدت درد و دیگر عوارض بعد عمل، همچون تهوع، بکاهد و مصرف مسکن را نیز به طور چشم‌گیری کاهش دهد؛ این دارو، عوارض جانبی کم‌تری نسبت به کتامین دارد.

واژگان کلیدی: کتامین، استامینوفن، درد پس از عمل

ارجاع: حیدری مرتضی، احمدی مینا، مهربانی کوشکی علی. بررسی مقایسه‌ای تأثیر کتامین و استامینوفن وریدی در پیشگیری از درد

پس از عمل جراحی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۸): ۳۶۸-۳۷۷

۱- استاد، مرکز تحقیقات بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۳- اپیدمیولوژیست، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

مقدمه

درد یک احساس و تجربه‌ی حسی ناخوشایند است که در ارتباط با آسیب حرارتی، مکانیکی و یا شیمیایی به بافت ایجاد می‌گردد. جراحی سبب آسیب موضعی بافت و در نتیجه آزاد شدن ترکیباتی همچون برادی‌کینین (Bradykinin)، پروستاگلاندین، سروتونین و نورتروفین‌ها می‌شود. این مواد به نوبه‌ی خود سبب فعال شدن گیرنده‌های درد در انتهای آزاد اعصاب آوران میلین دار A دلتا و فیبرهای بدون میلین C می‌گردد (۱). مطالعات نشان می‌دهد که شدت درد حاد بعد از عمل، عامل پیشگویی کننده‌ی مهمی در ایجاد درد مزمن بعد از عمل است (۱).

بی‌دردی پیش‌گیرانه به معنای مداخلات ضد دردی است که قبل از ایجاد تحریکات دردناک انجام می‌گیرد. این مداخلات از طریق بلوک اعصاب محیطی و مرکزی حین و بعد از عمل جراحی انجام می‌گیرد. اهداف بی‌دردی پیش‌گیرانه شامل کاهش درد حاد بعد از آسیب بافت، مهار تداوم درد بعد از عمل و جلوگیری از مزمن شدن درد می‌باشد (۲).

امروزه استامینوفن وریدی با نام تجاری آپوتل، یکی از داروهای شایع در اتاق‌های عمل و بخش‌های بستری جهت کنترل درد بیماران می‌باشد. این دارو از دسته‌ی دارویی ضد درد و ضد تب و شکل دارویی آن به صورت آمپول تزریقی حاوی ۱ گرم پاراستامول در ۶/۷ میلی‌لیتر است. مکانیسم این دارو جلوگیری از ترشح پروستاگلاندین‌ها در سیستم اعصاب مرکزی (Central nervous system یا CNS)، کاهش اثر ضد التهابی محیطی و کاهش تب با اثر مستقیم بر روی مرکز کنترل دما در هیپوتالاموس می‌باشد. موارد مصرف شامل تسکین موقتی دردهای خفیف تا

متوسط به خصوص بعد از اعمال جراحی و درمان سریع‌الاث‌ر و تسکین اورژانسی هاپیرترمی (افزایش دمای بدن) است (۳-۴).

کتامین یک داروی بیهوشی است که جهت بیهوشی، آرام‌بخشی و بی‌دردی استفاده می‌شود و با اثر آنتاگونیستی بر گیرنده‌های ان‌متیل دی‌آسپاراتات (N methyl D aspartate یا NMDA)، باعث پیشگیری از حساسیت اعصاب مرکزی نسبت به تحریکات دردناک و در نتیجه کاهش درد بعد از عمل جراحی می‌گردد (۵).

در مطالعات مختلف، سودمندی استامینوفن و کتامین وریدی به طور جداگانه در کنترل درد بعد از عمل بررسی شده است که در بیشتر آن‌ها این دو دارو نقش مثبتی در کاهش درد بعد از عمل داشته‌اند. با توجه به این‌که درد پس از عمل جراحی، همچنان به عنوان یک معضل بزرگ مطرح می‌باشد و تاکنون مقایسه‌ای بین این دو دارو در پیشگیری از درد بعد از عمل صورت نگرفته است، تحقیق حاضر با هدف تعیین تأثیر دو روش استفاده‌ی پیش‌گیرانه از استامینوفن وریدی و کتامین وریدی برای درد پس از عمل جراحی انجام شد.

روش‌ها

این پژوهش از نوع کارآزمایی بالینی دوسو کور بود که در سال ۹۳-۱۳۹۱ در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان به انجام رسید. جامعه‌ی آماری شامل بیماران داوطلب اعمال جراحی اندام تحتانی با بیهوشی عمومی با کلاس I و II در طبقه‌بندی ASA در (American Society of Anesthesiologists) محدودده‌ی سنی ۷۰-۱۵ سال بود.

معیارهای ورود به مطالعه شامل افراد تحت اعمال جراحی اندام تحتانی با بیهوشی عمومی، کلاس I و II در طبقه بندی ASA، محدوده سنی ۷۰-۱۵ سال، عدم سابقه ای اعتیاد به مواد مخدر، عدم نارسایی کبدی- کلیوی، عدم وجود سابقه ی تشنج، عدم حاملگی و شیردهی، عدم وجود ICP (Intracranial pressure) بالا و آب سیاه (Glaucoma)، عدم وجود تیروتوکسیکوز، عدم وجود پر فشاری خون (Hypertension)، عدم وجود عقب ماندگی ذهنی یا بیماری سایکولوژیک که ارزیابی صحیح اثرات جانبی در دو گروه را تحت تأثیر قرار دهد و عدم وجود سابقه ی آلرژی نسبت به کتامین یا استامینوفن بود.

معیارهای خروج از مطالعه نیز شامل عدم امکان انجام اندازه گیری درد و تهوع و سایر متغیرها تا پایان مطالعه به عللی مثل فوت بیمار، بروز آلرژی دارویی و بروز حوادث غیر مترقبه برای بیمار مانند اختلالات همودینامیک شدید و عدم امکان تداوم مطالعه بود.

حجم نمونه ی مورد نیاز مطالعه با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مقایسه ی دو میانگین و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، توان آزمون ۸۰ درصد، واریانس شدت درد در بیماران پس از عمل جراحی (۱/۷۷) و همچنین حداقل تفاوت معنی دار بین دو گروه که معادل ۰/۸ در نظر گرفته شد، تعداد ۴۳ نفر در هر گروه برآورد گردید.

پس از تصویب طرح تحقیقاتی و کسب رضایت نامه ی کتبی از بیماران و اخذ اجازه از کمیته ی اخلاق دانشگاه، ۸۶ نفر بیمار دارای معیارهای ورود به مطالعه به روش تخصیص تصادفی بلوکی در دو

گروه ۴۳ نفری توزیع شدند. پس از قرار گرفتن بیماران بر روی تخت جراحی، فشار خون سیستولیک و دیاستولیک و ضربان قلب اندازه گیری گردید و به عنوان پایه در نظر گرفته شد. بیماران در حین عمل جراحی تحت مانیتورینگ لازم شامل کاپنوگراف، ECG (Electrocardiography)، پالس اکسی متری و فشار خون شریانی قرار گرفتند. فشار خون سیستولیک و دیاستولیک و ضربان قلب در ۱۵ دقیقه ی اول، هر ۵ دقیقه و سپس تا انتهای جراحی هر ۱۵ دقیقه اندازه گیری و ثبت شد. القای بیهوشی با استفاده از ۵ میلی گرم بر کیلوگرم تیوپتال سدیم، ۲ میکروگرم بر کیلوگرم فنتانیل و ۰/۶ میلی گرم بر کیلوگرم آتراکوریوم انجام شد و بیماران تحت لوله گذاری تراشه قرار گرفتند. سپس بیهوشی با مخلوط گازهای اکسیژن و نیتروس اکسید با نسبت مساوی ایزوفلوران معادل MAC (Minimum alveolar concentration) و آتراکوریوم به اضافه ی مورفین با دوز ۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم ادامه پیدا کرد. نیم ساعت پس از القای بیهوشی، در بیماران گروه استامینوفن (گروه A) ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم استامینوفن وریدی و در گروه کتامین (گروه K) ۰/۳ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین وریدی مورد استفاده قرار گرفت.

با اتمام عمل جراحی و پس از بیداری کامل بیمار و احراز شرایط اکستوباسیون (خارج ساختن لوله ی تراشه)، لوله ی تراشه بیمار خارج گردید و بیماران به ریکاوری منتقل شدند و تحت مانیتورینگ فشار خون سیستولیک و دیاستولیک، فشار متوسط شریانی، ضربان قلب و پالس اکسی متری قرار گرفتند. سطح هوشیاری با مقیاس تسکین Ramsay

تنفسی، دوبینی، حرکات تونیک-کلونیک، تاکی کاردی، دیس ریتمی (اختلال ضربان قلب) و عوارض دوزهای بالای استامینوفن (سرگیجه، تحریک پذیری و اختلال جهت یابی) نیز بررسی شدند. در نهایت داده‌های جمع‌آوری شده وارد رایانه شد و به وسیله نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ (version 22, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون‌های χ^2 ، t و آنالیز واریانس با تکرار مشاهدات جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه ۸۶ بیمار داوطلب اعمال جراحی اندام تحتانی تحت بیهوشی عمومی، در دو گروه ۴۳ نفره دریافت کننده استامینوفن و کتامین مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. توزیع متغیرهای دموگرافیک و عمومی بیماران دو گروه در جدول ۱ نشان داده شده است. بر حسب آزمون‌های t، χ^2 و Fisher exact. توزیع سنی و جنسی، نوع عمل و مدت زمان آن در دو گروه اختلاف معنی داری نداشت ($P > 0.05$).

(Ramsay sedation scale) تعیین گردید.

شدت درد و تهوع در انتهای ریکاوری و در ساعات ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از عمل جراحی با استفاده از معیار VAS (Visual analogue scale) به صورت درجه بندی ۱۰-۰ و همچنین تعداد دفعات استفراغ در ریکاوری و در بخش به مدت ۲۴ ساعت بررسی و ثبت گردید. در صورت وجود نمره‌ی درد مساوی یا بیشتر از ۳، به میزان ۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم مورفین وریدی استفاده شد و اولین زمان نیاز به مورفین و تعداد دفعات استفاده از مسکن بعد از عمل ثبت گردید. زمان اکستوباسیون از هنگام بستن گازهای بیهوشی تا بیداری کامل بیمار و باز کردن چشم‌ها بود.

مدت زمان اقامت در ریکاوری با استفاده از معیار MAS (Modified Aldrete score) و همچنین زمان اکستوباسیون در دو گروه، اندازه‌گیری و ثبت گردید. دو گروه از نظر وجود عوارض دارویی و دیگر عوارض احتمالی شامل عوارض کتامین [کنفوزیون یا روان‌آشفستگی (Confusion)، توهم، دلیریوم (Delirium)، افزایش فشار داخل مغزی، آپنه‌ی

جدول ۱. توزیع متغیرهای دموگرافیک و عمومی در دو گروه

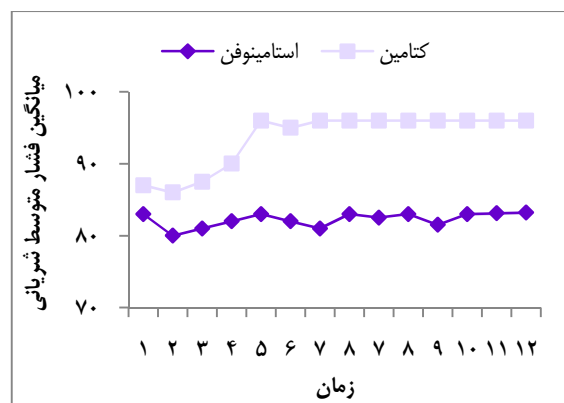
P	گروه		متغیر
	کتامین	استامینوفن	
۰/۳۷	۲۵/۸ ± ۹/۹	۲۶/۴ ± ۸/۵	سن (سال) (میانگین ± انحراف معیار)
۰/۱۱	۳۷ (۸۶/۰)	۳۱ (۷۲/۱)	جنس [تعداد (درصد)]
	۶ (۱۴/۰)	۱۲ (۲۷/۹)	مرد زن
۰/۱۷	۱۹ (۴۴/۲)	۱۵ (۳۴/۹)	شکستگی
	۱۰ (۲۳/۳)	۹ (۲۰/۹)	آرتروسکوپی
	۹ (۲۰/۹)	۵ (۱۱/۶)	پارگی تاندون
	۳ (۷/۰)	۱۱ (۲۵/۶)	خروج پیچ و پلاک
۰/۳۰	۲ (۴/۷)	۳ (۷/۰)	سایر
	۶۵/۲ ± ۹/۲	۶۷/۷ ± ۱۲/۴	مدت زمان عمل (دقیقه) [تعداد (درصد)]

بر اساس آزمون t ، بیماران دریافت کننده‌ی استامینوفن در تمام زمان‌ها (انتهای ریکاوری، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از عمل) از میانگین درد پایین‌تری برخوردار بودند ($P < 0/001$) (جدول ۲). انجام آزمون ANOVA با تکرار مشاهدات نیز نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار میانگین تغییرات شدت درد تا ۲۴ ساعت بعد از عمل در دو گروه بود ($P < 0/001$). (شکل ۳). همچنین در طی زمان‌های مذکور، بیماران گروه کتامین شدت تهوع بالاتری نسبت به گروه استامینوفن داشتند ($P < 0/001$). تا ۲۴ ساعت بعد از عمل، در مجموع ۲۴ مورد استفراغ در گروه استامینوفن و ۲۳ مورد در گروه کتامین رخ داد و تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ($P = 0/830$).

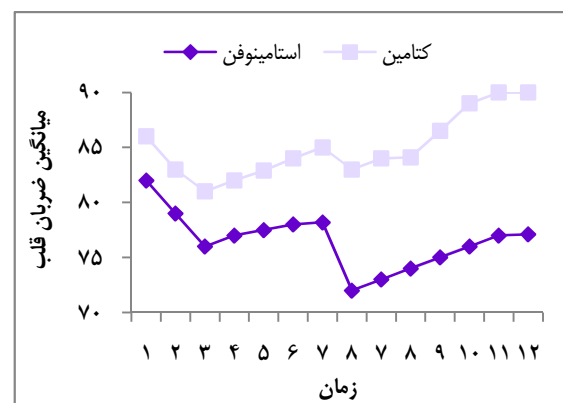
طبق آزمون t ، بین میانگین مقدار مورفین مصرفی در انتهای ریکاوری در دو گروه استامینوفن و کتامین تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P = 0/011$)، اما میانگین مورفین مصرفی در دو گروه ۶ ساعت بعد از خروج بیماران از ریکاوری، تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P = 0/061$). از ۶ تا ۲۴ ساعت بعد از عمل، هیچ بیماری نیاز به تزریق مورفین نداشت. در عین حال بر حسب آزمون Repeated Measures ANOVA، بین میانگین مصرف مورفین در دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P = 0/370$).

میانگین درصد اشباع اکسیژن خون در انتهای ریکاوری و ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از عمل در دو گروه اختلاف معنی‌داری را نشان داد و بر حسب آزمون ANOVA با تکرار مشاهدات، میانگین تغییرات درصد اشباع اکسیژن خون در دو گروه اختلاف معنی‌داری نداشت ($P = 0/390$) (شکل ۴).

بررسی شاخص‌های همودینامیک در بیماران دو گروه نشان داد که در طی مدت عمل و ریکاوری، بیماران دریافت کننده‌ی کتامین از میانگین فشار متوسط شریانی بالاتری برخوردار بودند و بین میانگین تغییرات فشار متوسط شریانی در دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (آزمون Repeated Measures ANOVA) ($P < 0/001$) (شکل ۱). میانگین ضربان قلب نیز در طی مدت عمل و در طی مدت اقامت در ریکاوری در گروه کتامین بالاتر بود و اختلاف معنی‌داری میان دو گروه وجود داشت ($P < 0/003$) (شکل ۲).



شکل ۱. میانگین فشار متوسط شریانی از زمان بیهوشی تا انتهای ریکاوری در دو گروه ($P < 0/001$)

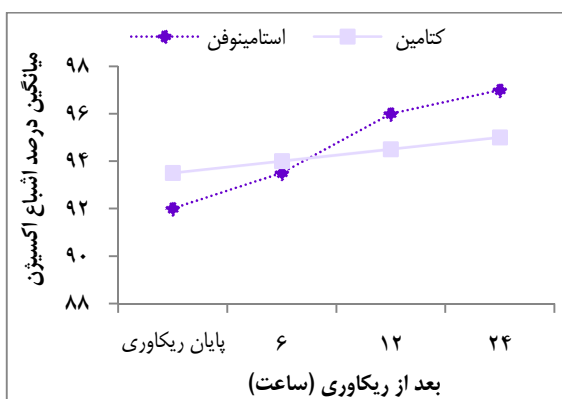


شکل ۲. میانگین ضربان قلب از زمان بیهوشی تا انتهای ریکاوری در دو گروه ($P < 0/003$)

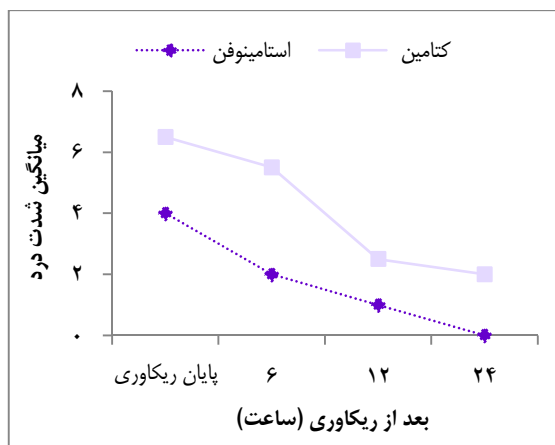
جدول ۲. میانگین و انحراف معیار شدت درد، تهوع، مورفین دریافتی، درصد اشباع اکسیژن و نمره‌ی آرام‌بخشی تا ۲۴ ساعت بعد از عمل در دو گروه

P (بین دو گروه)	۲۴ ساعت بعد		۱۲ ساعت بعد		۶ ساعت بعد		انتهای ریکاوری		گروه	متغیر
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار		
< ۰/۰۰۱	۰/۶۵ ± ۰/۸۴	۱/۵۰ ± ۱/۲۰	۲/۵۰ ± ۱/۴۰	۳/۸۰ ± ۱/۶۰	استامینوفن	شدت درد بعد عمل	کتامین	۶/۶۰ ± ۱/۶۰	P	شدت تهوع بعد عمل
	۱/۶۷ ± ۱/۲۹	۲/۸۰ ± ۱/۳۰	۴/۷۰ ± ۱/۵۰	۶/۶۰ ± ۱/۶۰	استامینوفن	کتامین				
< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	P	استامینوفن	۰/۹۳ ± ۱/۲۰	P	P	روز استفرغ [تعداد (درصد)]
	۰/۰۹ ± ۰/۶۱	۰/۱۴ ± ۰/۹۱	۰/۳۵ ± ۱/۲۵	۰/۹۳ ± ۱/۲۰	استامینوفن		۲۴ (۵۵/۸)			
۰/۸۳۰	۰/۵۳ ± ۱/۰۰	۱/۰۲ ± ۱/۳۷	۲/۲۳ ± ۲/۰۰	۳/۴ ± ۲/۰۰	کتامین	۲۳ (۵۳/۵)	۰/۸۳۰	P	P	
	۰/۰۱۶	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	استامینوفن	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)
۰/۳۷۰	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	استامینوفن	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)
	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	کتامین	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)
۰/۳۷۰	> ۰/۹۹۹	> ۰/۹۹۹	> ۰/۹۹۹	> ۰/۹۹۹	P	استامینوفن	۷/۰۰ ± ۶/۳۲	P	P	مورفین دریافتی
	۰	۰	۰	۰	استامینوفن		۵/۳۳ ± ۱/۲۷			
۰/۳۹۰	> ۰/۹۹۹	> ۰/۹۹۹	۰/۰۶۱۰	۰/۰۱۱	کتامین	۶/۱۱ ± ۲/۷۴	۷/۰۰ ± ۳/۲۵	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱
	۹۷/۲۰ ± ۱/۹۰	۹۶/۳۰ ± ۱/۹۰	۹۳/۷۰ ± ۲/۲۰	۹۲/۴۰ ± ۲/۶۰	استامینوفن	۹۳/۷۰ ± ۲/۲۰	۹۲/۴۰ ± ۲/۶۰	۹۳/۶۰ ± ۲/۶۰	۹۳/۶۰ ± ۲/۶۰	۹۳/۶۰ ± ۲/۶۰
۰/۳۹۰	۹۵/۳۰ ± ۲/۱۰	۹۴/۹۰ ± ۲/۰۰	۹۴/۴۰ ± ۲/۲۰	۹۳/۶۰ ± ۲/۶۰	کتامین	۰/۱۹۰	۰/۰۳۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۴
	< ۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۱۹۰	۰/۰۳۴	P	P	P	P	P	P
۰/۰۰۸	۱/۰۲ ± ۰/۱۵	۱/۴۷ ± ۰/۷۰	۲/۰۹ ± ۰/۷۵	۲/۵۶ ± ۰/۹۱	استامینوفن	۲/۵۶ ± ۰/۹۱	۳/۴۲ ± ۳/۱۰	۲/۵۶ ± ۰/۹۱	۳/۴۲ ± ۳/۱۰	۲/۵۶ ± ۰/۹۱
	۱/۲۶ ± ۰/۴۴	۱/۷۲ ± ۰/۵۰	۲/۳۳ ± ۰/۵۲	۳/۴۲ ± ۳/۱۰	کتامین	۳/۴۲ ± ۳/۱۰	۳/۴۲ ± ۳/۱۰	۳/۴۲ ± ۳/۱۰	۳/۴۲ ± ۳/۱۰	۳/۴۲ ± ۳/۱۰
	۰/۰۰۲	۰/۰۶۰	۰/۱۰۰	۰/۰۹۰	P	P	P	P	P	P

همچنین، آزمون Repeated Measures ANOVA حاکی از روند تفاوت معنی‌دار تغییرات نمره‌ی آرام‌بخشی در دو گروه بود (P = ۰/۰۰۸).



شکل ۴. میانگین درصد اشباع اکسیژن تا ۲۴ ساعت بعد از عمل در دو گروه



شکل ۳. میانگین شدت درد تا ۲۴ ساعت بعد از عمل در دو گروه

میانگین نمره‌ی آرام‌بخشی در پایان ریکاوری و ۶ و ۱۲ ساعت بعد از عمل متفاوت نبود، اما ۲۴ ساعت بعد از عمل تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده شد.

میزان مصرف مخدر در آن‌ها کمتر بود. اولین زمان درخواست مسکن در گروه کتامین کوتاه‌تر از گروه استامینوفن بود. بنابراین یافته‌های مطالعه‌ی حاضر بیانگر کارایی بهتر استامینوفن به عنوان پیش‌دارو در کاهش درد و عوارض بعد از عمل نسبت به کتامین می‌باشد؛ ضمن این‌که مصرف کتامین با عوارض احتمالی همچون افزایش فشار داخل مغزی و تاکی‌کاردی همراه خواهد بود.

بی‌دردی استامینوفن در مطالعات مختلفی مورد تأیید قرار گرفته است (۹-۶). در مطالعه‌ی Cattabriga و همکاران اثر بی‌دردی پاراستامول بر درد بعد از عمل در بیماران تحت جراحی قلب مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه‌ی آن نشان دهنده‌ی تأثیر مناسب بی‌دردی پاراستامول وریدی برای این بیماران بود (۱۰). نتایج مطالعه‌ی Arici و همکاران بر روی بیماران تحت عمل جراحی توتال هیستریکتومی (برداشتن رحم و سرویکس) نشان داد که یک گرم پاراستامول قبل از عمل، دارای تأثیر پیشگیری از درد بعد از عمل است و سبب کاهش مصرف مورفین بعد از عمل و همچنین کاهش عوارض آن می‌شود (۶). در مطالعه‌ی Kilicaslan و همکاران، نمره‌ی درد بیماران پس از عمل سزارین در دو گروه ۲۵ نفره‌ی دریافت‌کننده‌ی پاراستامول همراه با ترامادول وریدی و ترامادول به تنهایی مقایسه گردید. آنان به این نتیجه رسیدند که نمره‌ی درد در گروه دریافت‌کننده‌ی پاراستامول کمتر است (۷).

تحقیق Moon و همکاران گزارش کرد که تجویز ۲ گرم استامینوفن وریدی قبل از عمل در بیماران تحت هیستریکتومی، گرچه به طور بارزی درد بعد از عمل را کاهش نمی‌دهد، اما باعث کاهش مصرف

میانگین اولین زمان نیاز به مسکن در دو گروه دریافت‌کننده‌ی استامینوفن و کتامین به ترتیب $10/7 \pm 32/1$ و $13/8 \pm 6/1$ دقیقه بود و طبق آزمون t ، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود داشت ($P < 0/001$). همچنین، میانگین مدت زمان اقامت در ریکاوری در دو گروه مذکور به ترتیب $30/8 \pm 68$ و $57/4 \pm 19/3$ دقیقه به دست آمد که تفاوت بین آن‌ها معنی‌دار نبود ($P = 0/064$). میانگین مدت زمان اکستوباسیون نیز در دو گروه استامینوفن و کتامین به ترتیب $15/3 \pm 24/5$ و $21/4 \pm 12/2$ دقیقه بود که تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه نشان نداد ($P = 0/380$).

بحث

هدف کلی از انجام مطالعه‌ی حاضر، تعیین تأثیر دو روش استفاده‌ی پیشگیرانه از استامینوفن و کتامین وریدی بر روی درد پس از عمل جراحی بود. بر اساس نتایج به دست آمده، دو گروه دریافت‌کننده‌ی استامینوفن و کتامین از نظر توزیع سنی و جنسی اختلاف معنی‌داری نداشتند و اثر مخدوش‌کننده‌ای از آن‌ها بر روی پارامترهای همودینامیک و عوارض حین عمل، ریکاوری و بعد از عمل مشاهده نشد.

پارامترهای همودینامیک شامل فشار متوسط شریانی و ضربان قلب، قبل از القای بیهوشی تا انتهای ریکاوری در دو گروه اختلاف معنی‌داری داشت و گروه دریافت‌کننده‌ی کتامین از فشار خون و ضربان قلب بالاتری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی استامینوفن برخوردار بود. از طرف دیگر، بیماران دریافت‌کننده‌ی استامینوفن تا ۲۴ ساعت بعد از عمل، شدت درد و تهوع کمتری داشتند و به طور طبیعی

هیدرومورفون بعد از عمل می‌گردد و می‌تواند در بیماران که مستعد بروز عوارض اویپوئیدها و NSAIDs هستند، سودمند واقع شود (۸). خلیلی و همکاران در تحقیق خود بیان کردند که در بیماران تحت عمل جراحی اندام تحتانی با بی‌حسی اسپینال (نخاعی)، هر دو نوع روش استفاده‌ی پیش‌گیرانه (Preventive) استامینوفن وریدی باعث اثر بی‌دردی پیش‌گیرانه و کاهش مصرف مسکن بعد از عمل جراحی می‌شود (۹).

برخی تحقیقات نیز نشان دهنده‌ی کارایی مناسب کتامین وریدی در کاهش درد بعد از عمل جراحی می‌باشد (۱۱-۱۳). مطالعه‌ی بهداد و همکاران بر روی بیماران تحت آپاندکتومی (برداشتن آپاندیس)، تأثیر بی‌دردی پیش‌گیرانه‌ی تجویز دوز کم کتامین وریدی را شناسایی کرد (۱۱). قرایی و همکاران در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که دوز کم کتامین قبل از عمل جراحی، منجر به کاهش مصرف اویپوئیدها در بیماران تحت سدیشن می‌گردد (۱۲). در مطالعه‌ی Singh و همکاران، نقش قطعی دوز کم کتامین در کاهش درد بعد از عمل در بیماران تحت کوله سیستمی لاپاروسکوپیکی تأیید شد (۱۳).

گرچه در بعضی مطالعات، اثر بی‌دردی پیش‌گیرانه برای این دو دارو تأیید نشده است (۱۴-۱۶). به طور مثال عبدالهی و همکاران نشان دادند که تجویز دوز کم کتامین قبل از القای بیهوشی در بیماران تحت جراحی‌های دردناک چشمی، تأثیری بر کاهش درد بعد از عمل ندارد (۱۴) که این عدم تأثیر، شاید به

علت کوتاه بودن زمان اعمال جراحی چشم و شدت درد کمتر پس از عمل جراحی می‌باشد. در مطالعه‌ی Han و همکاران، دوز کم کتامین اثری بر بی‌دردی پیش‌گیرانه در بیماران تحت عمل سزارین نداشت که این عدم تأثیر شاید به نوع روش بیهوشی (رژیمونال) مربوط باشد (۱۵).

Kesimci و همکاران در مقایسه‌ی بین تأثیر بی‌دردی پیش‌گیرانه‌ی دو داروی دکس‌کتوپروفن با پاراستامول، به این نتیجه رسیدند که تجویز ۵۰۰ میلی‌گرم پاراستامول تأثیری در کاهش مصرف اویپوئیدها در بیماران تحت لامینکتومی نداشت است (۱۶) و از آن جایی که بیماران تحت اعمال جراحی اندام تحتانی با درد شدیدی بعد از عمل مواجه می‌شوند و شدت درد می‌تواند با صدمات و عوارض جدی در بیماران همراه باشد، استفاده از استامینوفن به عنوان پیش‌دارو قبل از عمل می‌تواند به میزان قابل قبولی از شدت درد و دیگر عوارض بعد از عمل همچون تهوع بکاهد و مصرف مسکن را نیز به طور چشمگیری کاهش دهد. با توجه به این‌که عوارض جانبی کتامین تا حدودی بیشتر از استامینوفن می‌باشد، مصرف این دارو (استامینوفن) به عنوان پیش‌دارو جهت کاهش درد بعد از عمل مناسب است و توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای مینا احمدی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

References

1. Hurley RW, Wu CI. Acute postoperative pain. In: Miller RD, Editor. Miller's anesthesia. London, UK: Elsevier Health Sciences; 2010. p. 2757-77.
2. Grape S, Tramèr MR. Do we need preemptive analgesia for the treatment of postoperative pain? *Best Practice and Research Clinical Anaesthesiology* 2007; 21(1): 51-63.
3. Svensson CI, Yaksh TL. The spinal phospholipase-cyclooxygenase-prostanoid cascade in nociceptive processing. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002; 42: 553-83.
4. Wilgus TA, Ross MS, Parrett ML, Oberszyn TM. Topical application of a selective cyclooxygenase inhibitor suppresses UVB mediated cutaneous inflammation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2000; 62(4): 367-84.
5. Reves J, Glass P, Lubarsky D, McEvoy M, Martinez-Ruiz R. Intravenous anesthetics. In: Miller R, Eriksson L, Fleisher L, Wiener-Kronish J, Young W, editors. Miller's anesthesia. 7th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2009. p. 732-6.
6. Arici S, Gurbet A, Turker G, Yavascaoglu B, Sahin S. Preemptive analgesic effects of intravenous paracetamol in total abdominal hysterectomy. *Agri* 2009; 21(2): 54-61.
7. Kilicaslan A, Tuncer S, Yuceaktas A, Uyar M, Reisli R. [The effects of intravenous paracetamol on postoperative analgesia and tramadol consumption in cesarean operations]. *Agri* 2010; 22(1): 7-12.
8. Moon YE, Lee YK, Lee J, Moon DE. The effects of preoperative intravenous acetaminophen in patients undergoing abdominal hysterectomy. *Arch Gynecol Obstet* 2011; 284(6): 1455-60.
9. Khalili G, Janghorbani M, Saryazdi H, Emaminejad A. Effect of preemptive and preventive acetaminophen on postoperative pain score: a randomized, double-blind trial of patients undergoing lower extremity surgery. *J Clin Anesth* 2013; 25(3): 188-92.
10. Cattabriga I, Pacini D, Lamazza G, Talarico F, di Bartolomeo R, Grillone G, et al. Intravenous paracetamol as adjunctive treatment for postoperative pain after cardiac surgery: a double blind randomized controlled trial. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007; 32(3): 527-31.
11. Behdad A, Hosseinpour M, Khorasani P. Preemptive use of ketamine on post operative pain of appendectomy. *Korean J Pain* 2011; 24(3): 137-40.
12. Gharaei B, Jafari A, Aghamohammadi H, Kamranmanesh M, Poorzamani M, Elyassi H, et al. Opioid-sparing effect of preemptive bolus low-dose ketamine for moderate sedation in opioid abusers undergoing extracorporeal shock wave lithotripsy: a randomized clinical trial. *Anesth Analg* 2013; 116(1): 75-80.
13. Singh H, Kundra S, Singh RM, Grewal A, Kaul TK, Sood D. Preemptive analgesia with Ketamine for Laparoscopic cholecystectomy. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2013; 29(4): 478-84.
14. Abdolahi M, Soltani HA, Montazeri K, Soleymani B. Preemptive low-dose of ketamine does not effective on anesthetic consumption, perioperative analgesic requirement and postoperative pain, nausea and vomiting in painful ophthalmic surgery. *J Res Med Sci* 2013; 18(7): 582-6.
15. Han SY, Jin H, Yang W, Lee JH, Cho S, Chae WS, et al. The effect of low-dose ketamine on post-caesarean delivery analgesia after spinal anesthesia. *Korean J Pain* 2013; 26(3): 270-6.
16. Kesimci E, Gumus T, Izdes S, Sen P, Kanbak O. Comparison of efficacy of dexketoprofen versus paracetamol on postoperative pain and morphine consumption in laminectomy patients. *Agri* 2011; 23(4): 153-9.

Comparing the Effect of Preemptive Intravenous Acetaminophen and Ketamine on Postoperative Pain

Seyyed Morteza Heidari MD¹, Mina Ahmadi², Ali Mehrabi-Koushki MSc³

Original Article

Abstract

Background: One of the most important problems after surgeries is postoperative pain that effect on patient, his family and hospital staff. Preemptive analgesia is a new method for control and prevention of this problem. This study was done to compare the preemptive effect of interavenous acetaminophen and ketamine on postoperative pain.

Methods: In a double-blind randomized clinical trial study, 86 patients under lower extremity surgeries with ASA (American Society of Anesthesiologists) class I or II, at the age range of 15-70 years were selected and randomly divided in the two groups. The groups received 0.3 mg/kg ketamine or 15 mg/kg acetaminophen intravenously before anesthesia. Postoperative pain, immediately after the surgery, and 6, 12, 24 and 48 hours later was measured via visual analog scale (VAS). Besides, need to opioid drugs and postoperative complications were recorded.

Findings: The mean \pm SD postoperative pain in acetaminophen and ketamine groups was 3.8 ± 1.6 and 6.6 ± 1.6 at the end of the recovery, 2.5 ± 1.4 and 4.7 ± 1.5 at 6 hours later, 1.5 ± 1.2 and 2.8 ± 1.3 at 12 hours later and 0.6 ± 0.8 and 1.7 ± 1.3 at 24 hours later, respectively; the difference between the two groups was statistically significant in all times ($P < 0.001$). In addition, the mean changes of pain until 24 hours after the surgery were different between the two groups ($P < 0.001$). The mean of opioid used was not different between the two groups ($P = 0.37$).

Conclusion: Using intravenous acetaminophen, as a preemptive, can decrease intensity of postoperative pain and decrease nausea and the need to opioid, and used narcotic. Besides, it has lower side effects compared to ketamine.

Keywords: Ketamine, Acetaminophen, Postoperative pain

Citation: Heidari SM, Ahmadi M, Mehrabi-Koushki A. **Comparing the Effect of Preemptive Intravenous Acetaminophen and Ketamine on Postoperative Pain.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(328): 368-77

1- Professor, Anesthesiology and Critical Care Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

3- Epidemiologist, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mina Ahmadi, Email: masoudahmadi2423@yahoo.com

ارتباط سرسختی روان‌شناختی با Alexithymia و شدت علائم گوارشی در مبتلایان به اختلالات عملکردی گوارشی

مینا مظاهری^۱

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: فرض بر این است که سرسختی به عنوان یک عامل سرسختی مثبت می‌تواند سلامت روان فرد را با وجود تجربه‌ی موقعیت‌های استرس‌زا افزایش دهد. هدف مطالعه‌ی حاضر، بررسی ارتباط سرسختی روان‌شناختی با Alexithymia و شدت علائم گوارشی در مبتلایان به اختلالات عملکردی گوارشی بود.

روش‌ها: این مطالعه، به روش همبستگی انجام شد. جامعه‌ی آماری، کلیه‌ی بیماران مبتلا به اختلالات عملکردی گوارشی ارجاع شده به کلینیک فوق تخصصی روان‌پزشکی در شهر اصفهان را شامل می‌شد. نمونه‌گیری به شیوه‌ی سرشماری انجام شد و ۱۶۷ بیمار با توجه به معیارهای مطالعه و طی یک دوره‌ی زمانی معین انتخاب شدند. برای جمع‌آوری اطلاعات، از مقیاس‌های سرسختی روان‌شناختی (Lang and Goulet Hardiness Scale) یا (LGHS)، Toronto alexithymia scale (TAS-20) و علائم گوارشی (Gastrointestinal symptoms rating scale یا GSRS) استفاده گردید.

یافته‌ها: تحلیل همبستگی Pearson نشان داد که بین سرسختی کل و مؤلفه‌های کنترل و تعهد با شدت علائم گوارشی و سرسختی کل و مؤلفه‌های کنترل و چالش با Alexithymia ارتباط منفی معنی‌داری وجود داشت. همچنین، Logistic regression نشان داد که تنها، عامل کنترل، به عنوان یک عامل محافظتی، هم برای علائم گوارشی و هم برای Alexithymia، بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، اجرای مداخلات روان‌شناختی که منجر به تقویت ویژگی سرسختی و مؤلفه‌های آن گردد، می‌تواند با تغییر در نظام روان‌شناختی بیماران، گامی اساسی در روند بهبود آن‌ها و کاهش عوامل خطر ساز بیماری، از جمله Alexithymia برداشته، حتی از بروز بیماری در افراد جلوگیری کند.

واژگان کلیدی: سرسختی روان‌شناختی (کنترل، تعهد و چالش)، شدت علائم گوارشی، Alexithymia

ارجاع: مظاهری مینا. ارتباط سرسختی روان‌شناختی با Alexithymia و شدت علائم گوارشی در مبتلایان به اختلالات

عملکردی گوارشی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۸): ۳۷۸-۳۸۸

مقدمه

فرض بر این است که صفات شخصیتی، تبیین کننده‌ی بسیاری از بیماری‌های روان‌تنی می‌باشند (۱). در واقع شخصیت فرد و الگوهای رفتاری وابسته به

آن، نوع و شدت احساسات و روش‌های مقابله با استرس‌های روزمره را تعیین می‌کنند و در نتیجه بر جسم ما تأثیر می‌گذارند (۲). یکی از صفات شخصیتی، سرسختی است که توسط Kobasa و

۱- دانشجوی دکتری، مرکز تحقیقات روان‌تنی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: مینا مظاهری

Email: mina.mazaheri@gmail.com

و بردباری در برابر رویدادهای سخت استرس‌زا و موقعیت‌های مبهم را به دنبال دارد (۷). اگرچه در مطالعات مختلف، ارتباط معنی‌داری بین استرس و سلامت جسمی و روان‌شناختی ثابت شده است، اما شدت این ارتباط در حد متوسط می‌باشد و سرسختی به عنوان یک سبک شخصیتی، تعدیل‌کننده‌ی ارتباط بین عوامل استرس‌زا و سلامتی است (۸).

مطالعات نشان داده‌اند که بین سرسختی روان‌شناختی با مؤلفه‌های مختلف سلامت روان همچون نشانگان جسمانی، اضطراب، اختلال در عملکرد اجتماعی، افسردگی، خصومت و اجتناب از افکار استرس‌زا و مزاحم رابطه‌ی منفی معنی‌داری وجود دارد (۹-۱۰). علاوه بر این، سرسختی با قابلیت‌های شخصی و رضایت از زندگی همراه می‌شود (۹). برخی سرسختی را به عنوان توانایی مدیریت استرس تعریف می‌کنند (۱۱). با تحقیق بر روی ارتقای تاب‌آوری و شایستگی فردی در اشخاصی که با رویدادهای منفی زندگی مواجه شده‌اند، مشخص شد که قدرت منابع درونی فردی تأثیر زیادی بر پذیرش انواع راهبردهای مقابله‌ای دارد. در بین این منابع درونی متعدد، دو عامل سرسختی و خوش‌بینی به عنوان عوامل ارتقا دهنده‌ی سلامت عمومی شناسایی شده‌اند. هر یک از این عوامل، باعث حفظ سلامت فیزیکی و روان‌شناختی در برخورد با رویدادهای منفی زندگی می‌شود (۱۲).

از آنجایی که احساسات منفی بهترین پیش‌بین برای سلامت روانی و جسمانی هستند (۱۳)، هیجان‌ها در بیماری‌های جسمی متعدد اهمیت خاصی دارند (۱۴). هیجان‌ها به عنوان واکنش‌های زیست‌شناختی، زمانی برانگیخته می‌شوند که فرد

همکاران (۳) معرفی گردید. این ویژگی از روان‌شناسی وجودی گرفته شده است. افراد دارای این ویژگی، رویدادهای استرس‌زای زندگی را قابل حل می‌دانند و تغییرات را به عنوان بخشی از زندگی، طبیعی و جالب در نظر می‌گیرند. این جهت‌گیری مثبت به زندگی فرد کمک می‌کند تا در شرایط استرس‌زا سلامت خود را حفظ کند (۳).

مفهوم سرسختی از سه مؤلفه‌ی مرتبط به هم شامل تعهد (درگیر شدن در فعالیت‌های زندگی)، چالش (ملاحظه‌ی رویدادهای استرس‌زا به عنوان فرصت‌های جالب برای رشد) و کنترل (درک نفوذ بر زندگی) تشکیل شده است (۴). کسی که از تعهد بالایی برخوردار است، به ارزش و معنای این‌که چه کسی است و باید چه فعالیت‌هایی انجام دهد، باور دارد و بر همین مبنا می‌تواند در مورد هر آنچه که انجام می‌دهد، معنایی بیابد و کنجکاو خود را بر انگیزد. مبارزه‌جویی باور به این امر است که تغییر و امنیت، جنبه‌ی طبیعی زندگی می‌باشد. اشخاصی که مبارزه‌جویی بالایی دارند، موقعیت‌های مثبت و یا منفی نیازمند به سازگاری مجدد را فرصتی برای یادگیری و رشد بیشتر می‌دانند تا تهدیدی برای امنیت و آسایش خویش. افرادی که در مؤلفه‌ی کنترل قوی هستند، رویدادهای زندگی را قابل پیش‌بینی و کنترل می‌دانند و باور دارند که می‌توانند با تلاش آنچه را که در اطرافشان رخ می‌دهد، تحت تأثیر قرار دهند (۵).

بدین ترتیب سرسختی مجموعه‌ای از باورها درباره‌ی خود و دنیایی است که فرد در آن زندگی می‌کند (۶). باور به تغییر و دگرگونی و پویایی زندگی و این نگرش که هر رویدادی به معنای تهدیدی برای امنیت و سلامت انسان نیست، انعطاف‌پذیری شناختی

(۲۳-۲۱). مطالعه‌ای نشان داد که ویژگی‌های رفتاری مانند توجه آگاهانه، معاشرت‌پذیری و پایداری یا واکنش‌پذیری در پاسخ به ناکامی، منابع درونی تفاوت‌های فردی در تنظیم هیجان می‌باشند (۲۴). نتایج بررسی رابطه‌ی مدل پنج‌عاملی شخصیت و Alexithymia بیانگر آن بود که ویژگی‌های تجربه‌گرایی و توافق‌پذیری پایین و روان رنجورخویی بالا، قسمت عمده‌ای از واریانس نمرات Alexithymia را تبیین می‌کنند و ترکیبی از این ویژگی‌ها، ابتلای فرد به Alexithymia را افزایش می‌دهد (۲۵).

با توجه به پیشینه‌ی پژوهش، ویژگی سرسختی به عنوان یک ویژگی مثبت در نظر گرفته می‌شود و نقش آن در رابطه با سلامت جسمانی و به ویژه سلامت روانی تأیید شده است. از آن‌جایی که بیشتر پژوهش‌ها بر روی افراد سالم انجام شده است و مطالعات بر روی بیماران جسمی محدود می‌باشد و از طرف دیگر، ارتباط این ویژگی و Alexithymia به عنوان یک مشکل هیجانی شایع در بیماران مبتلا به اختلالات عملکردی گوارشی بررسی نشده است، هدف پژوهش حاضر بررسی ارتباط سرسختی روان‌شناختی و ابعاد آن با شدت علائم گوارشی و Alexithymia در بیماران مبتلا به اختلالات عملکردی گوارشی بود. بر این اساس، سؤال پژوهش این است که آیا سرسختی و ابعاد آن می‌توانند به عنوان عوامل محافظت‌کننده در اختلالات عملکردی گوارشی عمل نمایند؟

روش‌ها

این مطالعه از نوع توصیفی-همبستگی و جامعه‌ی

موقعیت را همراه با چالش‌ها یا فرصت‌های مهمی ارزیابی می‌کند و پاسخدهی وی را در برابر رویدادهای محیطی عمده منسجم می‌سازد (۱۵). توانایی مقابله با استرس، شاخص مهمی از سطح هوش هیجانی به شمار می‌رود. بنا بر یک عقیده‌ی کلی، اگر از لحاظ هیجانی باهوش باشید، قادر خواهید بود واکنش‌های هیجانی خود را به طور مؤثری حفظ کنید و متعادل نگه دارید و به موجب آن، خود را علیه اثرات تنیدگی مصون سازید (۱۶).

آلکسی تایمیا (Alexithymia) یک ویژگی شخصیتی و یک سازه‌ی چندوجهی روان‌شناختی است که با هوش هیجانی رابطه‌ی تنگاتنگ و معکوسی دارد. برخی از مشخصات آن شامل «دشواری در توصیف احساسات، دشواری در تمایز و افتراق بین احساسات و حس‌های بدنی، ناتوانی در برقراری ارتباط با دیگران، کاهش خیال‌پردازی و رؤیایها و تمرکز بر تجارب بیرونی» می‌باشد (۱۷). مطالعات نشان داده‌اند کسانی که توانایی زیادی در بیان حالات هیجانی خود ندارند، اغلب زمان‌های سختی را در جهت کنترل هیجانات و تکانه‌های عاطفی خود در عمل و در مقابله‌ی مثبت با موقعیت‌های پر استرس سپری می‌کنند (۱۶). اهمیت Alexithymia در طیف وسیعی از اختلالات روان‌پزشکی و طبی به خصوص اختلالات روان‌تنی گزارش شده است (۱۸-۱۹). این ویژگی با انواع متعددی از دشواری‌های تنظیم هیجان همراه می‌شود و با ضعف در سلامت فیزیکی و روانی همبستگی قوی دارد (۲۰).

ارتباط بین ویژگی‌های شخصیتی و فرایندهای تنظیم هیجان در چندین مطالعه تأیید شده است

پنج درجه‌ای لیکرت (کاملاً مخالف = ۱ تا کاملاً موافق = ۵) نمره‌گذاری می‌شود (۲۶). اعتبار و پایایی آن در ایران مورد بررسی قرار گرفته و ضریب همسانی درونی برای کل مقیاس و خرده مقیاس‌های آن به ترتیب ۰/۸۲، ۰/۸۳، ۰/۳۳ و ۰/۶۹ برآورد شده است (۲۷).

مقیاس TAS-20 (Toronto alexithymia scale): یک پرسش‌نامه‌ی خودسنجی و ۲۰ سؤالی است که از سه بعد دشواری در تشخیص و شناسایی احساسات (Difficulty in identifying feelings یا DIF)، دشواری در توصیف احساسات (DDF) یا (Difficulty in describing feelings) و تمرکز بر تجارب بیرونی (Externally oriented thinking یا EOT) تشکیل شده است (۲۸). سؤالات این پرسش‌نامه بر حسب معیار پنج درجه‌ای لیکرت (از کاملاً موافقم = ۱ تا کاملاً مخالفم = ۵) نمره‌گذاری می‌گردد و نمرات ۶۰ به بالا به عنوان Alexithymia بالا و نمرات ۵۲ به پایین به عنوان بدون Alexithymia در نظر گرفته می‌شود (۲۹). ضریب همسانی درونی در نمونه‌ی ایرانی برای کل مقیاس و ابعاد DIF، DDF و EOT به ترتیب ۰/۷۹، ۰/۷۵، ۰/۷۱ و ۰/۶۶ گزارش شده است (۳۰).

پرسش‌نامه‌ی علائم گوارشی (GSRs) یا (Gastrointestinal symptoms rating scale): این مقیاس یک ابزار سنجش بیماری است که برای ارزیابی علائم شایع اختلالات گوارشی به کار می‌رود. پرسش‌نامه‌ی GSRs دارای ۱۵ سؤال است که هر سؤال بر حسب مقیاس هفت درجه‌ای لیکرت (از عدم ناراحتی = صفر تا ناراحتی شدید = ۷) نمره‌گذاری می‌شود. همچنین شامل ۵ زیرمقیاس «درد

آماری آن شامل همه‌ی بیماران مبتلا به اختلالات عملکردی گوارشی ارجاع شده به کلینیک فوق تخصصی روان‌پزشکی (درمانگاه روان‌تنی گوارش) در شهر اصفهان بود. نمونه‌گیری به شیوه‌ی سرشماری انجام شد؛ بدین ترتیب که از بین جامعه‌ی آماری، ۱۶۷ بیمار با توجه به معیارهای مطالعه و طی یک دوره‌ی زمانی معین (۹ ماه) انتخاب شدند. معیارهای ورود به مطالعه شامل رضایت از شرکت در پژوهش، محدوده‌ی سنی بین ۶۰-۱۸ سال، تشخیص اختلال عملکردی گوارشی [سندرم روده‌ی تحریک‌پذیر (Irritable bowel syndrome یا IBS) و سوء هاضمه‌ی عملکردی (Functional dyspepsia) یا (FD)] بر اساس معیار ROME III توسط متخصص گوارش و داشتن سواد کافی برای تکمیل پرسش‌نامه‌ها بود.

بعد از توضیح در مورد هدف پژوهش و نحوه‌ی تکمیل پرسش‌نامه‌ها، جهت رعایت اصول اخلاقی، پژوهشگر به بیماران تأکید نمود که اطلاعات آن‌ها محرمانه خواهد ماند و به صورت گروهی تحلیل می‌شود. در نهایت، پس از کسب رضایت جهت شرکت در پژوهش، پرسش‌نامه‌ها توسط بیماران تکمیل شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از روش تحلیل همبستگی Pearson و Logistic regression استفاده گردید.

مقیاس سرسختی روان‌شناختی (LGHS) یا (Lang and Goulet Hardiness Scale): این مقیاس خودسنجی به منظور ارزیابی سرسختی در موقعیت‌ها و شرایط خاص تنیدگی‌زا طراحی شده است و شامل ۴۵ سؤال و ۳ خرده مقیاس (کنترل، تعهد و چالش‌جویی) می‌باشد. مقیاس LGHS بر مبنای معیار

یافته‌ها

وضعیت جمعیت‌شناختی بیماران نشان داد که از مجموع ۱۶۷ بیمار (۳۲ مرد و ۱۳۵ زن) مورد بررسی، بیشتر آنان زن (۸۰/۸ درصد)، متأهل (۷۴/۲ درصد) و دارای مدرک دیپلم و پایین‌تر (۵۸/۷ درصد) بودند. متوسط سن بیماران $33/81 \pm 10/56$ سال بود. میانگین و انحراف معیار متغیرهای ملاک و پیش‌بین به ترتیب در جداول ۱ و ۲ آمده است.

شکم، سندرم ریفلاکس، سندرم اسهال، سندرم بیوست و سندرم سوء هاضمه می‌باشد (۳۱). در مطالعه‌ی حاضر از نسخه‌ی فارسی این پرسش‌نامه که دارای ۴ زیرمقیاس (سندرم اسهال، درد شکم، سندرم بیوست و سندرم سوء هاضمه) است، استفاده گردید. اعتبار درونی پرسش‌نامه‌ی GSRs بر حسب ضریب اعتبار Cronbach's alpha برای مقیاس کل و ۴ زیرمقیاس آن به ترتیب ۰/۸۱، ۰/۷۰، ۰/۷۰، ۰/۶۳ و ۰/۷۶ برآورد شده است (۳۲).

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار متغیرهای ملاک پژوهش

متغیرها	میانگین \pm انحراف معیار	ابعاد	میانگین \pm انحراف معیار
شدت علائم گوارشی	$2/80 \pm 1/66$	سندرم اسهال	$13/18 \pm 4/28$
	$3/27 \pm 1/36$	درد شکم	
	$3/54 \pm 1/70$	سندرم بیوست	
	$3/51 \pm 1/34$	سندرم سوء هاضمه	
Alexithymia	$24/26 \pm 6/31$	دشواری در شناسایی احساسات	$60/33 \pm 11/42$
	$15/58 \pm 3/67$	دشواری در توصیف احساسات	
	$20/43 \pm 3/10$	تمرکز بر تجارب بیرونی	

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار متغیرهای پیش‌بین بر اساس متغیرهای ملاک

متغیر	شدت علائم گوارشی				متغیر	Alexithymia
	بالا (۱۵۰ نفر)	پایین (۱۲ نفر)	پایین (۷۱ نفر)	بالا (۹۶ نفر)		
سن (سال) (میانگین \pm انحراف معیار)	$33/58 \pm 10/48$	$33/76 \pm 11/43$	$33/84 \pm 9/78$	$33/80 \pm 11/16$	جنس [تعداد]	ویژگی‌های جمعیت‌شناختی
زن	۱۲۲ (۸۱/۳)	۱۳ (۷۶/۵)	۵۸ (۸۱/۷)	۷۷ (۸۰/۲)	مرد (درصد)	
دیپلم و پایین‌تر	۸۹ (۵۹/۳)	۸ (۴۷/۱)	۳۲ (۴۵/۱)	۶۶ (۶۸/۷)	سطح تحصیلات	ویژگی‌های جمعیت‌شناختی
بالاتر از دیپلم	۶۱ (۴۰/۷)	۹ (۵۲/۹)	۳۹ (۵۴/۹)	۳۰ (۳۱/۳)	[تعداد (درصد)]	
IBS	۱۱۷ (۷۸/۰)	۶ (۳۵/۳)	۵۳ (۷۴/۶)	۷۰ (۷۲/۹)	نوع بیماری [تعداد (درصد)]	سرسختی (میانگین \pm انحراف معیار)
FD	۳۳ (۲۲/۰)	۱۱ (۶۴/۷)	۱۸ (۲۵/۴)	۲۶ (۲۷/۱)	کل	
کنترل	$138/80 \pm 14/59$	$145/75 \pm 12/74$	$145/16 \pm 16/00$	$135/45 \pm 11/91$	کنترل	سرسختی (میانگین \pm انحراف معیار)
تعهد	$53/15 \pm 8/92$	$56/60 \pm 8/54$	$57/65 \pm 9/44$	$50/99 \pm 7/70$	تعهد	
چالش	$46/79 \pm 4/39$	$48/86 \pm 3/90$	$47/63 \pm 4/68$	$46/53 \pm 4/12$	چالش	
	$39/26 \pm 5/02$	$39/73 \pm 5/20$	$40/55 \pm 5/75$	$38/42 \pm 4/24$		

IBS: Irritable bowel syndrome; FD: Functional dyspepsia

جدول ۳. ضرایب همبستگی Pearson بین متغیرهای پژوهش

Alexithymia		شدت علایم گوارشی							متغیرها
تمرکز بر تجارب بیرونی	دشواری در توصیف	دشواری در شناسایی	کل	سندرم سوء هاضمه	سندرم یبوست	درد شکم	سندرم اسهال	کل	
-۰/۱۹*	-۰/۲۱**	-۰/۳۶**	-۰/۳۴**	-۰/۲۷**	-۰/۱۸*	-۰/۲۶**	-۰/۰۷	-۰/۲۶**	سرسختی کل
-۰/۲۱**	-۰/۳۱**	-۰/۴۵**	-۰/۴۲**	-۰/۳۳**	-۰/۲۴**	-۰/۳۲**	-۰/۸۰	۰/۳۳**	کنترل
-۰/۰۲	-۰/۱۰	-۰/۱۴	-۰/۱۱	-۰/۱۸*	-۰/۱۲	-۰/۱۶*	-۰/۱۵	-۰/۲۱**	تعهد
-۰/۱۵	-۰/۰۵	-۰/۱۶*	-۰/۱۶*	-۰/۱۱	۰/۰۰۴	-۰/۰۶	۰/۰۲	-۰/۰۴	چالش

P ≤ ۰/۰۰۱**، P ≤ ۰/۰۵*

جدول ۴. نتایج تحلیل Logistic regression برای متغیرهای پیش‌بینی کننده با استفاده از روش گام به گام (Forward stepwise)

Alexithymia		شدت علایم گوارشی		سرسختی
مدل ۲	مدل ۱	مدل ۲	مدل ۱	
OR (۹۵ CI درصد)	OR (۹۵ CI درصد)	OR (۹۵ CI درصد)	OR (۹۵ CI درصد)	
۰/۹۱۱ (۰/۸۷۲-۰/۹۵۲)	۰/۹۱۳ (۰/۸۷۵-۰/۹۵۲)	۰/۹۲۷ (۰/۸۶۶-۰/۹۹۳)	۰/۹۲۱ (۰/۸۶۱-۰/۹۸۵)	کنترل

Model 1: crude, Model 2: age, sex, disease, educational level adjusted; OR: Odds ratio; CI: Confidence interval

Logistic regression در جدول ۴ ارائه شده است. مدل ۱ نشان می‌دهد که تنها عامل کنترل، به عنوان یک عامل محافظتی هم برای علایم گوارشی و هم برای Alexithymia مطرح است و شانس ابتلا به آن‌ها را کاهش می‌دهد. با تعدیل متغیرهای دموگرافیک (مدل ۲) تغییری در نتایج و معنی‌داری آن‌ها حاصل نشد.

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بین سرسختی روان‌شناختی و دو مؤلفه‌ی کنترل و تعهد آن و شدت علایم گوارشی رابطه‌ی منفی و معنی‌داری وجود دارد. در همین راستا، بررسی‌های مختلف نیز گویای آن است که سرسختی با سلامت جسمی و روانی رابطه‌ی مثبتی دارد و به عنوان یک منبع مقاومت درونی، تأثیرات منفی استرس را کاهش می‌دهد و

برای بررسی رابطه‌ی بین متغیرهای پژوهش از ضریب همبستگی Pearson استفاده گردید. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بین سرسختی کل و مؤلفه‌های کنترل و تعهد با شدت علایم گوارشی و سرسختی کل و مؤلفه‌های کنترل و چالش با Alexithymia ارتباط منفی معنی‌داری وجود داشت، اما بین مؤلفه‌ی چالش با شدت علایم گوارشی و مؤلفه‌ی تعهد و Alexithymia رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین ضرایب همبستگی با متغیرها مربوط به عامل کنترل بود.

در پژوهش حاضر برای بررسی نقش محافظت‌کنندگی متغیرها از تحلیل Logistic regression به روش گام به گام (Forward stepwise) استفاده گردید. از این‌رو، سرسختی و مؤلفه‌های مربوط به آن به عنوان پیش‌بین شدت علایم گوارشی و Alexithymia وارد معادله شد. نتایج حاصل از تحلیل

می‌تواند از بروز اختلالات جسمی و روانی پیشگیری کند (۳۳-۳۵). بدین ترتیب، سرسختی با سلامت بیشتر و شکایات جسمی کمتر در ارتباط است (۴). Taylor و همکاران در مطالعه‌ی خود، ارتباط بین سرسختی و سلامت جسمی و روانی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه‌ی آنان نشان داد که سرسختی با سلامت روانی ارتباط دارد، اما این رابطه به وسیله‌ی سلامت جسمی میانجیگری می‌شود (۳۶). در پژوهش دیگری، امکان تأثیرات میانجیگری (غیر مستقیم) سرسختی بر ارتباط بین رویدادهای استرس‌زای زندگی و بهزیستی روان‌شناختی و جسمی بررسی گردید. نتایج حاکی از تأثیر مستقیم سرسختی بر علایم جسمی بود و این امر نشان می‌دهد که ویژگی سرسختی، افراد را از علایم جسمی محافظت می‌کند و با بهزیستی جسمی آن‌ها در ارتباط است (۳۷).

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، بین سرسختی روان‌شناختی و دو مؤلفه‌ی کنترل و چالش و Alexithymia رابطه‌ی منفی و معنی‌داری وجود دارد. این نتایج با پژوهش‌های قبلی که بین ویژگی‌های شخصیتی و تنظیم هیجان رابطه‌ی معنی‌داری را گزارش کرده‌اند (۲۱-۲۳)، مطابقت دارد. مطالعه‌ای گزارش کرد که برون‌گرایی، روان رنجوری و سرسختی با راهبردهای تنظیم هیجان (۲۲، ۱۲)، تجربه‌گرایی با توانایی تشخیص هیجان (۲۳) و توافق‌پذیری با چگونگی ابراز هیجان‌های منفی ارتباط دارد (۳۹). داووی و افشاری در تحقیق خود بیان کردند که ویژگی‌های شخصیتی منفی (ناسازگارانه) مانند روان رنجوری بالا با Alexithymia بالا و ویژگی‌های شخصیتی مثبت همچون تجربه‌گرایی و توافق‌پذیری بالا با Alexithymia پایین در ارتباط است (۲۵).

افراد دچار Alexithymia دارای ویژگی‌های خاصی هستند که جرأت‌مندی را در آن‌ها کاهش داده، زمینه‌ی اجتناب از رویدادهای استرس‌زا و ناتوانی مقابله با آن‌ها را فراهم می‌کند. همین امر می‌تواند سلامت جسمی و روانی این افراد را به خطر اندازد؛ در حالی که افراد سرسخت به دلیل برخورداری از سبک خوش‌بینانه و احساس توانمندی در رویارویی با مشکلات و انتظارات مثبت در مورد پیامدها، می‌توانند سلامت روان خود را در رویدادهای پیش‌بینی نشده و ناگوار حفظ کنند (۷).

در تبیین این یافته می‌توان گفت که ویژگی‌های شخصیتی به عنوان منابع محافظ یا خطر ساز درونی، عامل ایجاد افکار و احساسات خوشایند و ناخوشایندی هستند که با ناراحتی‌های جسمی در ارتباط می‌باشد. از این رو، به نظر می‌رسد که افراد سرسخت به دلیل ماهیت شخصیتی خود (داشتن افکار و احساسات خوشایندتر به واسطه‌ی درک استرس‌ها به صورت یک فرصت در زندگی)، عوامل استرس‌زای جزئی‌تر و با شدت کمتری را تجربه می‌کنند و مشکلات جسمی در آن‌ها کمتر مشاهده می‌شود. همچنین افراد سرسخت‌تر با وجود یک بیماری مزمن، کنترل خود را از دست نمی‌دهند و شاید به دلیل احساس توانمندی در رویارویی با بیماری و برخورد فعال و مسأله‌مدارانه، می‌توانند

در تبیین این یافته می‌توان گفت که ویژگی‌های شخصیتی به عنوان منابع محافظ یا خطر ساز درونی، عامل ایجاد افکار و احساسات خوشایند و ناخوشایندی هستند که با ناراحتی‌های جسمی در ارتباط می‌باشد. از این رو، به نظر می‌رسد که افراد سرسخت به دلیل ماهیت شخصیتی خود (داشتن افکار و احساسات خوشایندتر به واسطه‌ی درک استرس‌ها به صورت یک فرصت در زندگی)، عوامل استرس‌زای جزئی‌تر و با شدت کمتری را تجربه می‌کنند و مشکلات جسمی در آن‌ها کمتر مشاهده می‌شود. همچنین افراد سرسخت‌تر با وجود یک بیماری مزمن، کنترل خود را از دست نمی‌دهند و شاید به دلیل احساس توانمندی در رویارویی با بیماری و برخورد فعال و مسأله‌مدارانه، می‌توانند

تلاش، آنچه را که در اطرافشان رخ می‌دهد، تحت تأثیر قرار دهند. چنین اشخاصی برای حل مشکلات به مسؤولیت خود بیش از اعمال و یا اشتباهات دیگران تأکید می‌کنند (۵).

محدودیت‌های پژوهش حاضر شامل ناتوانی در تبیین ارتباط علت و معلول بین متغیرها به دلیل نوع پژوهش (همبستگی) و استفاده از پرسش‌نامه‌های خودسنجی بود که ممکن است متغیرهایی همچون سبک پاسخگویی، انگیزه‌های بیرونی و حالت روان‌شناختی بیماران در لحظه‌ی جمع‌آوری داده‌ها اثرات بالقوه‌ای بر پاسخ آن‌ها بگذارد و موجب عدم پاسخگویی صحیح و درک درست از سؤالات شود.

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج نشان می‌دهند که افزایش ویژگی سرسختی در جهت کاهش شدت علایم گوارشی و Alexithymia است و برخی از مؤلفه‌های آن می‌توانند نقش محافظت‌کنندگی داشته باشند. با توجه به این یافته و سایر مطالعات در رابطه با سرسختی، می‌توان نتیجه گرفت اجرای مداخلات مختلف روان‌شناختی که منجر به تقویت این ویژگی و مؤلفه‌های آن می‌گردد، می‌تواند با تغییر در نظام روان‌شناختی بیماران، نقشی اساسی در روند بهبود آن‌ها و کاهش عوامل خطر ساز بیماری از جمله Alexithymia ایفا کند و حتی از بروز بیماری در افراد جلوگیری نماید.

تشکر و قدردانی

از تمامی بیمارانی که در این مطالعه شرکت کردند و ما را در جهت رسیدن به اهداف پژوهشی خود یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

در واقع، سرسختی انتخاب راهبردهای تنظیم هیجان را با تغییر فرایند ارزیابی شناختی افراد، تعدیل می‌کند؛ به طوری که این افراد قادر هستند تجارب ناسازگار را دوباره تفسیر یا تنظیم کنند. در نتیجه انتظار می‌رود که میزان دیسترس‌های روان‌شناختی تجربه شده توسط این افراد کاهش یابد (۱۲). بدین ترتیب، وجود چنین ویژگی می‌تواند برخورد با هیجان‌ها را تسهیل کرده، زمینه‌ی تنظیم مناسب آن‌ها را فراهم نماید. از این رو، بالا بودن ویژگی سرسختی، شاید زمینه‌ی گسترش Alexithymia را در فرد کاهش دهد.

نتایج در رابطه با نقش محافظت‌کنندگی سرسختی و ابعاد آن نشان داد که تنها مؤلفه‌ی کنترل، عامل پیش‌بینی‌کننده‌ای هم برای شدت علایم گوارشی و هم برای Alexithymia است. به عبارت دیگر، این عامل شاید شانس ابتلا به علایم گوارشی شدید و Alexithymia بالا را در اختلالات عملکردی گوارشی تحت تأثیر قرار دهد. به نظر می‌رسد که عامل کنترل نقش عمده‌تری در ویژگی سرسختی و به دنبال آن سایر عوامل مرتبط به این ویژگی (سلامت جسمی و روانی) داشته باشد.

نتیجه‌ی حاصل شده شاید به این دلیل باشد که داشتن کنترل و تسلط بر امور روزمره‌ی زندگی در اختلالات عملکردی گوارشی اهمیت زیادی دارد؛ چرا که این اختلالات مزمن هستند و به مرور زمان می‌توانند بر عملکرد فرد تأثیر بگذارند. حوادث پیامد رفتارهایی است که فرد انجام می‌دهد و متغیر کنترل، منعکس‌کننده‌ی میزان تسلط کاملی است که شخص بر عوامل فشارزا دارد. افرادی که در مؤلفه‌ی کنترل قوی هستند، رویدادهای زندگی را قابل پیش‌بینی و کنترل می‌دانند و به این امر باور دارند که می‌توانند با

References

- Kobasa SC, Maddi SR, Puccetti MC, Zola MA. Effectiveness of hardiness, exercise and social support as resources against illness. *J Psychosom Res* 1985; 29(5): 525-33.
- Alizadeh Fard S. Relationship between alexithymia and peptic ulcer disease: Does aggression is a mediator variable between them? *Health Psychology* 2012; 1(4): 71-83. [In Persian].
- Kobasa SC, Maddi SR, Kahn S. Hardiness and health: a prospective study. *J Pers Soc Psychol* 1982; 42(1): 168-77.
- Gebhardt WA, van der Doef MP, Paul LB. The Revised Health Hardiness Inventory (RRHI-24): psychometric properties and relationship with self-reported health and health behavior in two Dutch samples. *Health Educ Res* 2001; 16(5): 579-92.
- Lindzey G, Thompson R, Spring BJ. *Psychology*. 3rd ed. New York, NY: Worth Publishers; 1988.
- van Servellen G, Topf M, Leake B. Personality hardiness, work-related stress, and health in hospital nurses. *Hosp Top* 1994; 72(2): 34-9.
- Rahimian Boogar E, Asgharnejad Farid A. The relationship between psychological hardiness also ego-resiliency and mental health in adolescent and adult survivors of Bam earthquake. *Iran J Psychiatry Clin Psychol* 2008; 14(1): 62-70. [In Persian].
- Banks JK, Gannon LR. The influence of hardiness on the relationship between stressors and psychosomatic symptomatology. *Am J Community Psychol* 1988; 16(1): 25-37.
- Maddi S, Harvey RH, Khoshaba DM, Fazel M, Resurreccion N. The personality construct of hardiness, IV. *Journal of Humanistic Psychology* 2009; 49(3): 292-305.
- Shirbim Z, Sodani M. A survey on, the relationship between the hardiness inventory and mental health and of nursing and midwife students in azad university of Gachsaran. *Proceedings of the 1st Regional Conference on Family Health*; 2008 Dec 16; Ahvaz, Iran. [In Persian].
- Engel JH, Siewerdt F, Jackson R, Akobundu U, Wait C, Sahyoun N. Hardiness, depression, and emotional well-being and their association with appetite in older adults. *J Am Geriatr Soc* 2011; 59(3): 482-7.
- Subramanian S, Nithyanandan DV. Hardiness and optimism as moderators of the types of cognitive emotion regulation strategies among adolescents who had encountered negative life events. *J Indian Health Psychology* 2008; 2: 167-77.
- Dua JK. Comparative predictive value of attributional style, negative affect, and positive affect in predicting self-reported physical health and psychological health. *J Psychosom Res* 1994; 38(7): 669-80.
- Bergdahl J, Armelius K, Armelius BA. Affect-based treatment and outcome for a group of psychosomatic patients. Cambridge, UK: University Publishing Online; 2000. p. 1-16.
- Gross JJ, Muñoz RF. Emotion regulation and mental health. *Clinical Psychology: Science and Practice* 1995; 2(2): 151-64.
- Aghayar S, Sharifi Daramadi P. Emotional intelligence. Tehran, Iran: Sepahan Publication; 2006. [In Persian].
- Bagby RM, Taylor GJ, Ryan D. Toronto alexithymia scale: relationship with personality and psychopathology measures. *Psychother Psychosom* 1986; 45(4): 207-15.
- Motan I, Gencoz T. The relationship between the dimensions of alexithymia and the intensity of depression and anxiety. *Turk Psikiyatri Derg* 2007; 18(4): 333-43.
- Porcelli P, Taylor GJ, Bagby RM, de Carne M. Alexithymia and functional gastrointestinal disorders. A comparison with inflammatory bowel disease. *Psychother Psychosom* 1999; 68(5): 263-9.
- Kessler H, Kammerer M, Hoffmann H, Traue HC. [Regulation of emotions and alexithymia: a correlative study]. *Psychother Psychosom Med Psychol* 2010; 60(5): 169-74.
- Trógolo M, Medrano LA. Personality traits, difficulties in emotion regulation and academic satisfaction in a sample of argentine college students. *International Journal of Psychological Research* 2012; 5(2): 30-9.
- Davies M, Stankov L, Roberts RD. Emotional intelligence: in search of an elusive construct. *J Pers Soc Psychol* 1998; 75(4): 989-1015.
- Terracciano A, Merritt M, Zonderman AB, Evans MK. Personality traits and sex differences in emotions recognition among African Americans and caucasians. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1000: 309-12.
- Calkins SD. Origins and outcomes of individual differences in emotion regulation. In: Fox NA, Editor. *The development of emotion regulation: biological and behavioral considerations*. Chicago, IL: University of Chicago Press; 1994. p. 53-72.
- Davodi I, Afshari A. The survey of relationship of alexithymia and personality traits in students. *Research in Clinical Psychology and Counseling* 2011; 1(2): 137-50. [In Persian].

26. Lang A, Goulet C, Amsel R. Lang and Goulet Hardiness Scale: development and testing on bereaved parents following the death of their fetus/infant. *Death Stud* 2003; 27(10): 851-80.
27. Roshan R, Shakeri R. The evaluation of reliability and validity a scale for measuring hardiness in students. *Daneshvar Raftar* 2010; 17(40): 35-52. [In Persian].
28. Bagby RM, Parker JD, Taylor GJ. The twenty-item Toronto Alexithymia Scale--I. Item selection and cross-validation of the factor structure. *J Psychosom Res* 1994; 38(1): 23-32.
29. Müller J, Alpers G, Reim N. Abnormal attentional bias in alexithymia. *Journal of Psychosomatic Research* 2004; 56(6): 617.
30. Besharat MA. Psychometric characteristics of Persian version of the Toronto alexithymia scale-20 in clinical and non-clinical samples. *Iran J Med Sci* 2008; 33(1): 1-6.
31. Revicki DA, Wood M, Wiklund I, Crawley J. Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale in patients with gastroesophageal reflux disease. *Qual Life Res* 1998; 7(1): 75-83.
32. Mazaheri M, SadatKhoshouei M. Comparison between psychometric characteristics of Persian version of the gastrointestinal symptoms rating scale in functional gastrointestinal disorders and normal groups. *GOVARESH* 2012; 17(1): 18-24. [In Persian].
33. Kobasa SC. Stressful life events, personality, and health: an inquiry into hardiness. *J Pers Soc Psychol* 1979; 37(1): 1-11.
34. Florian V, Mikulincer M, Taubman O. Does hardiness contribute to mental health during a stressful real-life situation? The roles of appraisal and coping. *J Pers Soc Psychol* 1995; 68(4): 687-95.
35. Brooks MV. Health-related hardiness and chronic illness: a synthesis of current research. *Nurs Forum* 2003; 38(3): 11-20.
36. Taylor MK, Pietrobon R, Taverniers J, Leon MR, Fern BJ. Relationships of hardiness to physical and mental health status in military men: a test of mediated effects. *J Behav Med* 2013; 36(1): 1-9.
37. Nakano K. Hardiness, type A behavior, and physical symptoms in a Japanese sample. *J Nerv Ment Dis* 1990; 178(1): 52-6.
38. Drossman D, Creed F, Olden K, Svedlund J, Toner B, Whitehead W. Psychosocial aspects of the functional gastrointestinal disorders. *Gut* 1999; 45(Suppl 2): 25-30.
39. McCrae RR, Costa PT. Personality trait structure as a human universal. *Am Psychol* 1997; 52(5): 509-16.

The Relationship of Psychological Hardiness with Alexithymia and Severity of Gastrointestinal Symptoms in Patients with Functional Gastrointestinal Disorders

Mina Mazaheri MSc¹

Original Article

Abstract

Background: It is assumed that the hardiness, as a positive natural factor, can increase mental health in spite of the experience of stressful situations. The present study investigated the relationship of psychological hardiness with alexithymia and severity of gastrointestinal symptoms in patients with functional gastrointestinal disorders.

Methods: In this descriptive-correlation study, the statistical population consisted of all patients with functional gastrointestinal disorders referred to the Subspecialty Center of Psychiatry in Isfahan, Iran. Sampling was done via census method, namely, 167 patients were selected according to the study criteria and during a certain period of time. To collect information, the scales of the psychological hardiness (Lang and Goulet Hardiness Scale or LGHS), the Toronto Alexithymia Scale (TAS-20) and the Gastrointestinal Symptoms Rating Scale (GSRS) were used.

Findings: The Pearson correlation test showed that there were significant negative correlations between the hardiness total score and the components of control and commitment with severity of gastrointestinal symptoms, and the hardiness total score and the components of control and challenge. However, logistic regression analyses showed that only, the control factor was as a protective factor for both severity of gastrointestinal symptoms and alexithymia.

Conclusion: The implementation of psychological interventions that lead to the reinforcement of the features of hardiness and its components can alter patients' psychological system. Thus, it takes an essential step in healing process and decreases the risk factors of disease, such as alexithymia, and even prevent illness incidence.

Keywords: Psychological hardiness (control, commitment and challenge), Severity of gastrointestinal symptoms, Alexithymia

Citation: Mazaheri M. The Relationship of Psychological Hardiness with Alexithymia and Severity of Gastrointestinal Symptoms in Patients with Functional Gastrointestinal Disorders. J Isfahan Med Sch 2015; 33(328): 378-88

1- PhD Student, Psychosomatic Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mina Mazaheri MSc, Email: mina.mazaheri@gmail.com

اثرات داروهای ضد التهابی ایبوپروفن و ایندومتاسین بر ردهی سلولی لوسمی میلوئیدی مزمن K562 در شرایط آزمایشگاهی

افسانه باپیری^۱، دکتر مهدی محمدزاده^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در اغلب سرطان‌ها، میزان آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ (COX-2) به واسطه‌ی دخالت در سنتز پروستاگلاندین‌ها افزایش می‌یابد. بنابراین، مهار COX-2 می‌تواند نقش مؤثری در درمان سرطان ایفا کند. هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثر داروهای ضد التهابی ایبوپروفن و ایندومتاسین بر رشد و تکثیر ردهی سلولی K562 بود.

روش‌ها: ابتدا، سلول‌های K562 کشت داده شد. سپس، سلول‌ها با استفاده از غلظت‌های مختلف ایبوپروفن و ایندومتاسین مورد تیمار قرار گرفتند. خصوصیت ضد توموری داروها بر سلول‌های K562 بعد از ۷۲ ساعت، با استفاده از روش MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-] [diphenyltetrazolium bromide] در سه تکرار سنجیده شد. جهت مطالعه‌ی آپتوز از الکتروفورز DNA و رنگ‌آمیزی DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) استفاده گردید.

یافته‌ها: ایبوپروفن و ایندومتاسین دارای خاصیت ضد توموری بر روی سلول‌های K562 بودند و این اثر با افزایش زمان و غلظت افزایش یافت؛ به طوری که، در غلظت‌های بالاتر و ۷۲ ساعت بعد از تیمار، شاهد بیشترین اثرات مهار داری داروها بودیم. بررسی‌های آماری نشان داد که هر دو دارو به طور معنی‌داری قادر هستند، رشد ردهی K562 را مهار سازند ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های ما، اثرات ضد توموری ایبوپروفن و ایندومتاسین در پیشگیری و درمان لوسمی میلوئید مزمن مؤثر است؛ اما نیاز به بررسی‌های بیشتر بنیادی و بالینی وجود دارد.

واژگان کلیدی: داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی، ایندومتاسین، ایبوپروفن، ردهی سلولی K562، خاصیت ضد توموری

ارجاع: باپیری افسانه، محمدزاده مهدی. اثرات داروهای ضد التهابی ایبوپروفن و ایندومتاسین بر ردهی سلولی لوسمی میلوئیدی

مزمن K562 در شرایط آزمایشگاهی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۸): ۳۸۹-۳۹۹

لنفای است که توسط گلبول‌های سفید خون و لنف به وجود می‌آید (۱). سرطان خون با توجه به منشأ سلولی به دو دسته‌ی میلوئیدی و لنفوئیدی و با توجه به سیر بیماری به مزمن و حاد تقسیم بندی می‌شود. بر این اساس، سرطان خون به چهار گروه لوسمی

مقدمه

امروزه بیش از صد نوع مختلف سرطان در دنیا شناخته شده است که لوسمی یا سرطان خون یکی از انواع شایع و مهلک آن می‌باشد. لوسمی، سرطان بافت‌های خون ساز بدن شامل مغز استخوان و دستگاه

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

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

نویسنده‌ی مسؤول: افسانه باپیری

(۱). یکی از انواع درمان‌هایی که امروزه برای مقابله با این سرطان انجام می‌گیرد، شیمی‌درمانی است. متداول‌ترین نوع درمان برای لوسمی بر حسب نوع آن ممکن است یک دارو یا ترکیبی از داروهای شیمیایی مختلف باشد. داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی (Non-steroid anti inflammation drugs یا NSAIDs)، فعالیت ضد درد، تب‌بر و ضد التهابی را تحت تأثیر قرار می‌دهند که به طور وسیعی با توانایی این داروها در غیر فعالسازی آنزیم‌های سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ (Cyclooxygenase 1, 2) یا COX-1 و COX-2) و آنزیم‌های مسئول برای سنتز پروستاگلاندین‌ها در ارتباط هستند (۶).

نتایج مطالعات در سال‌های اخیر نشان داده است NSAIDs می‌توانند با فعالیت شیمی‌درمانی امیدوار کننده به خصوص برای درمان سرطان روده و با مهار بیان میزان بالای COX-2، مورد توجه قرار گیرند (۷). یکی از مکانیسم‌های عملکردی این داروها، القای آپوپتوز و مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌باشد (۷). اساس فارماکولوژی برای فعالیت‌های بازدارنده‌ی سرطان و ضد توموری این داروها ممکن است مهار COX-2 باشد؛ چرا که پروستاگلاندین‌های تولید شده توسط COX-2 می‌توانند مهاجم، آنژیوژنز تومور و پیشرفت در سرطان‌ها را افزایش دهند. این آنزیم می‌تواند در درمان بسیاری از سرطان‌ها مانند سرطان روده، سینه، پروستات، پانکراس، ریه، معده و تخمدان مورد هدف محققان قرار گیرد (۸).

نتایج پژوهش‌های محققان نشان می‌دهد که استفاده‌ی منظم از ایندومتاسین، باعث کاهش ۶۸-۶۱ درصدی سرطان ریه، کاهش رشد سلولی و تغییرات مورفولوژیک در آن‌ها می‌شود (۹). همچنین

لنفوبلاستیک حاد (Acute lymphoblastic leukemia یا ALL)، لوسمی میلوئیدی حاد (AML یا Acute myeloid leukemia)، لوسمی لنفوبلاستیک مزمن (Chronic lymphoblastic leukemia یا CLL) و لوسمی میلوئیدی مزمن (CML یا Chronic myeloid leukemia) طبقه‌بندی می‌گردد (۲).

لوسمی میلوئیدی مزمن که ۱۵ تا ۲۰ درصد از انواع لوسمی‌ها را تشکیل می‌دهد، به دلیل یک جابه‌جایی دو طرفه بین ژن Ab1 بر روی کروموزوم ۹ و ژن BCR بر روی کروموزوم ۲۲ در سلول‌های بنیادی خونی چند توان (Totipotent blood stem cells) ایجاد می‌شود (۳). انکوژن BCR-Ab1 حاصل از این جابه‌جایی، پروتئین p210Bcr-Ab1 را که یک تیروزین کیناز با فعالیت مداوم می‌باشد، کد می‌کند. این پروتئین علاوه بر تکثیر بی‌رویه و مستقل از فاکتور رشد سلول‌های پیش‌ساز میلوئیدی، باعث اختلال در آپوپتوز آن‌ها نیز می‌گردد. تاکنون چهار رده‌ی سلولی از لوسمی میلوئیدی مزمن شناخته شده است که یکی از آن‌ها K562 می‌باشد. سلول‌های K562 جزء سلول‌های سرطانی خون با منشأ میلوئیدی است که اولین بار در یک پیرزن ۵۳ ساله‌ی مبتلا به سرطان خون تشخیص داده شد. این رده‌ی سلولی به واسطه‌ی برخی ویژگی‌های خاص جهت تحقیقات آزمایشگاهی، بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴-۵).

بر خلاف سایر انواع سرطان‌ها، لوسمی تومور جامد (Solid tumor) توپر نیست که پزشک بتواند با عمل جراحی آن را خارج نماید. در واقع مغز استخوان منبع این مشکل است، بنابراین درمان لوسمی بسیار پیچیده‌تر از سایر سرطان‌ها می‌باشد

حل گردید. بدین ترتیب رقت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر از ایبوپروفن و ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر از ایندومتاسین به دست آمد (۱۲).

سنجش خاصیت ضد توموری ایبوپروفن و ایندومتاسین با روش MTT [3-(4,5)-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide] پس از سانتیفریژ (Sigma, Germany) و شمارش سلول‌های K562 به روش تریپان‌بلو (Trypan blue) (Merck, Germany)، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از آن (با تراکم ۲۰۰۰۰ سلول در محیط کشت کامل RPMI به همراه ۱۵ درصد سرم جنین گاوی) (Gibco, England) به هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای ته صاف اضافه شد. سپس ۲ میکرولیتر از رقت‌های مختلف داروهای ایبوپروفن و ایندومتاسین به چاهک‌ها اضافه گردید. سه چاهک تنها دارای ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی سلول بودند و به سه چاهک دیگر علاوه بر محیط کشت حاوی سلول، ۲ میکرولیتر DMSO (Dimethyl sulfoxide) رقیق شده (۲ میکرولیتر DMSO در ۱ میلی‌لیتر محیط کشت) نیز اضافه گردید و به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در مرحله‌ی بعد، پلیت‌ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و در حضور ۵ درصد دی‌اکسید کربن گرمخانه‌گذاری شدند. این مراحل در سه روز تکرار شد.

پس از پایان زمان انکوباسیون، ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بافر PBS (Phosphate buffered saline) (Sigma, Germany) به تمامی چاهک‌ها افزوده، میکروپلیت به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. در این مدت،

ایندومتاسین، تقسیم سلول‌های لوسمی حاد HL60 را در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میکرومولار کاهش می‌دهد و این اثر ناشی از کاهش میزان پروستاگلاندین E2 در محیط کشت می‌باشد (۱۰). بررسی‌های بعدی در این راستا حاکی از آن بود که مصرف نوع خوراکی داروی ایبوپروفن می‌تواند خطر سرطان سینه را به میزان ۴۳ درصد کاهش دهد (۱۱). بر این اساس، هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی تأثیر داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی ایبوپروفن و ایندومتاسین بر رده‌ی سلول‌های اریترومیلوئیدی K562 بود.

روش‌ها

این مطالعه در آزمایشگاه کشت سلول (شرایط آزمایشگاهی) گروه زیست‌شناسی دانشکده‌ی علوم دانشگاه ارومیه و طی مراحل زیر در مدت زمان نزدیک به یک سال انجام شد.

تهیه‌ی سلول‌های سرطانی و کشت آن‌ها: رده‌ی سرطانی K562 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران (CI22) تهیه شد و در محیط کشت RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پن‌استریپ (پنی‌سیلین + استرپتومایسین) (Gibco, England) در انکوباتور (Memert, Germany) با ۵ درصد دی‌اکسید کربن و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد کشت داده شد (۱۲).

تهیه‌ی غلظت‌های مختلف ایندومتاسین و ایبوپروفن: جهت تهیه‌ی غلظت‌های مختلف ایندومتاسین و ایبوپروفن، ۲ میکرولیتر از داروهای ایبوپروفن و ایندومتاسین در ۱ میلی‌لیتر محیط کشت

محتویات توسط بافر TE (Tris-EDTA) (شامل ۱۰ میلی‌مولار Tris و ۱۰ میلی‌مولار EDTA در pH = ۸) (Sigma, Germany) حل شد. DNA آماده شده توسط الکتروفورز (Bio Rad, America) در ژل ۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید جداسازی شد و ژل مورد تصویربرداری قرار گرفت (۱۴).

رنگ‌آمیزی سلول‌های K562 با DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole): در ابتدا در هر چاهک پلیت ۲۴ خانه‌ای، ۱ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی ۵۰۰ هزار سلول ریخته شد و سپس با غلظت IC_{50} (Inhibitory concentration-50) (غلظتی از دارو که ۵۰ درصد سلول‌ها را از بین می‌برد) داروهای ایوپروفن و ایندومتاسین به مدت ۷۲ ساعت تیمار گردید. محتویات هر چاهک در میکروتیوب‌های جداگانه ریخته، با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ۲۰۰-۱۰۰ میکرولیتر متانول بر روی رسوب سلولی ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. سلول‌ها دوباره سانتریفوژ شد و روی رسوب ۵۰۰ میکرولیتر بافر PBS همراه با ۱ میکرولیتر رنگ DAPI (Sigma, Germany) رقیق شده (۱ میکرولیتر رنگ در ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات PBS حل گردید) اضافه گردید و ۳۰ دقیقه در فضای آزمایشگاه انکوبه شد. در مرحله‌ی آخر و بعد از اتمام انکوباسیون سلول‌های سانتریفوژ شده، رسوب با ۱۰۰ میکرولیتر بافر PBS مخلوط شد و از هر یک از محلول‌های سلولی یک قطره روی لام گذاشته و بر روی آن لامل قرار داده شد. محلول سلولی به دست آمده به عنوان نمونه با کمک میکروسکوپ فلورسنت (Zeiss, Germany) فیلتردار

آنزیم سوکسینات دهیدروژناز موجود در میتوکندری سلول‌های سالم و زنده، برم محلول MTT را احیا کرده، آن را به ذرات نامحلول بنفش رنگ فورمازان تبدیل کرد. کریستال‌های بنفش رنگ فورمازان تشکیل شده در سیتوپلاسم سلول‌ها، با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر محلول DMSO خالص به چاهک‌ها و قرار دادن پلیت به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه در Shaker انکوباتور (Biotek, South Korea)، حل شدند. در نهایت شدت نور جذب شده در طول موج ۴۹۲ نانومتر با استفاده از دستگاه Elisa reader (Stat Fax, USA) ثبت گردید. درصد سلول‌کشی دو داروی مذکور با فرمول زیر محاسبه گردید (۱۳):

$$100 \times \left(\frac{\text{نور جذب شده‌ی گروه شاهد}}{\text{نور جذب شده‌ی گروه نمونه}} \right) = \text{سلول‌کشی (درصد)}$$

سنجش قطعه قطعه شدن DNA: قطعه قطعه شدن DNA بعد از استخراج آن از سلول‌ها اندازه‌گیری شد. تعداد $10^6 \times 2$ سلول در هر فلاسک با تیمارهای مختلف ریخته شد. بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون، ۵۰۰ میکرولیتر بافر لیز [حاوی ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۱۰ میلی‌مولار EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid)، ۵۰ میلی‌مولار Tris و ۰/۵ درصد SDS (Sodium dodecyl sulfat)، pH = ۸] و ۲۰۰ گرم بر میلی‌لیتر پروتئیناز K (Sigma, Germany) به سلول‌ها اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت در دمای ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شد. DNA با فنل / کلروفرم / ایزوآمیل الکل استخراج شد. جهت رسوب DNA، اتانول خالص و نمک ۶ مولار افزوده شد و بعد از یک شبانه‌روز نگهداری در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد،

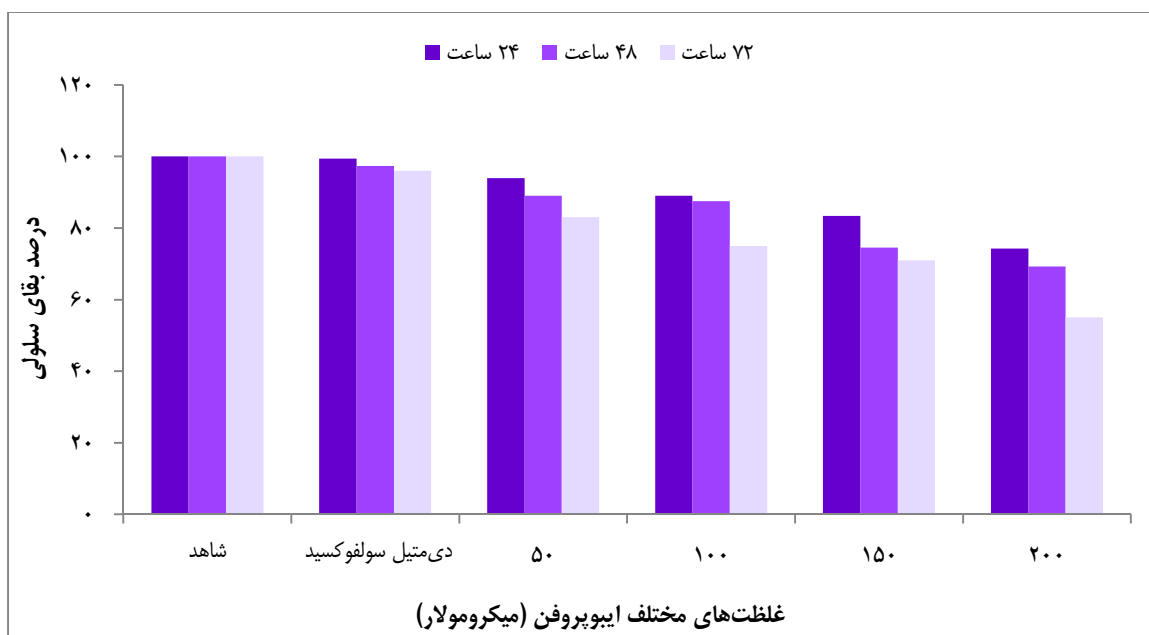
ایبوپروفن در غلظت‌های مختلف به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد. یافته‌ها حاکی از تأثیر ایبوپروفن بر کاهش رشد سلولی در مقایسه با نمونه‌ی شاهد بود و اثر این دارو بر رشد سلولی، به زمان و غلظت مصرفی دارو وابسته می‌باشد؛ به طوری که با افزایش غلظت و زمان، اثر بهتری مشاهده می‌شود. غلظت‌های مختلف ایبوپروفن در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، به طور معنی‌داری موجب کاهش رشد سلولی شد ($P < 0/05$). بیشترین اثر در غلظت ۲۰۰ میکرولیتر و در زمان ۷۲ ساعت مشاهده گردید که برابر با ۴۵ درصد کاهش رشد سلولی بود، اما درصد سلول‌کشی در ۲۴ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۲۶ و ۳۱ درصد بود (شکل ۱). همچنین IC_{50} ایبوپروفن برابر با ۳۱۵ میکرومولار محاسبه شد. لازم به ذکر است که غلظت‌ها در تمام مراحل آزمایش تنها با گروه شاهد مقایسه گردید.

DAPI با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ مورد ارزیابی و تصویربرداری قرار گرفت (۱۵). جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون t استفاده شد و نمودارها در نرم‌افزار Excel رسم گردید. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

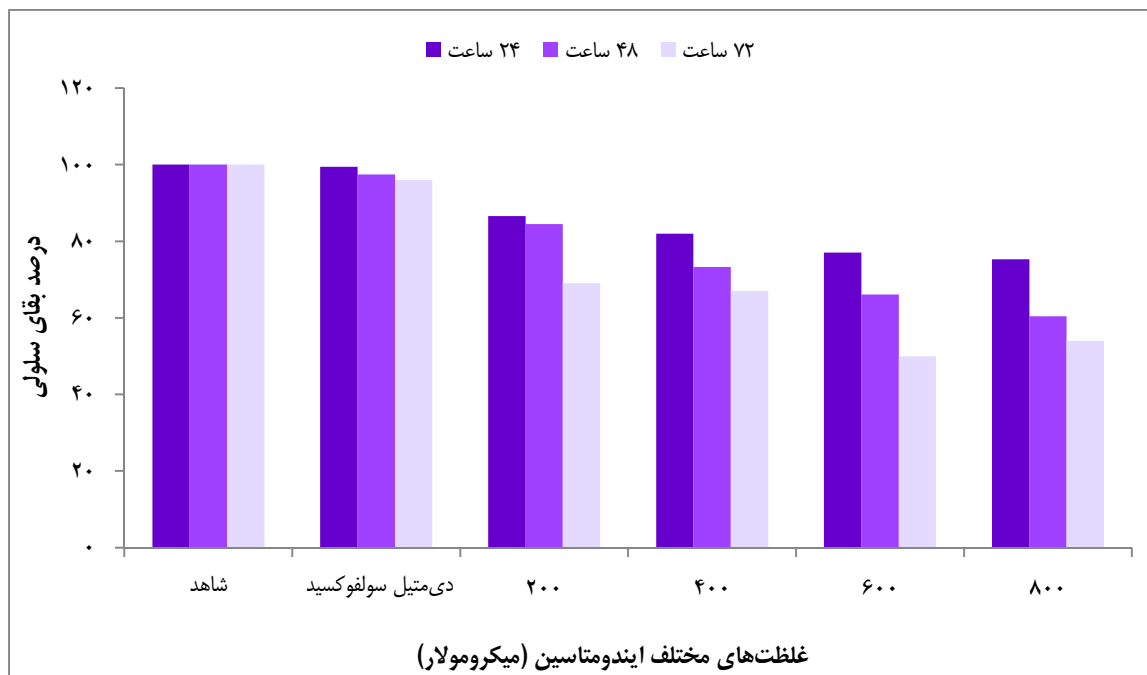
یافته‌ها

اثر ایبوپروفن بر روی تقسیم سلولی

داروهای ضد التهابی خطر پیشرفت سرطان‌های خاصی را کاهش می‌دهند. برای نمونه NSAIDs با کاهش التهاب مرتبط با تومور، منجر به کاهش خطر پیشرفت سرطان‌های کولون، سینه، ریه و پروستات می‌شوند (۸). در مطالعه‌ی حاضر جهت بررسی اثر داروی ضد التهابی غیر استروئیدی ایبوپروفن بر روی تقسیم سلولی K562، از روش MTT استفاده گردید. برای این منظور، سلول‌های K562 با



شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف ایبوپروفن بر روی سلول‌های K562 بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار



شکل ۲. اثر غلظت‌های مختلف ایندومتاسین بر روی سلول‌های K562 بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار

میکرومولار به دست آمد.

بررسی آپوپتوز توسط ایبوپروفن و ایندومتاسین

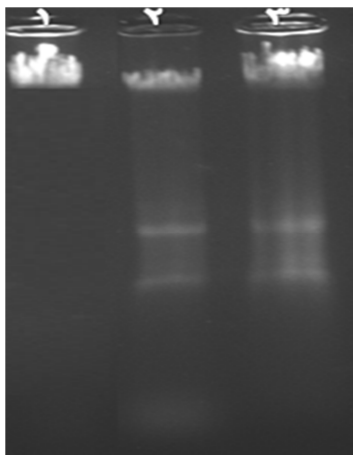
در طی فرایند آپوپتوز، کروماتین به قطعات کوچکی به نام الیگومر تبدیل می‌گردد (حدود ۱۸۰ جفت باز). این قطعات هنگام جداسازی به صورت باندهایی بر روی ژل ظاهر می‌شوند (۱۶).

جهت بررسی آپوپتوز سلول‌های K562 با غلظت‌های IC_{50} ، ایبوپروفن و ایندومتاسین به مدت ۷۲ ساعت تیمار شدند. همان‌گونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت و رنگ‌آمیزی DAPI مشخص شد که در میان سلول‌های تیمار شده با ایبوپروفن و ایندومتاسین پس از گذشت ۷۲ ساعت در مقایسه با سلول‌های شاهد، سلول‌هایی با هسته‌ی قطعه‌قطعه شده وجود دارد که نشان دهنده‌ی مرگ سلولی از نوع آپوپتوز می‌باشد. به منظور اثبات وقوع آپوپتوز از آزمون قطعه‌قطعه

اثر ایندومتاسین بر روی تقسیم سلولی

فعالیت ضد سرطانی داروهای ضد التهابی مانند آسپرین در بسیاری از سرطان‌ها مانند سرطان روده و لوسمی تأیید شده است (۶). بنابراین در مطالعه‌ی حاضر اثر مهار ایندومتاسین بر روی رشد سلول سرطانی K562 بررسی گردید.

جهت تعیین اثر ایندومتاسین بر روی تقسیم سلول لوسمی، سلول‌های K562 با غلظت‌های مختلف ایندومتاسین کشت داده شدند. نتایج حاصل از روش MTT نشان داد که ایندومتاسین موجب مهار رشد سلولی (وابسته به زمان و غلظت) می‌شود (شکل ۲). کاهش ۴۶ درصدی رشد سلولی در غلظت ۸۰۰ میکرومولار بعد از ۷۲ ساعت تیمار مشاهده گردید؛ در حالی که درصد سلول‌کشی در همین غلظت در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار به ترتیب ۲۵ و ۴۰ درصد بود. IC_{50} ایندومتاسین نیز برابر با ۱۳۲۷



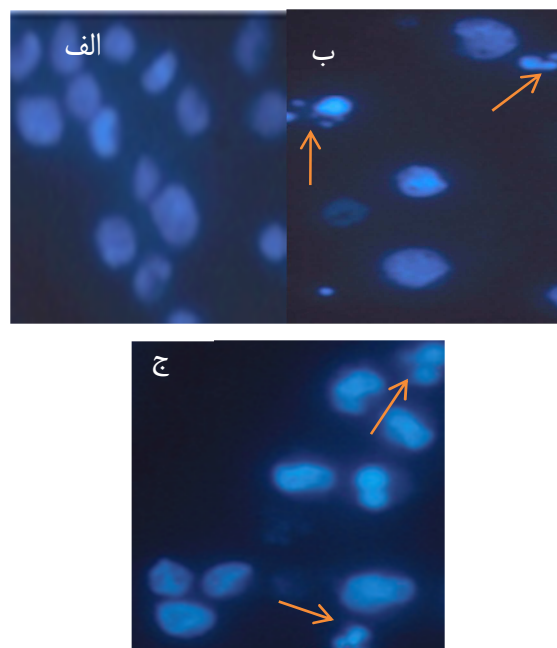
شکل ۴. بررسی قطعه قطعه شدن DNA سلول‌های K562 تحت تیمار غلظت‌های IC₅₀ از ایبوپروفن و ایندومتاسین بعد از ۷۲ ساعت بر روی ژل الکتروفورز
چاهک ۱ = شاهد، چاهک ۲ = ایندومتاسین و چاهک ۳ = ایبوپروفن

بحث

بررسی‌های اپیدمیولوژی نشان داده است که حدود ۲۰ درصد از مرگ‌های ناشی از سرطان، با التهاب برطرف نشده و مزمن مرتبط است. التهاب و عفونت مزمن با تومورزایی در یک نفر از پنج بیمار مبتلا به سرطان در سراسر جهان ارتباط دارد (۸). مطالعات گزارش کرده‌اند که داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی از جمله آسپرین، ایبوپروفن، ایندومتاسین و... علاوه بر تسکین درد و کنترل التهاب، دارای اثرات ضد سرطانی و پیش‌آپوپتوز در انواع سلول‌های سرطانی می‌باشند (۱۳، ۱۵، ۱۷). با توجه به اهمیت داروهای ضد التهابی در جلوگیری از سرطان در مطالعه‌ی حاضر، اثر توکسیک غلظت‌های مختلف ایبوپروفن و ایندومتاسین بر رده سلولی K562 مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج مطالعات حاکی از آن است که ایبوپروفن در سرطان روده و پروستات، باعث توقف چرخه‌ی

شدن DNA توسط الکتروفورز ژل آگارز استفاده گردید؛ چرا که که قطعه قطعه شدن DNA یکی از مشخصه‌های مهم آپوپتوز می‌باشد. بر اساس نتایج، داروهای ایبوپروفن و ایندومتاسین باعث تغییر در الگوی ژنومی سلول‌های K562 تیمار شده در مقایسه با سلول‌های شاهد (تیمار نشده) گردید (شکل ۴). DNA سلول‌های K562 تیمار شده بر روی ژل الکتروفورز حرکت می‌کنند؛ در حالی که این حالت در سلول‌های شاهد مشاهده نمی‌گردد. پس این آزمون در کنار داده‌های به دست آمده از میکروسکوپ فلورسنت نشان دهنده‌ی آن است که داروهای ضد التهابی مذکور از طریق آپوپتوز سبب القای مرگ در سلول‌های K562 می‌شوند.



شکل ۳. نمای میکروسکوپ فلورسنت از سلول‌های K562

رنگ‌آمیزی شده با DAPI (2-4',6-diamidino)

phenylindole جهت بررسی آپوپتوز پس از ۷۲ ساعت

سلول‌های بدون تیمار (قسمت الف)، سلول‌های تیمار شده با

غلظت IC₅₀ از ایبوپروفن (قسمت ب) و سلول‌های تیمار شده با

غلظت IC₅₀ از ایندومتاسین (قسمت ج)

همچنین، میزان تولید پروستاگلاندین‌ها را ۷۰-۳۰ درصد کاهش می‌دهد و اثر آن وابسته به زمان و غلظت است (۹).

در تحقیق حاضر تأثیر داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی ایبوپروفن و ایندومتاسین بر رشد رده‌ی سلول‌های سرطانی K562 (سرطان سلول‌های میلوئیدی خون انسان) بررسی شد. هر دو دارو توانستند رشد سلول‌های سرطانی را به طور معنی داری مهار سازند ($P < 0.05$)؛ به طوری که با افزایش غلظت، قدرت سلول کشی آن‌ها افزایش یافت و بیشترین اثر پس از ۷۲ ساعت مشاهده گردید. بر اساس نتایج بررسی‌های مختلف، هدف عملکردی این داروها می‌تواند آنزیم سیکلوآکسیژناز باشد؛ چرا که COX-2 در بیشتر سرطان‌ها افزایش پیدا می‌کند و پروستاگلاندین‌های حاصل از COX-2 در سرطان‌زایی نقش مهمی دارد. این یافته‌ها با نتایج تحقیقات دیگر مشابه است.

مطالعه‌ای نشان داد که سلوکوکسیب در غلظت ۱۰۰ میکرومولار به طور قابل توجهی تقسیم سلول‌های لنفوما را مهار می‌کند. علت تومورزایی با افزایش بیان COX-2 مرتبط با مقاومت به آپوپتوز می‌باشد. رده‌ی سلولی لنفوما به مدت ۴۸ ساعت با ۵۰ میکرومولار سلوکوکسیب تیمار گردید. بیشتر از ۸۵ درصد آپوپتوز سلولی هم با رنگ آمیزی PI و هم توسط آنکسین V در سلول‌های لنفوما مشاهده شد. در نهایت این که اثر پیش آپوپتیک سلوکوکسیب وابسته به غلظت می‌باشد (۲۳).

Nakamura و همکاران در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند که داروی ضد التهابی غیر استروئیدی Etodolac، تقسیم سلولی را مهار و فرایند آپوپتوز را

سلولی و افزایش تعداد سلول‌ها در فاز G0/G1 و کاهش تعداد سلول‌ها در فاز G2، M و S می‌شود. این دارو در دو مکانیسم، یکی مسیر مستقل از COX و دیگری مسیر وابسته به COX ایفای نقش می‌کند (۱۸-۱۹). Lim و همکاران به این نتیجه رسیدند که مصرف منظم آسپرین (دو بار در هفته به مدت یک ماه یا بیشتر)، خطر سرطان ریه را کاهش می‌دهد (۲۰). Nakanishi و همکاران در مطالعه‌ی خود مهارگرهای انتخابی COX-2 شامل NS-398 و Nabumetone را به ترتیب در غلظت‌های ۷۵ و ۳۵ میکرومولار روی دو رده‌ی سلولی لوسمی U-937 و ML-1 بررسی کردند. نتایج آنان نشان داد که این مهارگرها از طریق مهار COX-2، تقسیم سلولی را توسط القای توقف چرخه‌ی سلولی G0/G1 کاهش می‌دهند (۲۱).

ایبوپروفن و ناپروکسن برای بررسی اثرات بیولوژیک در سلول‌های کارسینومای روده‌ی انسانی HT-29 و Caco-2 با بیان بالا و پایین COX-2 به ترتیب به کار برده شد. هر دو دارو بر تقسیم سلولی تأثیر داشتند و تولید و فعالیت MMP-2 و MMP-9 در سلول‌های مذکور را به طور جزئی کاهش دادند. پروستاگلاندین‌های حاصل از COX-2، در متابولیت‌ها در مهاجم تومور و افزایش متالوپروتئینازها در محیط تومور نقش دارند و اثر این داروها وابسته به زمان و غلظت می‌باشد (۲۲). مطالعات نشان می‌دهد که استفاده‌ی منظم از ایندومتاسین، باعث کاهش ۶۸-۶۱ درصدی سرطان ریه می‌شود. تیمار سلول‌های A549 با ۳۰۰ میکرومولار ایندومتاسین برای ۱۶ ساعت باعث کاهش رشد سلولی و تغییرات مورفولوژیک می‌گردد و القای این تغییرات قابل برگشت می‌باشد.

سرطانی است و اغلب سلول‌های سرطانی دارای نقص در مکانیسم‌های آپوپتوزی خود می‌باشند، بنابراین یافتن ترکیباتی که بتواند باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی شود، یکی از اولویت‌های تحقیقاتی محسوب می‌گردد (۲۴). اهمیت این مطالعه در بررسی اثرات مهار رشدی و توان القای آپوپتوز در سلول‌های K562 لوسمی میلوئیدی مزمن انسان بود.

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی ایبوپروفن و ایندومتاسین موجب مهار رشد و القای آپوپتوز در سلول‌های K562 می‌شوند، اما لازم است در مطالعات آینده، ژن‌ها و مسیرهای مولکولی درگیر در این اثر شناسایی گردد و با بررسی‌های بیشتر در زمینه‌ی بنیادی و بالینی، داروهای ضد التهابی در کنار سایر داروهای شیمی‌درمانی برای درمان لوسمی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از گروه زیست‌شناسی دانشکده‌ی علوم دانشگاه ارومیه به جهت همکاری و حمایت‌هایشان ابراز می‌دارند.

در سلول‌های لوسمی HL60، U937، NB4، K562 و CEM القا می‌کند. داروی Etodolac، فرایند آپوپتوز سلولی را که با کاهش Bcl-2، فعالسازی کاسپاز ۳، ۹ و ۷ و کاهش مهارگرهای کاسپاز و Surviving مرتبط می‌باشد، در یک روش وابسته به غلظت القا می‌کند. همچنین، این دارو رشد سلول‌های K562 را در بدن موجود زنده کاهش می‌دهد (۱۳). در بررسی Park و همکاران این نتیجه به دست آمد که آسپرین از طریق فعالسازی کاسپازها و تنظیم ژن‌های درگیر در آپوپتوز، موجب القای آپوپتوز در سلول سرطانی YD-8 می‌گردد (۶).

نتایج حاصل از ژل الکتروفورز نیز نشان داد که ایبوپروفن و ایندومتاسین موجب القای آپوپتوز و قطعه‌قطعه شدن DNA در سلول‌های K562 می‌شوند. چنانکه داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی می‌توانند رشد نئوبلاستیک را توسط القای آپوپتوز در سلول سرطانی مهار کنند، مسیرهای درگیر در ایجاد فرایند آپوپتوز نیز توسط ایبوپروفن و ایندومتاسین می‌توانند باعث تغییر ژن‌های درگیر شوند که نیازمند بررسی‌های بیشتری است. همچنین، تغییرات مورفولوژیک سلول‌های K562 توسط رنگ‌آمیزی DAPI نشان دهنده‌ی آپوپتوز می‌باشد. از آنجایی که القای آپوپتوز روش مناسبی برای حذف سلول‌های

References

1. Mahmoudabadi A. Leukemia (blood cancer). Tehran, Iran: Kerdegari Publication; 2007. p. 11-55. [In Persian].
2. Hejazi S, Gholami A, Salarilak S, Khalkhali HR, Moosavi Jahromi L. Incidence rate of acute leukemia in west Azarbaijan during 2003-2008. Urmia Med J 2010; 21(2): 243-8. [In Persian].
3. O'Dwyer M. Multifaceted approach to the treatment of bcr-abl-positive leukemias. Oncologist 2002; 7(Suppl 1): 30-8.
4. Deininger MW, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. Blood 2000; 96(10): 3343-56.
5. Bosch GJ, Joosten AM, Kessler JH, Melief CJ, Leeksa OC. Recognition of BCR-ABL positive leukemic blasts by human CD4+ T cells elicited by primary in vitro immunization with a BCR-ABL breakpoint peptide. Blood 1996;

- 88(9): 3522-7.
6. Park IS, Jo JR, Hong H, Nam KY, Kim JB, Hwang SH, et al. Aspirin induces apoptosis in YD-8 human oral squamous carcinoma cells through activation of caspases, down-regulation of Mcl-1, and inactivation of ERK-1/2 and AKT. *Toxicol In Vitro* 2010; 24(3): 713-20.
 7. Palayoor ST, Bump EA, Calderwood SK, Bartol S, Coleman CN. Combined antitumor effect of radiation and ibuprofen in human prostate carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 1998; 4(3): 763-71.
 8. Greene ER, Huang S, Serhan CN, Panigrahy D. Regulation of inflammation in cancer by eicosanoids. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2011; 96(1-4): 27-36.
 9. Kato T, Fujino H, Oyama S, Kawashima T, Murayama T. Indomethacin induces cellular morphological change and migration via epithelial-mesenchymal transition in A549 human lung cancer cells: a novel cyclooxygenase-inhibition-independent effect. *Biochem Pharmacol* 2011; 82(11): 1781-91.
 10. Frenkian M, Pidoux E, Baudoin C, Segond N, Jullienne A. Indomethacin increases 15-PGDH mRNA expression in HL60 cells differentiated by PMA. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2001; 64(2): 87-93.
 11. Robertson FM, Parrett ML, Joarder FS, Ross M, Abou-Issa HM, Alshafie G, et al. Ibuprofen-induced inhibition of cyclooxygenase isoform gene expression and regression of rat mammary carcinomas. *Cancer Lett* 1998; 122(1-2): 165-75.
 12. Xu MH, Zhang GY. Effect of indomethacin on cell cycle proteins in colon cancer cell lines. *World J Gastroenterol* 2005; 11(11): 1693-6.
 13. Nakamura S, Kobayashi M, Shibata K, Sahara N, Shigeno K, Shinjo K, et al. COX-2 independent induction of apoptosis by etodolac in leukemia cells in vitro and growth inhibition of leukemia cells in vivo. *Cancer Therapy* 2004; 2: 153-66.
 14. Bellosillo B, Pique M, Barragan M, Castano E, Villamor N, Colomer D, et al. Aspirin and salicylate induce apoptosis and activation of caspases in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood* 1998; 92(4): 1406-14.
 15. Vondracek J, Stika J, Soucek K, Minksova K, Blaha L, Hofmanova J, et al. Inhibitors of arachidonic acid metabolism potentiate tumour necrosis factor-alpha-induced apoptosis in HL-60 cells. *Eur J Pharmacol* 2001; 424(1): 1-11.
 16. Hojka-Osinska A, Ziolo E, Rapak A. Combined treatment with fenretinide and indomethacin induces AIF-mediated, non-classical cell death in human acute T-cell leukemia Jurkat cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 419(3): 590-5.
 17. Khwaja F, Allen J, Lynch J, Andrews P, Djakiew D. Ibuprofen inhibits survival of bladder cancer cells by induced expression of the p75NTR tumor suppressor protein. *Cancer Res* 2004; 64(17): 6207-13.
 18. Kim MH, Chung J. Synergistic cell death by EGCG and ibuprofen in DU-145 prostate cancer cell line. *Anticancer Res* 2007; 27(6B): 3947-56.
 19. Janssen A, Maier TJ, Schiffmann S, Coste O, Seegel M, Geisslinger G, et al. Evidence of COX-2 independent induction of apoptosis and cell cycle block in human colon carcinoma cells after S- or R-ibuprofen treatment. *Eur J Pharmacol* 2006; 540(1-3): 24-33.
 20. Lim WY, Chuah KL, Eng P, Leong SS, Lim E, Lim TK, et al. Aspirin and non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drug use and risk of lung cancer. *Lung Cancer* 2012; 77(2): 246-51.
 21. Nakanishi Y, Kamijo R, Takizawa K, Hatori M, Nagumo M. Inhibitors of cyclooxygenase-2 (COX-2) suppressed the proliferation and differentiation of human leukaemia cell lines. *Eur J Cancer* 2001; 37(12): 1570-8.
 22. Santos RLS, Bergamo A, Sava G, de Oliveira Silva D. Synthesis and characterization of a diruthenium (II, III)-ketoprofen compound and study of the in vitro effects on CRC cells in comparison to the naproxen and ibuprofen derivatives. *Polyhedron* 2012; 42(1): 175-81.
 23. Wun T, McKnight H, Tuscano JM. Increased cyclooxygenase-2 (COX-2): a potential role in the pathogenesis of lymphoma. *Leuk Res* 2004; 28(2): 179-90.
 24. Jeong SY, Han MH, Jin CY, Kim GY, Choi BT, Nam TJ, et al. Apoptosis induction of human leukemia cells by *Streptomyces* sp. SY-103 metabolites through activation of caspase-3 and inactivation of Akt. *Int J Mol Med* 2010; 25(1): 31-40.

The Effects of Ibuprofen and Indomethacin on Human Chronic Myelocytic Leukemia K562 Cell Line: An In-Vitro Study

Afsaneh Bapiri MSc¹, Mehdi Mohammadzadeh PhD²

Original Article

Abstract

Background: The amount of COX-2 increases in most cancers due to synthesis of prostaglandins. Therefore, COX-2 inhibitors may play an effective role in cancer therapy. The goal of this study was to investigate the effect of ibuprofen and indomethacin, as anti-inflammatory drugs, on the K562 cell growth and proliferation.

Methods: The K562 cells were cultured and treated with different concentrations of indomethacin and ibuprofen. Then, their antitumor effects on K562 cells was assessed via MTT assay [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] after 72 hours. DAPI staining (4',6-diamidino-2-phenylindole) and DNA electrophoresis were used for study of apoptosis.

Findings: Ibuprofen and indomethacin had antitumor effect on K562 and this effect increased by raise of time and concentration; so, the maximum of inhibitory effect was observed in higher concentration and 72 hours after the treatment. Statistical analysis indicated that both drugs inhibited the growth of K562 cells ($P < 0.05$).

Conclusion: Based on the results, ibuprofen and indomethacin are effective agents for chronic myeloid leukemia therapy and prevention; but these antitumor properties would warrant further studies on the clinical application.

Keywords: Nonsteroidal anti-inflammatory drug, Indomethacin, Ibuprofen, K562 cell line, Anti-cancer properties

Citation: Bapiri A, Mohammadzadeh M. **The Effects of Ibuprofen and Indomethacin on Human Chronic Myelocytic Leukemia K562 Cell Line: An In-Vitro Study.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(328): 389-99

1- Department of Biology, School of Science, Urmia University, Urmia, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biology, School of Science, Urmia University, Urmia, Iran

Corresponding Author: Afsaneh Bapiri MSc, Email: afsanehbapir@yahoo.com

بررسی اثربخشی رژیم‌های پرتودرمانی تقطیعی کوچک بر ردهی سلولی ACHN کارسینومای سلول کلیوی

مریم خرمی‌زاده^۱، دکتر سید علی حسین صابری^۲، دکتر پروانه شکرانی^۳،
دکتر محمد جواد طهماسبی بیرگانی^۴، دکتر سید حسین حجازی^۵، دکتر علی رضا عموحیدری^۶

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: گزینه‌های درمانی برای افراد مبتلا به کارسینومای سلول کلیوی پیشرفته محدود می‌باشد. سلول‌های توموری کارسینومای سلول کلیوی نسبت به پرتودرمانی سنتی با مقادیر ۲-۱/۸ Gray در هر تقطیع مقاوم است و از پرتودرمانی فقط جهت تسکین استفاده می‌شود. این پژوهش، با هدف بررسی اثربخشی پروتکل‌های تابشی با تقطیع‌های کوچک، بر روی سلول‌های سرطانی کارسینومای سلول کلیوی ردهی ACHN، جهت درمان، صورت گرفت.

روش‌ها: پس از کشت ردهی سلولی سرطان سلول کلیوی انسانی در محیط آزمایشگاهی، سلول‌ها به طور هم‌زمان با تک تقطیع‌های ۸، ۶ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی ۳ × ۲، ۴ × ۲ و ۵ × ۲ Gray پرتوتابی شدند. سپس، درصد بقای سلول‌ها با استفاده از آزمون MTS [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium] به مدت ۱۲۰ ساعت مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: با افزایش دز در هر تقطیع، نسبت بقا کاهش یافت. همچنین، با گذشت ۱۲۰ ساعت از تابش‌دهی، کسر بقا حدود ۷۰ درصد نسبت به مدت زمان اولیه پس از تابش‌دهی کاهش نشان داد. نسبت بقا در رژیم پرتودرمانی تقطیع دو تایی ۵ × ۲ Gray نسبت به رژیم پرتودرمانی تک تقطیع ۱۰ Gray به طور معنی‌داری کمتر بود ($P = 0/02$)؛ اما تفاوت معنی‌داری در مقایسه‌ی دو رژیم دیگر مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه‌ی ما در شرایط برون‌تنی نشان داد که کارسینومای سلول کلیوی ردهی ACHN نسبت به تقطیع‌های کوچک با دزهای بیشتر از Gray ۲ حساس است و دزهای ۱۰ Gray و بالاتر رژیم پرتودرمانی با دو تقطیع، نسبت به رژیم پرتودرمانی تک تقطیع، نقش مؤثرتری در از بین بردن این بدخیمی دارد.

واژگان کلیدی: پرتودرمانی، رژیم پرتودرمانی تقطیعی کوچک، کارسینومای سلول کلیوی

ارجاع: خرمی‌زاده مریم، صابری سید علی حسین، شکرانی پروانه، طهماسبی بیرگانی محمد جواد، حجازی سید حسین، عموحیدری علی رضا. بررسی

اثربخشی رژیم‌های پرتودرمانی تقطیعی کوچک بر ردهی سلولی ACHN کارسینومای سلول کلیوی. مجله دانشکده پزشکی

اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۸): ۴۰۰-۴۰۹

۱- گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۳- استاد، گروه فیزیک و مهندسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۵- استاد، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک و گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۶- آنکولوژیست پرتویی، بیمارستان میلاد، اصفهان، اصفهان

مقدمه

شایع‌ترین نوع سرطان کلیه در بزرگسالان، کارسینومای سلول کلیوی می‌باشد که حدود ۹۵-۹۰ درصد بدخیمی‌های کلیه را شامل می‌شود (۱). بر اساس اطلاعات مؤسسه‌ی ملی سرطان آمریکا در سال ۲۰۱۴، ۶۳۹۲۰ نفر به کارسینومای سلول کلیوی مبتلا خواهند شد و ۱۳۸۶۰ نفر در اثر این بدخیمی خواهند مرد (۲). آمار دانشگاه شهید بهشتی تهران نشان می‌دهد که کارسینومای سلول کلیوی در ایران، سومین سرطان شایع دستگاه اداری است (۳).

در ۲ درصد از بیمارانی که به کارسینوما در یک کلیه مبتلا می‌شوند، تومورهای اولیه و یا متاستازها پیشرفت نموده، کلیه‌ی دوم را نیز درگیر می‌کند (۴). برآورد بقای ۵ ساله برای بیماران مبتلا به کارسینومای سلول کلیوی متاستازیک حدود ۲۰ درصد (با متوسط بقای ۴۸-۱۲ ماه) است (۵). گزینه‌های درمانی برای افراد مبتلا به کارسینومای سلول کلیوی پیشرفته، محدود (۶) و درمان استاندارد به صورت جراحی می‌باشد. جراحی نقش زیادی در درمان کارسینومای سلول کلیوی متاستازیک به خصوص برای بیمارانی که یک کلیه‌ی آن‌ها فعال است، ندارد و انتخاب این گزینه مستلزم مصلحت‌اندیشی و دقت زیادی می‌باشد (۷-۸).

تا مدت‌ها فقط از اینترلوکین-۲ و اینترفرون آلفا به عنوان درمان‌های سیستمیک استفاده می‌شد، اما به تازگی موادی مانند Sunitinib و Sorafenib نیز معرفی شده‌اند که در افزایش مدت زمان بقای بیماران نقش دارند (۹). مطالعات نشان می‌دهد که پاسخ بیماران به درمان‌های سیستمیک، تضمین شده نیست و منجر به بهبودی کامل آنان نمی‌شود. برای بیمارانی

که متاستازهای موضعی تهدیدی برای عملکرد اندام‌های حیاتی‌شان می‌باشد، درمان‌های سیستمیک مناسب نیست (۱۰، ۷، ۶).

پرتودرمانی از دیگر گزینه‌های درمانی کارسینومای سلول کلیوی می‌باشد (۱۱). بر اساس مطالعات انجام شده، سلول‌های توموری کارسینومای سلول کلیوی میزان تکثیر پایینی دارند و به دلیل طولانی بودن زمان چرخه‌ی سلولی، فرصت کافی برای ترمیم بین سلولی در بین جلسات متوالی وجود دارد، بنابراین نسبت به پرتودرمانی سنتی مقاوم هستند (۱۴-۱۲). با توجه به این خصوصیت بیولوژیک، به نظر می‌رسد که استفاده از دزهای بالاتر از ۲ Gray در هر جلسه و تعداد جلسات درمان کمتر از رژیم‌های سنتی، برای افزایش بهره‌ی درمانی مؤثرتر باشد.

از آن‌جا که انجام جراحی و درمان‌های سیستمیک برای همه‌ی بیماران امکان‌پذیر نیست و همچنین، کارسینومای سلول کلیوی به پرتودرمانی مقاوم می‌باشد، پرتودرمانی سنتی نقش کمی در درمان این نوع بدخیمی ایفا می‌کند و از این روش فقط جهت تسکین نوع متاستازیک آن استفاده می‌شود. بنابراین لازم است که از روش‌های کمتر تهاجمی یا غیر تهاجمی دیگر به عنوان گزینه‌ی درمانی جایگزین استفاده گردد.

در مطالعه‌ی Miwa و همکاران که بر روی گلیوبلاستومای مقاوم به پرتودرمانی صورت گرفت، از رژیم‌های تقطیعی کوچک با دزهای ۷-۵ Gray در هر تقطیع با دز کلی ۳۵-۲۵ Gray استفاده گردید و میزان بقای سلول‌های توموری به ترتیب ۷۱/۴ و ۳۱/۸ درصد کاهش یافت (۱۵). Dunavoelgyi و همکاران در تحقیق خود نشان دادند که استفاده از

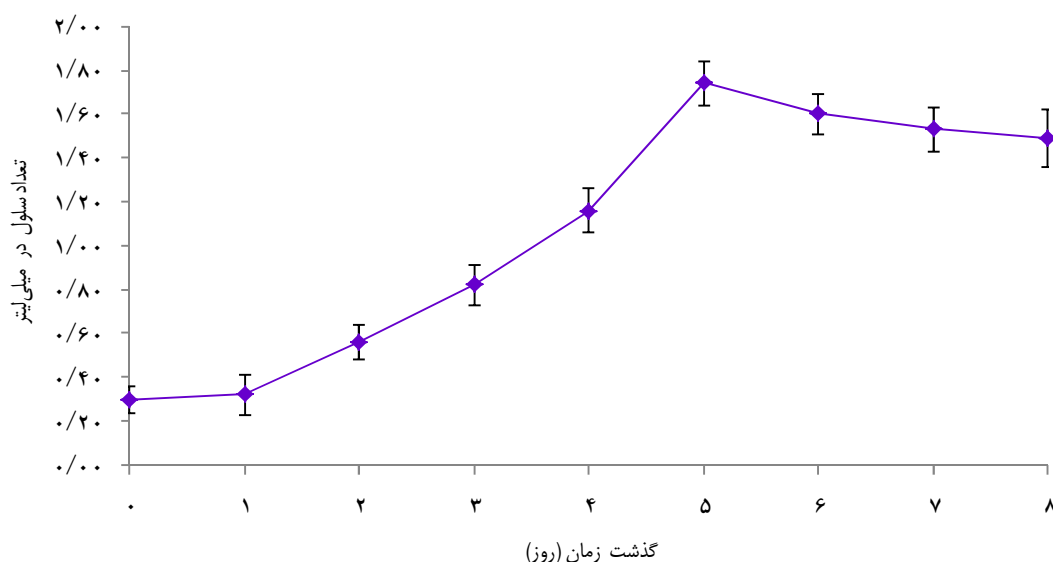
سلول‌ها در محیط کشت MEM- α (Minimum essential medium- α) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی، ۱ درصد اسیدهای آمینه‌ی غیر ضروری، ۱ میلی‌مولار سدیم پیروات، ۲ میلی‌مولار L-Glutamine و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک در یک انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و حاوی ۵ درصد گاز دی‌اکسید کربن قرار داده شد.

منحنی رشد سلول: در روز صفر، ۸ پلیت کشت سلولی انتخاب گردید. پس از تریپسینه کردن سلول‌ها، تعداد $10^5 \times 3$ سلول در سه چاهک از هر پلیت کشت شد. سپس در هر روز تعداد سلول‌ها در سه چاهک به طور جداگانه با استفاده از لام نتوبار به مدت ۸ روز شمارش و منحنی رشد رسم گردید (شکل ۱). با رسم منحنی رشد سلول‌ها، زمان لازم برای رسیدن سلول‌ها به فازهای تأخیری، لگاریتمی و ثابت به دست آمد.

۴-۸ تقطیع کوچک با دز کلی ۵۰-۷۰ Gray، نقش مؤثری در کنترل ملانومای مقاوم به پرتو دارد (۱۶). از آن‌جا که میزان تکثیر سرطان کارسینومای سلول کلیوی (مانند گلیوبلاستوما و ملانوما) پایین می‌باشد و همچنین، این سلول‌ها مقاوم به رژیم‌های پرتودرمانی سنتی هستند، بنابراین مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثربخشی پروتکل‌های تابشی با تقطیع‌های کوچک و استفاده از دزهای بالا در هر تقطیع بر روی سلول‌های سرطانی کارسینومای سلول کلیوی (رده‌ی ACHN) جهت درمان (نه تسکین) انجام شد.

روش‌ها

کشت سلول: در تحقیق حاضر برای کشت آزمایشگاهی از رده‌ی سلولی انسانی ACHN کارسینومای سلول کلیوی که از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شده بود، استفاده گردید.



شکل ۱. منحنی رشد سلول‌ها در بازه‌ی زمان

فورمازون تولید گردید. برای انجام آزمون، چهار نمونه‌ی یکسان تهیه شد و جذب حاصل از هر یک از نمونه‌ها توسط دستگاه Elisa reader در طول موج ۴۹۰ نانومتر به مدت ۱۲۰ ساعت پس از تابش‌دهی قرائت گردید. در نهایت نتایج به صورت درصد جذب نوری سلول‌های زنده نسبت به سلول‌های شاهد (بدون تابش‌دهی) ثبت شد و درصد بقا با استفاده از رابطه‌ی زیر به دست آمد:

$$\text{Percentage survival} = \frac{\text{OD}_{\text{test}}}{\text{OD}_{\text{cont}}} \times 100 = \text{درصد بقا}$$

که OD_{test} و OD_{cont} به ترتیب نشان دهنده‌ی جذب نوری میانگین سلول و جذب نوری میانگین گروه شاهد می‌باشد.

در ادامه با توجه به چهار بار انجام هر آزمایش، میانگین و انحراف معیار بقا حاصل شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون آماری t در سطح معنی داری $P < 0/05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۱۲۰-۲۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی ۲ × ۳، ۲ × ۴ و ۲ × ۵ در جداول ۱ تا ۶ ارائه شده است. جدول ۱ نشان داد که اگر درصد بقا خیلی زود در ابتدای فاز لگاریتمی اندازه‌گیری شود، نتایج حاصل از آن با خطا همراه خواهد بود. بنابراین یک روز برای به دست آوردن نسبت بقا کافی نیست و لازم است که درصد بقا چند روز متوالی بعد از تابش بررسی گردد. نتایج حاصل از مقایسه‌ی جداول ۲ تا ۶ حاکی

آماده‌سازی سلول‌ها برای تابش: سلول‌ها در فلاسک T75 کشت شدند و هنگامی که بیش از ۷۰ درصد از سطح کف فلاسک را پر کردند، به وسیله‌ی Trypsin-EDTA از کف ظرف جدا و توسط لام نئوبار شمارش شدند. تعداد ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ سلول به هر یک از خانه‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای انتقال داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت و قبل از این‌که تعداد سلول‌ها تغییر کند، سلول‌ها تحت تابش قرار گرفتند. تابش‌دهی: برای تابش‌دهی از دستگاه شتاب دهنده‌ی خطی ONCOR (ساخت شرکت زیمنس آلمان) در بیمارستان میلاد اصفهان استفاده گردید. جهت جلوگیری از پراکندگی پرتو، صفحه‌ی معادل آب به ضخامت ۵ سانتی‌متر در زیر پلیت کشت سلولی و صفحه‌ی معادل آب ۱/۵ سانتی‌متری به عنوان Build up بر روی آن قرار داده شد. سلول‌های کشت شده در پلیت‌های کشت سلولی با تک تقطیع‌های (Single fraction) ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی ۲ × ۳، ۲ × ۴ و ۲ × ۵ Gray پرتوتابی شدند و هر آزمون سه بار تکرار گردید.

بررسی سیتوتوکسیسیته‌ی پرتویی با استفاده از روش MTS [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium]: به منظور بررسی درصد سلول‌های زنده‌ی باقی‌مانده، آزمون کالیمتری با استفاده از کیت MTS (ساخت شرکت پرومگا ایالات متحده‌ی آمریکا) صورت گرفت. برای انجام این آزمون، پس از گذشت ۲۰ ساعت از تابش‌دهی سلول‌ها، به هر یک از چاهک‌ها ۲۰ میکرولیتر محلول MTS به همراه ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت افزوده شد و بعد از ۲ ساعت انکوباسیون سلول‌ها با محلول مذکور،

پرتودرمانی تک تقطیع ۱۰ Gray کاهش معنی‌داری داشت ($P = 0/02$). نسبت بقا در رژیم تقطیع دو تایی 2×4 Gray نسبت به پرتودرمانی تک تقطیع ۸ Gray ($P = 0/10$) و رژیم تقطیع دو تایی 2×3 Gray نسبت به پرتودرمانی تک تقطیع ۶ Gray ($P = 0/07$) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

از آن بود که با افزایش دز در هر تقطیع، نسبت بقا کاهش می‌یابد. همچنین، کسر بقا با گذشت ۱۲۰ ساعت پس از تابش‌دهی، کاهش در حدود ۷۰ درصد نسبت به مدت زمان اولیه‌ی پس از تابش‌دهی نشان داد. نسبت بقا در رژیم‌های پرتودرمانی تقطیع دو تایی 2×5 Gray نسبت به

جدول ۱. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۲۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی 2×3 ، 2×4 و 2×5 Gray

دز اعمالی (Gray)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	میانگین \pm انحراف معیار
۰	۱۰۰	۱۰۰	$100 \pm 0/00$
۶	۱۰۹/۵۰	۹۷/۶۳	$103/58 \pm 5/90$
۸	۱۰۸/۹۹	۹۵/۵۱	$102/25 \pm 6/70$
۱۰	۱۰۱/۲۱	۱۰۲/۰۰	$101/60 \pm 0/39$
2×3	۱۰۳/۷۸	۹۱/۱۸	$97/48 \pm 6/30$
2×4	۱۰۱/۸۸	۹۳/۵۴	$97/71 \pm 4/10$
2×5	۱۰۴/۳۳	۸۸/۵۳	$69/43 \pm 7/80$

جدول ۲. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۴۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی 2×3 ، 2×4 و 2×5 Gray

دز اعمالی (Gray)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	میانگین \pm انحراف معیار
۰	۱۰۰	۱۰۰	$100 \pm 0/00$
۶	۸۲/۴۶	۸۵/۱۱	$83/78 \pm 1/30$
۸	۸۰/۳۸	۸۶/۹۶	$83/68 \pm 3/20$
۱۰	۷۱/۹۵	۷۹/۰۳	$75/49 \pm 3/50$
2×3	۸۰/۴۶	۷۹/۸۶	$80/16 \pm 0/29$
2×4	۷۳/۹۶	۸۳/۹۸	$78/97 \pm 5/00$
2×5	۷۴/۳۹	۷۵/۹۵	$75/17 \pm 0/78$

جدول ۳. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۶۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی 2×3 ، 2×4 و 2×5 Gray

دز اعمالی (Gray)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	میانگین \pm انحراف معیار
۰	۱۰۰	۱۰۰	$100 \pm 0/00$
۶	۶۵/۳۱	۶۸/۲۱	$66/76 \pm 1/40$
۸	۵۸/۷۹	۶۱/۴۲	$60/11 \pm 1/30$
۱۰	۴۵/۰۵	۵۲/۱۱	$48/58 \pm 3/50$
2×3	۶۳/۱۶	۶۵/۲۸	$69/22 \pm 1/06$
2×4	۵۷/۵۱	۵۸/۹۰	$58/20 \pm 0/96$
2×5	۴۴/۷۵	۴۸/۰۰	$46/37 \pm 1/60$

جدول ۴. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۸۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو

تایی ۳×۲، ۴×۲ و ۵×۲ Gray

میانگین ± انحراف معیار	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	دوز اعمالی (Gray)
۱۰۰ ± ۰/۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۰
۵۳/۰۶ ± ۶/۰۶	۵۹/۱۲	۴۹/۹۹	۶
۴۱/۰۵ ± ۳/۷۰	۴۴/۸۰	۳۷/۲۹	۸
۳۵/۹۰ ± ۳/۹۰	۳۹/۸۷	۳۱/۹۲	۱۰
۴۹/۲۶ ± ۵/۷۰	۵۴/۹۹	۴۳/۵۳	۲×۳
۴۱/۸۲ ± ۶/۴۰	۴۸/۳۲	۳۵/۳۳	۲×۴
۲۹/۲۱ ± ۲/۵۰	۳۱/۷۴	۲۶/۶۹	۲×۵

جدول ۵. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۱۰۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو

تایی ۳×۲، ۴×۲ و ۵×۲ Gray

میانگین ± انحراف معیار	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	دوز اعمالی (Gray)
۱۰۰ ± ۰/۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۰
۴۶/۸۵ ± ۴/۵۰	۵۱/۳۸	۴۲/۳۲	۶
۳۵/۹۸ ± ۳/۳۰	۳۹/۳۶	۳۲/۵۹	۸
۳۰/۴۱ ± ۴/۰۹	۳۴/۵۰	۲۶/۳۲	۱۰
۴۳/۶۱ ± ۵/۴۰	۴۹/۰۲	۳۸/۱۹	۲×۳
۲۶/۱۲ ± ۶/۴۰	۴۲/۵۵	۲۹/۶۹	۲×۴
۲۶/۵۸ ± ۲/۸۰	۲۹/۴۶	۲۳/۷۱	۲×۵

جدول ۶. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۱۲۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو

تایی ۳×۲، ۴×۲ و ۵×۲ Gray

میانگین ± انحراف معیار	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	دوز اعمالی (Gray)
۱۰۰ ± ۰/۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۰
۴۳/۲۴ ± ۷/۷۰	۵۱/۰۲	۳۵/۴۵	۶
۳۴/۴۱ ± ۶/۲۰	۴۰/۶۴	۲۸/۱۸	۸
۲۸/۷۶ ± ۴/۸۰	۳۳/۶۲	۲۳/۸۹	۱۰
۴۱/۰۷ ± ۳/۳۰	۴۴/۸۸	۳۸/۲۴	۲×۳
۳۲/۹۰ ± ۱/۰۰	۳۳/۹۱	۳۱/۸۸	۲×۴
۲۶/۰۹ ± ۴/۷۰	۳۰/۷۹	۲۱/۳۸	۲×۵

۱/۸-۲ Gray در هر تقطیع، نقش کمی در درمان این بدخیمی دارد (۱۱). پیشرفت‌هایی که در فیزیک و تکنیک‌های پرتودرمانی مانند پرتودرمانی با هدایت

بحث

کارسینومای سلول کلیوی جزء سلول‌های مقاوم به پرتودرمانی محسوب می‌شود و پرتودرمانی سنتی با

تصویر (Image guided radiotherapy یا IGRT) صورت گرفته است، امکان استفاده از دزهای بالا را فراهم می‌سازد (۱۷). مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در دو رژیم پرتودرمانی تک تقطیع و دو تقطیع و یافتن یک گزینه‌ی درمانی کمتر تهاجمی یا غیر تهاجمی انجام گرفت.

درصد بقا با افزایش دز در هر تقطیع کاهش می‌یابد و با افزایش مدت زمان پس از تابش دهی، مرگ سلول‌ها افزایش پیدا می‌کند (از ۵۰ درصد برای ۷۲ ساعت پس از تابش به میزان ۷۰ درصد برای ۱۲۰ ساعت تغییر یافت). Marekova و همکاران به این نتیجه رسیدند که سلول‌های لنفوسیت، ۷۲ ساعت پس از تابش با دز ۱۰ Gray از بین می‌روند. آنان علت مرگ سلول‌ها را آپوپتوز بیان کردند که به مقدار دز بستگی دارد. همچنین سلول‌ها پس از تابش در فاز G2 متوقف شده، آپوپتوز دیرتر و حدود ۲۴-۷۲ ساعت پس از تابش اتفاق می‌افتد (۱۸) که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر همسو می‌باشد.

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، اثرات بیولوژیک هنگامی که دز تابشی پرتو به یک تقطیع ۱۰ Gray منتقل گردید، نسبت به زمانی که پرتو در دو تقطیع ۲ × ۵ Gray اعمال شد، کاهش یافت. این در حالی است که درصد بقای سلول تک تقطیع ۶ و ۸ Gray به ترتیب نسبت به دو تقطیع ۲ × ۳ و ۲ × ۴ Gray تفاوت معنی‌داری نداشت. Wang و همکاران در تحقیق خود نشان دادند کل مدت زمانی که طول می‌کشد تا یک تک تقطیع منتقل شود، بر روی نتایج درمان به خصوص درمان تومورهایی که میزان تکثیر پایینی دارند (مانند سرطان پروستات) تأثیر

چشمگیری دارد (۱۹).

دلیل اصلی افزایش بقای سلول با افزایش مدت زمان واگذاری دز، ترمیم آسیب‌های زیر کشنده در هنگام واگذاری می‌باشد. تابش پرتو ممکن است منجر به آسیب‌های کشنده و یا آسیب‌های غیر کشنده در سلول‌های توموری گردد. سلول‌هایی که دچار آسیب‌های کشنده نشده‌اند، ممکن است ترمیم شوند که در نتیجه‌ی این ترمیم، بقای سلول‌های توموری افزایش می‌یابد (۲۱-۲۰). در پژوهش Sugie و همکاران مشخص گردید که در یک رژیم پرتودرمانی، دو پدیده‌ی ترمیم آسیب زیر کشنده و اکسیژن دار شدن مجدد در حالت موازنه با یکدیگر قرار دارند. کاهش اثر اکسیژن دار شدن مجدد، منجر به افزایش اثر ترمیم آسیب‌های زیر کشنده و در نتیجه کاهش مرگ سلول‌ها می‌شود (۲۲).

مطالعات نشان داده‌اند، اگرچه اعمال فاصله در بین جلسات انتقال دز باعث ترمیم آسیب‌های زیر کشنده و افزایش بقای سلول می‌گردد، اما ترمیم آسیب‌های زیر کشنده توسط پدیده‌ی دیگری به نام اکسیژن دار شدن مجدد که منجر به حساس شدن سلول‌ها نسبت به تابش بعدی می‌شود، تعدیل می‌گردد (۲۳-۲۴).

در مطالعه‌ی حاضر مدت زمان اعمال دز ۱۰ Gray بیشتر از مدت زمان لازم برای اعمال دزهای ۶ و ۸ Gray بود. با توجه به خصوصیت بیولوژیکی کارسینومای سلول کلیوی که میزان تکثیر پایینی دارد، به نظر می‌رسد که در هنگام اعمال دز در یک تقطیع ۱۰ Gray، درصدی از آسیب‌های زیر کشنده ترمیم شده، کسر بقا افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، پدیده‌ی اکسیژن دار شدن مجدد در حد فاصل

تقطیع نقش مؤثرتری در از بین بردن کارسینومای سلول کلیوی دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز به جهت تأمین هزینه‌ی طرح پژوهشی و همچنین از بخش رادیوتراپی و آنکولوژی بیمارستان میلاد اصفهان که همکاری صمیمانه‌ای در اجرای این پژوهش داشتند، تقدیر و تشکر نمایند.

بین تقطیع دو تایی 2×5 Gray، یک پدیده‌ی غالب بر ترمیم آسیب‌های زیر کشنده است و منجر به افزایش مرگ سلول‌ها نسبت به رژیم تک تقطیع می‌گردد.

در مجموع نتایج تحقیق حاضر در شرایط برون‌تنی (آزمایشگاهی) حاکی از آن بود که بر خلاف تصور مقاوم بودن کارسینومای سلول کلیوی به پرتودرمانی، این بدخیمی نسبت به تقطیع‌های کوچک با دزهای بیشتر از 2 Gray حساس است. به نظر می‌رسد رژیم پرتودرمانی با دو تقطیع در دزهای 10 Gray و بالاتر، نسبت به رژیم پرتودرمانی تک

References

- Rathmell WK, Godley PA. Recent updates in renal cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 2010; 22(3): 250-6.
- United State Department of Health and Human Services, National Cancer Institute (NCI). Cancer incidence-Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Registries Research Data [Online]. [cited 2014]; Available from: URL: <http://seer.cancer.gov/data/metadata.html>
- Akbari ME, Hosseini SJ, Rezaee A, Hosseini MM, Rezaee I, Sheikhvatan M. Incidence of genitourinary cancers in the Islamic Republic of Iran: a survey in 2005. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9(4): 549-52.
- Bani-Hani AH, Leibovich BC, Lohse CM, Cheville JC, Zincke H, Blute ML. Associations with contralateral recurrence following nephrectomy for renal cell carcinoma using a cohort of 2,352 patients. *J Urol* 2005; 173(2): 391-4.
- Beitler JJ, Makara D, Silverman P, Lederman G. Definitive, high-dose-per-fraction, conformal, stereotactic external radiation for renal cell carcinoma. *Am J Clin Oncol* 2004; 27(6): 646-8.
- Graves A, Hessamodini H, Wong G, Lim WH. Metastatic renal cell carcinoma: update on epidemiology, genetics, and therapeutic modalities. *Immunotargets Ther* 2013; 2: 73-90.
- Miyao N, Naito S, Ozono S, Shinohara N, Masumori N, Igarashi T, et al. Late recurrence of renal cell carcinoma: retrospective and collaborative study of the Japanese Society of Renal Cancer. *Urology* 2011; 77(2): 379-84.
- Svedman C, Karlsson K, Rutkowska E, Sandstrom P, Blomgren H, Lax I, et al. Stereotactic body radiotherapy of primary and metastatic renal lesions for patients with only one functioning kidney. *Acta Oncol* 2008; 47(8): 1578-83.
- Bamias A, Tzannis K, Papatsoris A, Oudard S, Beuselink B, Escudier B, et al. Prognostic significance of cytoreductive nephrectomy in patients with synchronous metastases from renal cell carcinoma treated with first-line sunitinib: a European multiinstitutional study. *Clin Genitourin Cancer* 2014; 12(5): 373-83.
- Abara E, Chivulescu I, Clerk N, Cano P, Goth A. Recurrent renal cell cancer: 10 years or more after nephrectomy. *Can Urol Assoc J* 2010; 4(2): E45-E49.
- De MG, Khoo V, Escudier B, Joniau S, Bossi A, Ost P, et al. Radiotherapy for renal-cell carcinoma. *Lancet Oncol* 2014; 15(4): e170-e177.
- Fowler JF. Biological factors influencing optimum fractionation in radiation therapy. *Acta Oncol* 2001; 40(6): 712-7.
- Yang Y, Xing L. Optimization of radiotherapy dose-time fractionation with consideration of tumor specific biology. *Med Phys* 2005; 32(12): 3666-77.
- Wilson D, Hiller L, Gray L, Grainger M, Stirling A, James N. The effect of biological effective dose on time to symptom progression

- in metastatic renal cell carcinoma. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2003; 15(7): 400-7.
15. Miwa K, Matsuo M, Ogawa S, Shinoda J, Yokoyama K, Yamada J, et al. Re-irradiation of recurrent glioblastoma multiforme using 11C-methionine PET/CT/MRI image fusion for hypofractionated stereotactic radiotherapy by intensity modulated radiation therapy. *Radiat Oncol* 2014; 9: 181.
 16. Dunavoelgyi R, Dieckmann K, Gleiss A, Sacu S, Kircher K, Georgopoulos M, et al. Local tumor control, visual acuity, and survival after hypofractionated stereotactic photon radiotherapy of choroidal melanoma in 212 patients treated between 1997 and 2007. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 81(1): 199-205.
 17. Otsuka S, Shibamoto Y, Iwata H, Murata R, Sugie C, Ito M, et al. Compatibility of the linear-quadratic formalism and biologically effective dose concept to high-dose-per-fraction irradiation in a murine tumor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 81(5): 1538-43.
 18. Marekova M, Vavrova J, Vokurkova D, Psutka J. Modulation of ionizing radiation-induced apoptosis and cell cycle arrest by all-trans retinoic acid in promyelocytic leukemia cells (HL-60). *Physiol Res* 2003; 52(5): 599-606.
 19. Wang JZ, Li XA, D'Souza WD, Stewart RD. Impact of prolonged fraction delivery times on tumor control: a note of caution for intensity-modulated radiation therapy (IMRT). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 57(2): 543-52.
 20. Elkind MM, Sutton H. X-ray damage and recovery in mammalian cells in culture. *Nature* 1959; 184: 1293-5.
 21. ELKIND MM. The initial part of the survival curve: does it predict the outcome of fractionated radiotherapy? *Radiat Res* 1988; 114(3): 425-36.
 22. Sugie C, Shibamoto Y, Ito M, Ogino H, Miyamoto A, Fukaya N, et al. Radiobiologic effect of intermittent radiation exposure in murine tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 64(2): 619-24.
 23. Jiang L, Xiong XP, Hu CS, Ou ZL, Zhu GP, Ying HM. In vitro and in vivo studies on radiobiological effects of prolonged fraction delivery time in A549 cells. *J Radiat Res* 2013; 54(2): 230-4.
 24. Shibamoto Y, Ito M, Sugie C, Ogino H, Hara M. Recovery from sublethal damage during intermittent exposures in cultured tumor cells: implications for dose modification in radiosurgery and IMRT. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 59(5): 1484-90.

Evaluating the Effectiveness of Small Fractionation Radiotherapy Regimens on the ACHN Renal Cell Carcinoma Cell Line

Maryam Khorrami-Zadeh PhD¹, Seyed Ali Hosein Saberi PhD², Parvaneh Shokrani PhD³,
Mohammad Javad Tahmasebi-Birgani PhD⁴, Seyed Hosein Hejazi PhD⁵,
Ali Reza Amouhedari MD⁶

Original Article

Abstract

Background: Renal cell carcinoma is considered to be a radioresistant tumor. Consequently, radiotherapy is used mainly for palliation of metastases or local tumor growth. The aim of this study was to evaluate the efficacy of the radiation protocols with small fractions on cell killing of ACHN human renal cell carcinoma cell line.

Methods: After cell culture, the ACHN cells were exposed to 6, 8 and 10 Gy of single fraction and 3 × 2, 4 × 2 and 5 × 2 Gy of two fractions. Viability was calculated using MTS assay [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium].

Findings: Exposing cultured cells to small fractions of radiation resulted to a mean decrease of 70% in cell survival over 120 hours after radiation. Survival fraction reduced with increasing the dose per fraction. Two fractions 5 × 2 Gy showed significant effect on cell survival compared to single fraction 10 Gy (P = 0.02).

Conclusion: Our results indicate that the small fraction is a valuable alternative to provide local tumor control.

Keywords: Radiotherapy, Small radiation fractionation, Renal cell carcinoma

Citation: Khorrami-Zadeh M, Saberi SAH, Shokrani P, Tahmasebi-Birgani MJ, Hejazi SH, Amouhedari AR. **Evaluating the Effectiveness of Small Fractionation Radiotherapy Regimens on the ACHN Renal Cell Carcinoma Cell Line.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(328): 400-9

1- Department of Medical Physics, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

2- Associate Professor, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

3- Professor, Department of Medical Physics and Medical Engineering, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

5- Professor, Skin Disease and Leishmaniasis Research Center AND Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

6- Radiation Oncologist, Milad Hospital, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Seyed Ali Hosein Saberi PhD, Email: ahsaberi70@hotmail.com

مکانیسم‌های جدید مولکولی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها

داریوش شکری^۱، دکتر محمد ربانی خوراسگانی^۲

مقاله مروری

چکیده

فقط زمان کوتاهی بعد از کشف آنتی‌بیوتیک‌ها توسط الکساندر فلمینگ، باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش شدند. در کنار مکانیسم‌های قدیمی مقاومت در باکتری‌ها، مکانیسم‌های جدیدی توسط محققین مختلف پیشنهاد شده است. برای مثال، به تازگی، یک اپرون جدید D-آلانین-D-سرین به نام VanL، که باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک ونکومايسين می‌شود، گزارش شد. محققین نشان داده‌اند که از دست رفتن پورین OmpK36 در یک سویه‌ی کلبسیلا پنومونیه، که نقش مهمی در نفوذ آنتی‌بیوتیک‌ها به داخل سلول دارد، باعث مقاومت بالا به کاربامها می‌شود. در سال ۲۰۱۱، برای اولین بار مقاومت کامل به آنتی‌بیوتیک تیگسیکلین گزارش شد که در آن آنزیم منواکسیژناز وابسته به فلاوین TetX باعث هیدروکسیله شدن آنتی‌بیوتیک و در نتیجه، غیر فعال شدن آن شده بود. در سال ۲۰۱۲، یک مقاومت بالا به آنتی‌بیوتیک مورپرسین توصیف شد که توسط یک لوکوس جدید به نام mupB واسطه‌گری می‌شد. همچنین، در سال ۲۰۱۳ نشان داده شد که سویه‌هایی از باکتری انتروکوک فکالیس می‌توانند آنتی‌بیوتیک داپتومايسين را از محل هدف اصلی‌اش، یعنی محل تقسیم دیواره‌ی سلولی، به مکان‌های دیگر منتقل کرده، اثر آن را مهار کنند. یک مکانیسم جدید دیگر در باکتری بولخوردریا پسودومالئی گزارش شد که در آن، ژن هدف آنتی‌بیوتیک سفنازیدیم (PBP3) به طور کامل حذف شده بود. از طرف دیگر، نقش جدید ریوسویچ‌ها در مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی در سال ۲۰۱۳ گزارش شد. همچنین، مطالعات اخیر نشان دهنده‌ی ارتباط پاسخ SOS و حد نصاب احساس (Quorum sensing) با مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌باشد؛ مکانیسم‌های جدید مقاومت در بیوفیلیم‌ها و سلول‌های Persister نیز شناخته شده است. در این مقاله‌ی مروری، به انواع این مکانیسم‌های جدید پرداخته شده است.

واژگان کلیدی: آنتی‌بیوتیک، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ریوسویچ، پاسخ SOS، حد نصاب احساس، سلول‌های Persister

ارجاع: شکری داریوش، ربانی خوراسگانی محمد. مکانیسم‌های جدید مولکولی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها. مجله دانشکده

پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۸): ۴۲۸-۴۱۰

مقدمه

آنتی‌بیوتیک توسط الکساندر فلمینگ در سال ۱۹۲۸ کشف شد. او در پلیت آگار که استافیلوکوک را رشد داده بود، قسمت‌هایی بدون رشد باکتری را مشاهده کرد (۱). این آزمایش آغاز کشف پنی‌سیلین بود که همراه با بقیه‌ی آنتی‌بیوتیک‌های کشف شده‌ی بعدی، جان میلیون‌ها انسان و حیوان را از ارگانیسم‌های

عامل بیماری‌های عفونی نجات می‌دهد. با این وجود، زمان کوتاهی بعد از کشف پنی‌سیلین در سال ۱۹۴۰، گزارش‌هایی از عدم درمان عفونت با آنتی‌بیوتیک‌ها ارائه شد (۴-۱). برای مثال برخی از سویه‌های استافیلوکوک، دیگر به آنتی‌بیوتیک‌های آن زمان از جمله پنی‌سیلین حساس نبودند که این امر آغاز پدیده‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و سرآغاز نگرانی از

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

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

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمد ربانی خوراسگانی

Email: m.rabbani@biol.ui.ac.ir

در اثر جهش کروموزومی، پلاسمیدهای قابل انتقال و یا ترانسپوزون‌ها ایجاد و باعث تغییر در ژنوم باکتری‌ها شود. این مقاومت‌ها می‌توانند به صورت عمودی از سلول مادری به سلول دختری منتقل شوند، اما مکانیسم اصلی آن همان انتقال افقی ژن‌های مقاومت می‌باشد که با مکانیسم‌های ترانسفورماسیون (Transformation)، ترانسداکشن (Transduction) و کانجوگاسیون (Conjugation) به انجام می‌رسد.

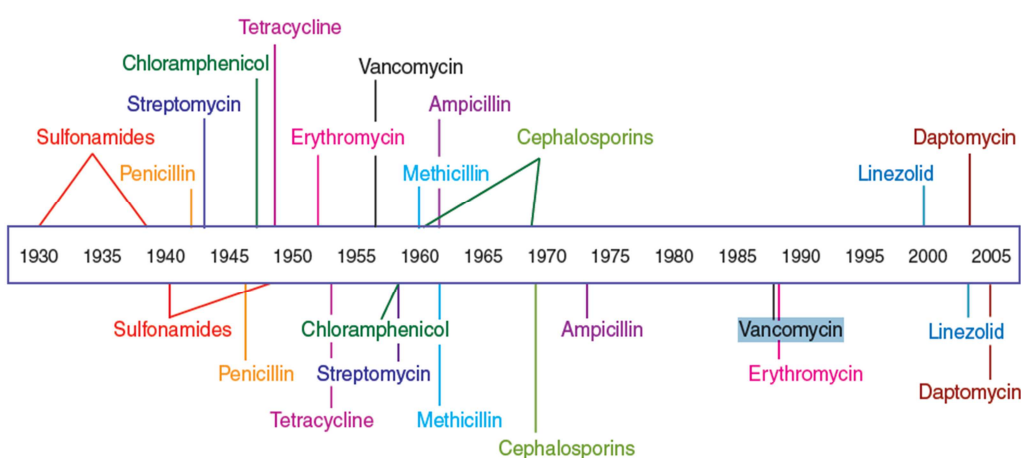
به طور کلی مکانیسم‌های عمده‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی فعال شامل موارد زیر می‌باشد. ممانعت از تجمع آنتی‌بیوتیک با کاهش جذب یا افزایش خروج آنتی‌بیوتیک از سلول از طریق پروتئین‌های پمپ‌کننده‌ی مرتبط با غشا تغییر جایگاه هدف آنتی‌بیوتیک که باعث کاهش تمایل آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود و با جهش جایگاه هدف و یا اصلاح تغییر یافته‌ی مولکول هدف، به صورت کیفی و یا این تغییر به صورت کمی با افزایش تعداد مولکول‌های هدف و در نتیجه بی‌اثر شدن آنتی‌بیوتیک به انجام می‌رسد.

مقاومت میکروارگانیسم‌ها بود. در شکل ۱ زمان کشف آنتی‌بیوتیک‌ها (بالای شکل) و زمان مقاومت به هر کدام (زیر شکل) نشان داده شده است. مکانیسم‌های کلاسیک مقاومت آنتی‌بیوتیکی به دو صورت است (۹-۵).

الف) مقاومت ذاتی (یا مقاومت غیر فعال): باکتری‌ها ممکن است به صورت ذاتی به یک آنتی‌بیوتیک مقاوم باشند. این مکانیسم در نتیجه‌ی فرایندهای تطابق کلی است و در ارتباط با یک کلاس آنتی‌بیوتیکی خاص نیست. یک مثال این فرایند در باکتری سودوموناس آئروژینوزا است که غشای خارجی آن به طور ذاتی نفوذپذیری کمی نسبت به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها دارد و به همین دلیل به صورت ذاتی به آن‌ها مقاوم است.

ب) مقاومت اکتسابی یا مقاومت فعال: مکانیسم اصلی مقاومت آنتی‌بیوتیکی است که در اثر فشار تکاملی ویژه برای باکتری اتفاق می‌افتد و باکتری‌هایی که قبل از آن به یک دسته آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند، به آن مقاوم می‌شوند. این مکانیسم‌ها می‌تواند

Antibiotic deployment



شکل ۱. زمان کشف آنتی‌بیوتیک‌ها و ظهور مقاومت به آن‌ها (۱)

مکانیسم جدید مقاومت بالا به کارباپنم در باکتری کلبسیلا پنومونیه: کلبسیلا پنومونیه دو پورین اصلی به نام‌های OmpK35 و OmpK36 را در غشای خارجی بیان می‌کند که نقش مهمی در نفوذ آنتی‌بیوتیک‌ها به داخل سلول دارند و از دست رفتن یکی یا هر دوی این پورین‌ها، باعث مقاومت بالا به این داروها می‌شود. Sho و همکاران مکانیسم مقاومت به کارباپنم را در سویه MKP4437 این باکتری بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که پورین Ompk36 در آن از بین رفته بود. تعیین توالی مستقیم ژن این پورین نشان داد که یک توالی الحاقی (Insertion sequence یا IS) جدید در چهارچوب بازخواندن این ژن وارد و باعث خاموش شدن آن شده بود (۱۱).

مکانیسم جدید مقاومت به آنتی‌بیوتیک تیگسیکلین (Tigecycline): آنتی‌بیوتیک تیگسیکلین که در سال ۲۰۰۵ معرفی شد، جزء نسل سوم تتراسایکلین‌ها است و در عفونت‌های پوستی کاربرد دارد. این آنتی‌بیوتیک باعث ممانعت از سنتز پروتئین‌های ریبوزومی به ترتیب ۳ و ۲۰ برابر کاراتر از تتراسایکلین و مینوسایکلین می‌شود. آنتی‌بیوتیک تیگسیکلین علیه باکتری‌های مقاوم چند دارویی به خصوص باکتری‌های گرم منفی مانند آسیتوباکتر و همچنین باکتری‌های مقاوم گرم مثبت مثل استافیلوکوک مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-resistant staphylococcus aureus یا MRSA) و انتروکوک مقاوم به ونکومایسین (Vancomycin resistant enterococ یا VRE) کارا می‌باشد. برای اولین بار مقاومت کامل به این آنتی‌بیوتیک توسط Volkens و همکاران در سال

این مقاومت از طریق غیر فعال سازی آنتی‌بیوتیک با هیدرولیز آن و یا اصلاح آن به انجام می‌رسد. کنار مکانیسم‌های قدیمی مقاومت در باکتری‌ها، مکانیسم‌های جدیدی توسط محققین مختلف توصیف شده‌اند که نشان دهنده‌ی توانایی باکتری‌ها در توسعه‌ی راه‌های جدید مقابله با عوامل مهار کننده‌ی آن‌ها از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. در این مطالعه‌ی مروری با بررسی مطالعات اخیر انجام گرفته، ساز و کار این مکانیسم‌های جدید مورد بررسی قرار گرفت.

مکانیسم‌های جدید مقاومت در باکتری‌ها

تغییرات ژنتیکی

دسته‌ی ژنی جدید D-Ala-D-Ser (D-آلانین-D-سرین) به نام VanL: در باکتری انتروکوک با تغییر D-آلانین انتهای زنجیره‌ی پپتیدوگلیکان در حال ساخت و جایگزینی آن با اسیدآمینه‌های دیگر، مقاومت به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین صورت می‌گیرد و به این ترتیب آنتی‌بیوتیک قادر به شناسایی زنجیره‌ی در حال رشد نیست. جایگزینی این D-آلانین با اسیدهای آمینه‌ی مختلفی در باکتری‌ها انجام می‌شود. در انتروکوک تاکنون ۳ پرون D-Ala-D-Ser شناسایی شده است که در آن اسیدآمینه‌ی D-سرین به جای D-آلانین می‌نشیند و بنابراین باعث میل ترکیبی پایین ونکومایسین به آن و در نتیجه مقاومت می‌شود. Boyd و همکاران یک اپرون جدید D-آلانین-D-سرین را شناسایی کردند و نام VanL به آن دادند (۱۰). جداسازی این اپرون از یک سویه‌ی انتروکوک بیمار بستری در بیمارستان بعد از دو روز به دست آمد.

غیر تخمیری گزارش شده‌اند و جزء کلاس A بسته‌بندی Ambler می‌باشند. اولین آنزیم از این دسته به نام GES1، در سال ۲۰۰۰ و در باکتری کلبسیلا پنومونیه و بعد از آن، ۲۲ واریانت دیگر از آن گزارش شد که تفاوت آن‌ها در ۲ تا ۳ اسیدآمینو بود. Bebrone و همکاران یک واریانت جدید از این باکتری به نام GES18 را در یک سویه‌ی باکتری سودوموناس آئروژینوزا گزارش کردند که تفاوت آن با GES5 در جایگزینی اسیدآمینو Ile-80-val و تفاوت آن با GES1 در دو جایگزینی Ser-170-Gly و Ile-180-Val بود. اهمیت این واریانت، کمتر حساس بودن آن به آنزیم‌های ممانعت‌کننده‌ی بتالاکتاماز از قبیل کلاوونات و تازوباکتام نسبت به GES1 بود (۱۴).

مقاومت جدید به آنتی‌بیوتیک اسپکتینومایسین در نایسریا گنوره: آنتی‌بیوتیک اسپکتینومایسین هنوز به عنوان اولین انتخاب برای بیماری سوزاک به ویژه در سویه‌های مقاوم به سفیکسیم و سفتریاکسون می‌باشد. این آنتی‌بیوتیک به قسمت 16srRNA ریبوزوم متصل شده، مانع از ادامه‌ی رونویسی می‌شود. Iliina و همکاران یک جهش در ترئونین ۲۴ و تبدیل آن به پرولین را در پروتئین S5 ریبوزوم (RPS5 یا Ribosomal protein S5) گزارش کردند که باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک اسپکتینومایسین شد (۱۵).

مکانیسم جدید مقاومت بالا و وسیع‌الطیف به آنتی‌بیوتیک‌ها در نایسریا گنوره: پمپ خروجی چند دارویی MtrC-MtrD-MtrE در نایسریا گنوره، باعث مقاومت به چندین عامل آنتی‌بیوتیکی با پمپ آن‌ها مانند ماکرولیدها، بتالاکتامها، دترجنت‌ها و فاکتورهای

۲۰۱۱ گزارش شد که در آن آنزیم منواکسیژناز وابسته به فلاوین TetX، باعث هیدروکسیله شدن آنتی‌بیوتیک و بنابراین غیر فعال شدن آن می‌شود (۱۲).

ژن MupB، یک مکانیسم جدید مقاومت به آنتی‌بیوتیک موپریسین در استافیلوکوک اورئوس: آنتی‌بیوتیک موپریسین برای درمان عفونت‌های پوستی و ریشه‌کنی MRSA کاربرد دارد. این آنتی‌بیوتیک باعث ممانعت از سنتز پروتئین باکتریایی با مداخله در عملکرد آنزیم ایزولوسین tRNA سنتتاز و در نهایت مرگ باکتری می‌شود. پیش‌تر ثابت شده بود که مقاومت بالا به این آنتی‌بیوتیک [MIC (Minimum inhibitory concentration)] (بیشتر از ۵۱۲) توسط بیان ژن mupA (یا ileS2) صورت می‌گیرد که باعث کد کردن یک آنزیم جایگزین ایزولوسین tRNA سنتتاز می‌شود (۱۳-۱۲). Seah و همکاران مقاومت بالا به این آنتی‌بیوتیک را توصیف کردند که توسط یک لوکوس جدید به نام mupB واسطه‌گری می‌شد و ۶۵/۵ درصد با mupA و ۴۵/۵ درصد با ژن اصلی آنزیم یعنی ileS شباهت داشت (۱۳). با این وجود، همولوژی کم این لوکوس حاوی موتیف‌های حفظ شده در کلاس I آنزیم‌های tRNA سنتتاز می‌باشد و بنابراین عملکرد مشابهی دارد. مطالعات هیبریداسیون ساترن (Southern) نشان داد که این لوکوس بر روی پلاسمید غیر الحاقی حمل می‌شود (۱۳).

GES18 یک آنزیم بتالاکتاماز جدید تجزیه‌کننده‌ی کارباپنم: آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (Extended-Spectrum beta-lactamases یا ESBLs) نوع GES در بسیاری از باکتری‌های گرم منفی شامل خانواده‌ی انتروباکتریاسه و باکتری‌های

غشای پلاسمایی می‌شود. بنابراین آنتی‌بیوتیک از هدف خود دور و باکتری مقاوم می‌گردد (۱۷). مطالعات این محققین نشان داد که مقاومت کامل به داپتومایسین، نیازمند جهش‌های بیشتر در آنزیم‌های مسؤول سنتز غشای سلولی از جمله گلیسرو فسفریل دی‌استر، فسفو دی‌استراز و کاردیولیپین سنتتاز است که باعث تغییر محتوای فسفولیپیدی غشای سلولی می‌شود (۱۷).

آنزیم کارباپنماز متالوبتالاکتاماز جدید دهلی (New Delhi Metallo-beta-lactamase یا NDM): آنزیم‌های NDM جزء آنزیم‌های هیدرولیز کننده‌ی کارباپنم‌ها هستند که اولین نوع آن به نام NDM1 در سال ۲۰۰۸ در یک سویه‌ی کلبسیلا پنومونیه و از بیماری که در یکی از بیمارستان‌های شهر دهلی هند بستری بود، جداسازی گردید (۱۸). این آنزیم‌ها جزء آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز هستند که باعث مقاومت بسیار بالا به اغلب آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله کارباپنم‌ها می‌شوند. بعد از آن چندین نوع دیگر شناسایی شد. در مطالعه‌ی Cuzon و همکاران، جدیدترین نوع آنزیم‌های NDM (به نام NDM-7) از یک بیمار در باکتری *E. coli* (*Escherichia coli*) شناسایی شد که به تمام آنتی‌بیوتیک‌های تست شده به جز آمیکاسین، تیگسیکلین، فسفومایسین و کلرامفنیکل مقاوم بود (۱۹).

FIM-1 یک متالوبتالاکتاماز جدید: Pollini و همکاران نوع جدیدی از متالوبتالاکتاماز به نام FIM-1 را شناسایی و معرفی کردند که از یک سویه‌ی بالینی سودوموناس آئروژینوزا جداسازی گردید. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که این ژن شباهت ۴۰ درصدی به آنزیم‌های NDM دارد. ژن این آنزیم به نام *bla*_{FIM-1}

ضد میکروبی میزبان به خارج از سلول می‌شود. بیان این پرون توسط یک مهار کننده به نام MtrC و یک فعال کننده به نام MtrA تنظیم می‌شود. مطالعات قبلی نشان داده است که جهش در MtrA و یا ناحیه‌ی ادغام آن با پرون فوق، باعث افزایش مقاومت این باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود (۱۲). Ohneck و همکاران نشان دادند که جهش انتقالی C به T 120bp بالادست کدون شروع MtrC که پیش‌تر کشف شده بود، باعث ایجاد توالی حفظ شده در (TATA) ۱۰ و حضور آن سبب تولید یک پروموتور جدید برای رونویسی از پرون MtrCDE می‌شود. این پروموتور جدید بسیار قوی‌تر از پروموتور نوع وحشی بوده، توسط اثر مهاری MtrO سرکوب نمی‌شود. بنابراین باعث بیان بیش از حد پرون و مقاومت بالا به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردد (۱۶).

مقاومت جدید به آنتی‌بیوتیک داپتومایسین در باکتری انتروکوک فکاليس: داپتومایسین یک لیپوپتید کاتیونی حلقوی ضد میکروبی است که دیواره‌ی تقسیم غشای سلولی را با وابستگی به کلسیم، مورد هدف قرار می‌دهد و علیه عفونت‌های مقاوم انتروکوک مقاوم به ونکومایسین (VRE) کاربرد دارد. Tran و همکاران نشان دادند که سویه‌هایی از انتروکوک فکاليس می‌توانند آنتی‌بیوتیک را از محل هدف اصلی‌اش یعنی محل تقسیم دیواره‌ی سلولی به مکان‌های دیگر منتقل کرده، اثر آن را مهار کنند. مکانیسم مقاومت به این صورت است که حذف یک اسیدآمین در پروتئین ترانس ممبران LiaF که جزیی از سیستم تنظیمی سه جزیی به نام LiaFSR است و در یکدست‌سازی غشای سلولی نقش دارد، باعث به هم ریختگی میکرودومین‌های غنی از کاردیولیپین

در کروموزوم الحاق شده بود و با عنصرهای شبیه ISCR19 که در گرفتن و متحرک‌سازی این ژن نقش دارد، ارتباط داشت (۲۰).

از بین رفتن کامل ژن به عنوان یک مکانیسم جدید مقاومت آنتی‌بیوتیکی: همان‌طور که اشاره شد، جهش در ژن‌های هدف آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند باعث کاهش میل ترکیبی و در نتیجه کاهش مقاومت نسبت به آن‌ها گردد. تصور این‌که باکتری‌ها یک ژن هدف آنتی‌بیوتیک خاصی را به طور کامل حذف کنند، بعید به نظر می‌رسد؛ چرا که اغلب این هدف‌ها جزء ژن‌های ضروری برای باکتری‌ها هستند که در فیزیولوژی آن‌ها نقش دارد. Torok و همکاران در دانشگاه کمبریج انگلستان، مکانیسم جدیدی را در باکتری بولخوردریا پسودومالئی (عامل بیماری مشمشه) گزارش کردند که در آن ژن هدف آنتی‌بیوتیک سفنازیدیم یعنی پروتئین اتصالاتی پنی‌سیلین ۳ (PBP3) حذف شده بود و باکتری‌های حساس به این آنتی‌بیوتیک به باکتری‌های مقاوم تبدیل شده بودند، اما همان‌طور که انتظار می‌رفت، این باکتری‌ها توانایی رشد در محیط‌های قبلی را نداشتند و مسؤول پایداری عفونت در بیماران تحت درمان با سفنازیدیم بودند (۲۱). مطالعه‌ی آنان نشان دهنده‌ی حذف ژنومی بزرگ ۱۵۰ kb (۱۵۰ کیلو بازی) بود که در محل ژن *penA* (کد کننده‌ی PBP3) ایجاد شد. این حذف باعث تغییر مورفولوژی باکتری از حالت باسیل گرم منفی به حالت رشته‌ای شد که به دلیل اهمیت پروتئین PBP3 در ساخت دیواره‌ی سلولی می‌باشد. همچنین باکتری فوق در محیط کشت‌های معمولی قبلی رشد نمی‌کرد و فقط در محیط کشت غنی Ashdown بعد از ۴۸ ساعت به

صورت کلنی‌های بسیار ریز رشد کرد. همچنین در مقایسه با باکتری‌های وحشی که باسیلی و متحرک بودند، جهش یافته‌ها به صورت فیلامنت‌های حاوی تیغ‌های متصل به هم بدون حرکت و بدون توانایی تقسیم شدن مشاهده شد (۲۱).

Riboswitch به عنوان یک مکانیسم جدید مقاومت علیه آمینوگلیکوزیدها: مکانیسم Riboswitch به عنوان یک مکانیسم جدید تنظیمی ژن به طور کامل شناخته شد. این سیستم در واقع قسمتی از mRNA به نام آپتامر است که با اتصال مولکول‌های کوچک به آن، باعث تنظیم تولید پروتئین mRNA می‌گردد (بنابراین ژن خاموش یا روشن می‌شود). Jia و همکاران یک Riboswitch متصل شونده به آمینوگلیکوزید را در باکتری‌ها کشف کردند که با اتصال آنتی‌بیوتیک به آن، از حالت خاموشی به حالت روشن درمی‌آید و با این عمل، mRNA روشن می‌شود و به دنبال آن آنزیم‌های تغییر دهنده و غیر فعال کننده‌ی آنتی‌بیوتیک (یعنی آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز و آمینوگلیکوزید آدنیل ترانسفراز) فعال شده، باکتری مقاوم می‌گردد (۲۲). همان‌گونه که در شکل ۲ نشان داده شده است، قسمت SD2 محل اتصال mRNA به ریبوزوم می‌باشد که توسط توالی مکمل آن غیر فعال شده است، اما با اتصال آنتی‌بیوتیک در شکل mRNA تغییر ایجاد می‌شود و این آنتی SD2 به SD1 متصل می‌گردد. بنابراین SD2 آزاد شده، mRNA می‌تواند ترجمه شود.

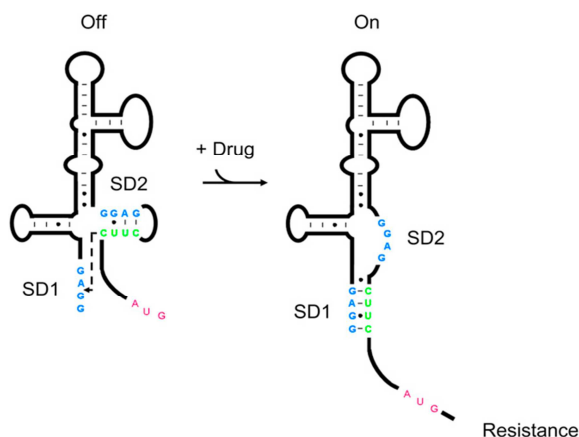
نقش پاسخ SOS در مقاومت آنتی‌بیوتیکی

ایجاد پاسخ SOS و مقاومت آمینوگلیکوزیدها، فلوروکوئینولون‌ها و بتالاکتام‌ها: ترمیم SOS یکی از راهکارهای باکتری‌ها هنگام مواجهه با آسیب‌های

عنوان عنصر تأثیرگذار بر سیستم دو جزئی DpiBA، نه تنها باعث تنظیم رونویسی، بلکه باعث تنظیم همانندسازی DNA و تقسیم آن با توانایی غیر معمول برای اتصال به توالی‌های غنی از AT در ناحیه‌ی همانندسازی کروموزوم E.coli و برخی از پلاسمیدهای ویژه می‌شود (۲۳-۲۴). اتصال Dpi به این نواحی باعث ممانعت از اتصال پروتئین‌های DnA و DnB و جلوگیری از همانندسازی می‌گردد. این جلوگیری باعث القای پاسخ SOS شده، به دنبال آن تقسیم سلولی متوقف می‌شود. Miller و همکاران در مطالعه‌ی خود به این نتیجه رسیدند که آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بیان DpiBA را به میزان ۴ برابر افزایش می‌دهد. پاسخ SOS به دنبال این افزایش فعال گردیده، تقسیم سلولی به طور موقت متوقف می‌شود و از آنجایی که عملکرد آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بر روی سلول‌های فعال می‌باشد، عملکرد آن‌ها تأثیری ندارد (۲۳).

نقش پاسخ SOS در کنترل نو ترکیبی ایتتگرون‌ها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی: ایتتگرون‌ها عناصر ژنتیکی باکتریایی هستند که توانایی الحاق و بیان ژن‌های بدون پروموتور را دارند. دو دسته از ایتتگرون‌ها توصیف شده‌اند. دسته‌ی اول شامل ایتتگرون‌های متحرک (مقاوم) (Mobile integrons یا MI) که بر روی ترانسپوزوم‌ها قرار گرفته‌اند و دارای ۲ تا ۸ کاست کد کننده‌ی مقاومت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند. دسته‌ی دوم ایتتگرون‌های کروموزومی (Chromosomal integrons یا CI) هستند که ممکن است شامل هزاران کاست ژنی باشند و اغلب آن‌ها عملکردشان ناشناخته است (۲۴). همه‌ی ایتتگرون‌ها شامل یک ژن ایتتگراز (Inter I)

بزرگ DNA می‌باشد و به دلیل این‌که باعث افزایش فراوانی جهش می‌گردد، به آن ترمیم مستعد خطا نیز گفته می‌شود. این ساز و کار القاء، محصولات دو ژن LexA و RecA را درگیر می‌کند. در این میان، پروتئین RecA به زنجیره‌ی تک DNA متصل شده، باعث تجزیه‌ی پروتئین LexA (که به عنوان سرکوبگر پاسخ SOS است) و راه‌اندازی پاسخ SOS می‌شود. این پاسخ در اثر عوامل آسیب‌رسان به DNA مانند UV (Ultraviolet) و یا آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند فلوروکوئینولون‌ها، آمینوگلیکوزیدها و بتالاکتام‌ها فعال می‌شود (۲۳). نتایج تحقیق Miller و همکاران در دانشگاه استنفورد، نوع جدیدی از مکانیسم‌های دفاعی باکتری‌ها را علیه آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش کرد. این مکانیسم دفاعی از سیستم انتقالی سیگنال دو جزئی استفاده کرده، پاسخ SOS را فعال می‌نماید و در نتیجه باعث ممانعت موقتی تقسیم سلولی در مواجهه با آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام و محدود ساختن اثرات آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود (۲۳).



شکل ۲. Riboswitch به عنوان یک مکانیسم جدید مقاومت علیه آمینوگلیکوزیدها (۲۲)

مطالعات قبلی نشان داده بود که پروتئین DpiA به

حاصل از یک ایتنگرون که یک آنزیم بتالاکتاماز وسیع‌الطیف را کد می‌کند، شناسایی کردند. این توالی الحاقی یک پروتئین ادغامی به نام GCUF1-OXA-28 را تولید می‌کند که باعث مقاومت یک سویه‌ی سودوموناس آئروژینوزا (که پیش‌تر به سفنازیدیم حساس بود) به سفالوسپورین‌های نسل سوم از جمله سفنازیدیم شد. در مطالعه‌ی آنان، آنتی‌بیوتیک مترونیدازول باعث القای پاسخ SOS و شروع پدیده‌ی بیان ایتنگراز و ایجاد نوترکیبی ذکر شده گردید (۲۵).

مکانیسم‌های جدید مولکولی مقاومت به

آنتی‌بیوتیک‌ها در سلول‌های *Persister*

در یک جمعیت میکروبی تعداد بسیار کمی از سلول‌های *Persister* (۰/۰۰۱ تا ۰/۱ درصد) که به عنوان سلول‌های نهفته *Persister* شناخته می‌شوند، وجود دارند. این سلول‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهند (۲۶). سلول‌های *Persister* که ۷۰ سال پیش شناخته شدند، هنوز به عنوان عوامل ایجاد عفونت‌های مزمن شناخته می‌شوند؛ چرا که هر چند این سلول‌ها حالت نهفته دارند، اما می‌توانند در شرایط مناسب (به عنوان مثال بعد از برداشت آنتی‌بیوتیک از محیط کشت) دوباره به سلول‌های فعال سالم تبدیل شوند (۲۷).

بر اساس یک فرضیه‌ی قدیمی مورد قبول، علت این‌که سلول‌های *Persister* حالت غیر فعال و نهفته دارند، آن است که اغلب فعالیت‌های متابولیسمی آن‌ها در سطح بسیار کمی انجام می‌شود و از آنجایی که بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی سلول‌های فعال و نه غیر فعال تأثیر می‌گذارند، بنابراین سلول‌ها به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند. در واقع، در ژن‌های

هستند که باعث ادغام ژن‌های خارجی در ناحیه‌ی ATTI و خروج تصادفی یا بازسازی دوباره‌ی کاست‌های ژنی نزدیک می‌شود. بر خلاف اهمیت این عناصر در کسب و گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، اطلاعات کمی در مورد دینامیک و تنظیم کنترل آن‌ها وجود دارد.

Guerin و همکاران با بررسی نواحی بالادست چندین ژن ایتنگراز MI و CI، توانستند ناحیه‌ی موتیف اتصالی پروتئین LexA در باکتری ویبریو کلرا را کشف کنند و مشاهده نمودند که پروتئین LexA به طور ویژه و اختصاصی به این ناحیه متصل می‌شود (۲۴). همچنین آن‌ها بیان ایتنگراز در CI ویبریو کلرا و یک کلاس I MI در *E. coli* را تجزیه و تحلیل کردند که نتایج حاکی از بیان ژن‌ها توسط القای پاسخ SOS بود. القای SOS باعث کنترل نوترکیبی کاست‌های ایتنگرونی می‌گردد و از آنجایی که LexA‌های بتالاکتام، فلوئوروکوئینولون‌ها و تری‌متوپریم باعث القای پاسخ SOS می‌شوند، القای این پاسخ باعث افزایش نوترکیبی کاست‌های ایتنگرون و در نتیجه ایجاد مقاومت به این LexA‌ها می‌شود (۲۴).

مطالعات انجام شده (۲۳-۲۴) به طور قطع بیان نمود که پاسخ SOS باعث ایجاد مقاومت با القای نوترکیبی ایتنگرون‌ها می‌شود، اما این امر به صورت بالینی و تجربی نشان داده نشد تا این‌که Hocquet و همکاران اولین شاهد برای اثبات این مورد را در بیماران بستری در بیمارستان گزارش کردند (۲۵). آن‌ها مکانیسم جدید مقاومت به LexA در ایتنگرون‌ها را بر اساس الحاق یک عنصر ژنتیکی به نام کاست *gcuF1* و در بالادست کاست *bla_{OXA-28}*

درگیر در مسیرهای بیوستتزی و متابولیکی این سلول‌ها، تولید انرژی و ژن‌های غیر ضروری در سطح بسیار پایینی بیان می‌شود و عده‌ای بر این باور هستند که این دلیل نمی‌تواند تنها دلیل مقاومت آن‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها باشد (۲۸-۲۷).

در مطالعه‌ی Shah و همکاران سلول‌های خفته‌ای جداسازی شد که قدرت بیان پروتئین سبز فلورسنت (Green fluorescent protein یا GFP) را تحت کنترل پروموتور وابسته به رشد (rrnBP1) داشتند. پژوهش آنان اولین مطالعه‌ای بود که فرضیه‌ی قبلی (خفته بودن تنها دلیل مقاومت این سلول‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها است) را زیر سؤال برد (۲۸). علاوه بر این، مطالعه‌ی Gefen و همکاران گزارش کرد که برخی از سلول‌های خفته *E. coli*، توانایی ترجمه در سطحی بالاتر از حالت خفته را دارند و این سلول‌ها به طور کامل خفته نیستند (۲۹). مطالعات دیگر (۳۰-۳۲) نشان داد که علاوه بر دلیل خفته بودن آن‌ها برای مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، مکانیسم‌های فعال دیگری در این باکتری‌ها وجود دارند که در ادامه به آن‌ها اشاره شده است.

الف. نقش سرکوب استرس اکسیداتیو در مقاومت

سلول‌های *Persister*

سلول‌های ماکروفاژ، فرآورده‌های اکسیژن فعال واکنش دهنده (Reactive oxygen species یا ROS) و نیتروژن فعال واکنش دهنده (Reactive nitrogen species) مانند سوپراکسیداز و نیتریک اکسید را تولید می‌کنند. این فرآورده‌ها باعث القای رگولون‌های SoxRS و OxyR در باکتری‌ها می‌گردد. ژن‌های کنترل شونده توسط این رگولون‌ها باعث غیر فعال شدن اکسیدانت‌های فعال شده،

تحریک شروع مکانیسم تعمیر می‌شود (به طور مثال با تولید کاتالاز). Wu و همکاران با بررسی توانایی استرس اکسیداتیو نشان دادند که انکوباسیون سلول‌ها در این حالت، باعث افزایش بسیار زیاد تعداد سلول‌های تیمار شده با آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکوئینولون شد. این سلول‌ها که در تیمار با فلوروکوئینولون‌ها زنده مانده بودند، توانایی مقاومت بالایی در برابر بقیه‌ی آنتی‌بیوتیک‌های تست شده داشتند. ماده‌ی PQ باعث القای SoxRS می‌شود و این رگولون در تحریک تولید آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase یا SOD) نقش دارد، بنابراین باعث مهار اثر آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکوئینولون‌ها می‌شود و یکی از مکانیسم‌های اثر آن، تولید محصولات سمی اکسیژن از جمله سوپراکسید می‌باشد (۳۰).

Shatalin و همکاران بیان کردند که گاز H_2S (سولفید هیدروژن) در باکتری‌هایی مانند *E. coli*، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردد و مکانیسم عملکرد آن، کاهش میزان آهن فرس (Fe^{2+}) می‌باشد. این یون باعث تولید رادیکال فعال هیدروکسیل (OH) طی واکنش فتون می‌شود و بنابراین با کاهش آن، تولید رادیکال کشنده‌ی OH هم کاهش می‌یابد. عملکرد دیگر این گاز (H_2S)، تحریک تولید آنزیم‌های SOD و کاتالاز و کاهش استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش اثرات آنتی‌بیوتیک‌های باکتری‌سیدال می‌باشد (۳۱).

مکانیسم انجام شده‌ی دیگر توسط Nguyen و همکاران بر روی سلول‌های *Persister* سودوموناس

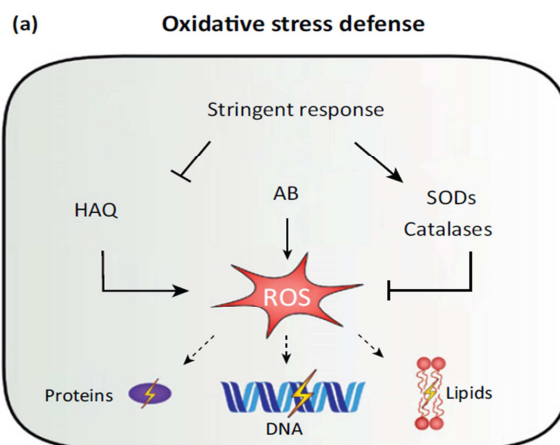
آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین که باعث آسیب DNA و در نتیجه فعال شدن پاسخ ترمیمی SOS می‌گردد، تولید می‌شود. این نتایج از آنجا حاصل شد که تشکیل سلول‌های Persister به طور معنی‌داری در سلول‌های جهش یافته‌ای که در ایجاد پاسخ SOS در مقابل آنتی‌بیوتیک ناتوان بودند، کاهش یافته بود. همچنین افزایش معنی‌داری در تعداد سلول‌های Persister در جهش یافته‌های LexA که در آن‌ها پاسخ SOS به طور پیوسته‌ای فعال باقی می‌ماند، مشاهده شد (۳۳).

القای وابسته به SOS حالت نهفتگی، به افزایش بیان توکسین *tisB* در باکتری *E. coli* وابسته است. این توکسین با تولید آنتی‌توکسین *istR-1* و توسط یک RNA آنتی‌سنس که نقش ضد آن را دارد، غیر فعال می‌شود. مکانیسم افزایش سلول‌های Persister به این ترتیب است که با فعال شدن پاسخ SOS، سرکوب وابسته به LexA توکسین *tisB* حذف می‌شود و از آنجایی که بیان *istR-1* تحت کنترل LexA نیست، نسبت بیان *tisB* mRNA به *istR-1* افزایش می‌یابد و باعث تجمع *tisB* می‌گردد. این توکسین که یک پپتید هیدروفوبیک کوچک است، به غشای داخلی وارد شده، باعث اختلال در نیروی محرکه‌ی پروتون (Proton motive force یا PMF) می‌شود. این امر باعث کاهش سطح ATP (Adenosine triphosphate)، رفتن سلول‌ها به حالت نهفتگی، ایجاد سلول‌های Persister و در نهایت ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌شود (شکل ۴).

ج. ایجاد سلول‌های Persister مقاوم به آنتی‌بیوتیک توسط مدل توکسین-آنتی‌توکسین

توکسین *hipA* قسمتی از مدل توکسین-آنتی‌توکسین

آرژونینوزا انجام شد. مطالعات آنان تأیید کرد که مکانیسم محدودیت رادیکال‌های اکسیژن از جمله رادیکال هیدروکسیل، می‌تواند باعث مقاومت سلول‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها شود. این عمل با همان مکانیسم تولید کاتالاز و SOD و همچنین، سرکوب تولید مولکول تحریک کننده‌ی اکسیدانت‌ها [۴-هیدروکسی-۲-آلکالی کوئینولین (HAQ) یا 4-hydroxy-2-alkylquinolines] انجام می‌گیرد (۳۲). همگی مطالعات صورت گرفته در چند سال اخیر (۳۲-۳۰)، نقش سرکوب استرس اکسیداتیو در مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را اثبات می‌کند (شکل ۳).



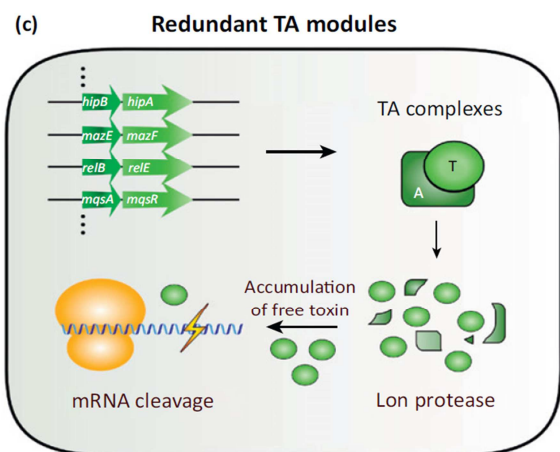
شکل ۳. نقش سرکوب استرس اکسیداتیو در مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها (۲۶)

ب. القای تشکیل سلول‌های Persister توسط آنتی‌بیوتیک‌ها

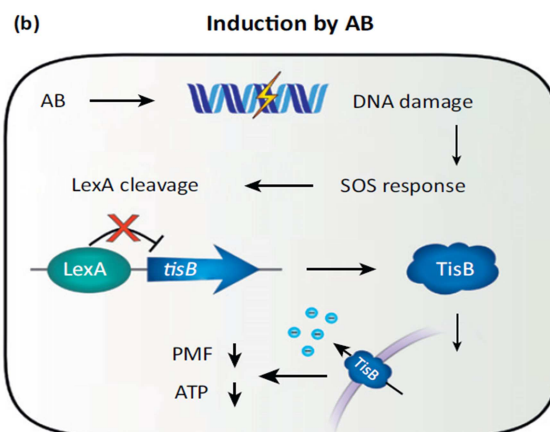
سلول‌های Persister در یک جمعیت میکروبی که تحت آنتی‌بیوتیک قرار نگرفته‌اند، نیز وجود دارد. این خصوص، مطالعه‌ی Dorr و همکاران نشان داد که ایجاد این سلول‌ها توسط آنتی‌بیوتیک می‌تواند القا شود. آنان بیان کردند که سلول‌های Persister باکتری *E. coli* به طور فعالانه‌ای توسط تیمار سلول‌ها با

باکتری *E. coli* حساسیت بالایی به آنتی‌بیوتیک از خود نشان می‌دهند و حذف می‌شوند و بر عکس افزایش تولید آن، باعث افزایش چشمگیر در تعداد سلول‌های Persister می‌شود (۲۶) (شکل ۵). مطالعه‌ی اخیر Tripathi و همکاران نشان داد که بیان سیستم TAGcdAB بر اساس پلاسمید F، در ایجاد سلول‌های Persister در باکتری *E. coli* نقش دارد و برای اولین بار یک فاکتور منتقل کننده‌ی مقاومت Persister در باکتری‌ها به اثبات رسید (۳۴).

(Toxin-Antitoxin یا TA) *hipA* است و به عنوان اولین ژن درگیر در تشکیل سلول‌های Persister شناخته می‌شود. البته مدل‌های TA مختلف دیگری نیز در تشکیل این سلول‌ها نقش دارند. تحقیقات نشان داده است که حذف ژن این توکسین، به تنهایی نمی‌تواند از تولید سلول‌های Persister ممانعت کند. هرچند پیش‌تر کشف شده بود که عملکرد این توکسین‌ها، حذف هدف‌های آنتی‌بیوتیک‌ها در سلول است و به این ترتیب باعث مهارسازی اثر آنتی‌بیوتیک می‌شوند، اما مکانیسم‌های دقیق آن به خوبی شناخته نشده بود.



شکل ۵. ایجاد سلول‌های Persister مقاوم به آنتی‌بیوتیک توسط مدل توکسین- آنتی توکسین (۲۶)



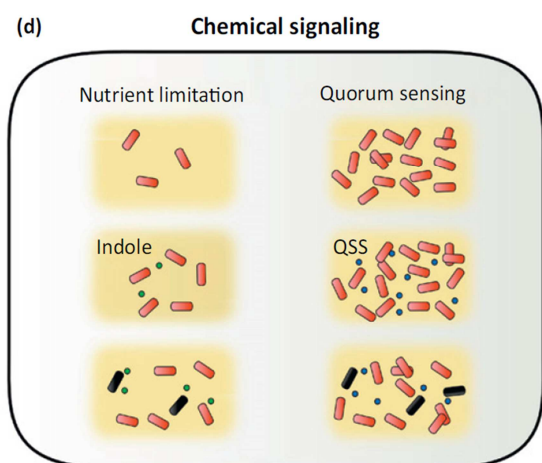
شکل ۴. القای تشکیل سلول Persister توسط آنتی‌بیوتیک (۲۶)

د. القای حالت خفتگی توسط سیگنال‌های شیمیایی

پدیده‌ی حد نصاب احساس (Quorum sensing) یا (QS) به باکتری‌ها اجازه می‌دهد که تعداد سلول‌ها و تغییرات محیطی را از طریق تشخیص مولکول‌های سیگنالی خاص به انجام رسانند. با این‌که تحقیقات انجام شده بر روی باکتری *E. coli* نشان دهنده‌ی ارتباط بین این پدیده و سلول‌های Persister نبود، اما مطالعه‌ی Moker و همکاران بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا بیان کرد که تعداد سلول‌های

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که تجزیه‌ی آنتی‌توکسین‌ها باعث غیر فعال‌سازی توکسین‌ها و در نتیجه آزادسازی و عملکرد آن بر روی هدف‌های آنتی‌بیوتیک‌ها و غیر فعال‌سازی آن‌ها می‌شود. همچنین گزارش شد پروتئاز Lon که تولید آن توسط آلارمون $(p) ppGpp$ تحریک می‌شود، باعث غیر فعال‌سازی و تجزیه‌ی این آنتی‌توکسین‌ها می‌گردد؛ چرا که با حذف این پروتئاز، سلول‌های Persister در

نمودند. اندول جزء مولکول‌های سیگنالینگ باکتریایی است و در نتیجه‌ی محدودیت مواد غذایی در طی فاز سکون تولید می‌شود. همچنین، باعث افزایش تعداد سلول‌های خفته و مقاومت آن‌ها به کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی می‌گردد. تحقیق Vega و همکاران نشان داد که مکانیسم عمل اندول در این مورد به فعال‌سازی رگولون SoxR و در نتیجه سرکوب استرس اکسیداتیو برمی‌گردد (۳۷) (شکل ۶).



شکل ۶. القای حالت خفتگی توسط سیگنال‌های شیمیایی (۲۶)

ارتباط پدیده‌ی QS و مقاومت آنتی‌بیوتیکی

به علت مقاومت روزافزون نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، محققین به فکر راهکارهای تازه‌ای هستند که به جای هدف‌گیری مستقیم میکروارگانیسم‌ها، به روش‌های غیر مستقیم مانند تغییر اختصاصی در ویروالانس باکتریایی و هدف‌گیری تنظیم‌کننده‌های کلیدی سیستم‌های تنظیمی که در بیان فاکتورهای ویروالانس نقش دارند، با میکروارگانیسم‌ها و ایجاد مقاومت در آن‌ها مقابله کنند (۳۸). یکی از این سیستم‌های تنظیمی هدف، پدیده‌ی QS است که به نام ارتباط

Persister در پاسخ به سیگنال‌های وابسته به QS از جمله پیوسیانین و N-۳-اکسودودکانویل-L-هموسرین لاکتون افزایش می‌یابد (۳۵).

در تحقیق Leung و Levesque گزارش شد که پدیده‌ی خفتگی در باکتری استرپتوکوک موتانس توسط فرمون QS که همان پپتید تحریک‌کننده‌ی مستعدکنندگی (Competence-Stimulating peptide یا CSP) است، تحریک می‌شود و باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک افلوکساساسین می‌گردد (۳۶). همچنین سیستم QS فعال شده، باعث بیان چندین کلاس II باکتریوسین‌ها می‌شود که این پپتیدهای ضد میکروبی با اختلال در PMF باکتری‌های مشابه، منجر به مرگ آن‌ها می‌شوند (۳۶). در مطالعه‌ی آنان باکتریوسینی به نام Mutacin V تولید شد. Leung و Levesque نشان دادند که سیستم توکسین-آنتی‌توکسین MazEF و RdBE، تعداد سلول‌های Persister را افزایش می‌دهد. همچنین، آن‌ها نقش بیوفیلم در تشکیل سلول‌های Persister و مقاومت به آنتی‌بیوتیک افلوکساساسین در بیوفیلم‌های تشکیل شده توسط باکتری استرپتوکوک موتانس را تأیید کردند و نشان دادند که سلول‌های مسن‌تر این باکتری (۷۲ ساعته) در بیوفیلم تولیدی، به دلیل شرایط سخت باکتری‌های کهنه (مانند محدودیت غذایی) تعداد بالاتری از سلول‌های خفته را تولید می‌کنند. این سلول‌ها توسط فرمون تحریک می‌شوند و با ورود به غشای پلاسمایی باکتری‌های مشابه، باعث کاهش PMF و ATP و در نتیجه وارد شدن عده‌ای از آن‌ها به حالت خفتگی و تبدیل شدن به سلول‌های Persister می‌شود.

Vega و همکاران تأثیر ماده‌ی اندول در تحریک تولید سلول‌های Persister را در باکتری E.coli تأیید

باکتری‌ها علیه این راهکارها ممکن است از راهکارهای جایگزینی برای خود استفاده کنند که مهمترین آن، استفاده از ژن‌های مرکزی QS متنوع بود. به عنوان مثال مطالعات مختلف (۳۳-۳۹، ۳۶) وجود سیگنال‌های متفاوت AHL حتی در بین باکتری‌های یک گونه‌ی مشخص را نشان می‌دهد (جدول ۱).

Wilder و همکاران در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که ۲۸ مولکول سیگنال مختلف می‌تواند در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا تولید شود و بدتر از آن این که هیچ مولکول سیگنالی در ۸ سویه‌ی تست شده از این باکتری تولید نمی‌شد که در عمل، استفاده از ممانعت کننده‌های این سیگنال‌ها را برای مبارزه با این سویه‌ها بی‌اثر می‌کرد. علاوه بر این، باکتری‌ها به راحتی می‌توانند از گیرنده‌های سیگنالی مختلفی استفاده کنند (۴۴) و ممانعت کننده‌های QS را به کمک بیان بسیار زیاد (Overexpressing) ژن‌های گیرنده‌ی مولکول سیگنال دور بزنند. در نهایت مطالعه‌ی Koch و همکاران گزارش نمود که باکتری‌ها با یک جهش نقطه‌ای در جایگاه اتصال مولکول LuxR، باعث عدم اتصال مولکول ممانعت کننده‌ی QS به جایگاه آن و در نتیجه مقاومت باکتری به آن می‌شوند (۴۰).

ژن pvdQ در باکتری سودوموناس آئروژینوزا دو نقش اساسی دارد؛ یکی تولید آنزیم آمیلاز که باعث هیدرولیز HSL (Hormone-sensitive lipase) این باکتری می‌شود و دوم، در حرکت سوارمینگ باکتری نقش دارد که این حرکت در هنگام افزایش تعداد باکتری‌ها اتفاق می‌افتد. مطالعات نشان داده است که تمایز حرکت سوارمینگ در این باکتری، باعث تحریک افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف می‌شود و ممکن است نقش مهمی را در مقاومت کلی

سلول-سلول باکتریایی هم شناخته می‌شود. این پدیده که اولین بار در باکتری آبری و بیرویو فیشری و سپس در بسیاری از باکتری‌های گرم منفی دیگر شناخته شد، از یک مولکول به نام آسیل هموسیرین لاکتون (Acyl homoserine lactone یا AHL) به عنوان مولکول سیگنال استفاده می‌کند. LuxI در ویبریو فیشری توسط LueR سلول شناسایی و بعد از آن، تغییرات لازم در ژن‌های هدف راه‌اندازی می‌شود. علاوه بر گرم منفی‌ها، این سیستم در گرم مثبت‌ها مانند باکتری‌های باسیلوس سابتیلیس، استرپتوکوک پنومونیه و استافیلوکوک اورئوس نیز شناسایی شده است. صفت‌های باکتری که تحت کنترل سیستم QS هستند، بسیار متنوع و شامل بیولومینسانس (تولید و نشر نور)، کانجوگاسیون (ترکیب)، ندولاسیون، سوارمینگ، اسپورزایی، تولید آنتی‌بیوتیک، تشکیل بیوفیلم و نیز بیان فاکتورهای ویروالانس مانند آنزیم‌های لیتیک، توکسین‌ها، سیدروفورها و نیز مولکول‌های چسبندگی و اتصال می‌باشد.

اولین استراتژی برای مقابله‌ی باکتری از طریق پدیده‌ی QS، استفاده از ترکیباتی جهت انتقال تشخیص مولکول‌های سیگنال بود. به عنوان مثال جلبک قرمز دریایی (*Delisea pulchra*) مولکول‌های هالورژنه فورانوز را که می‌تواند علیه تنظیم کننده‌های رونویسی QS وارد عمل شود، تولید می‌کند (۳۸). راهکار دوم، استفاده از مولکول‌هایی برای غیر فعال کردن خود مولکول‌های سیگنال بود (مولکول‌های AHL) که شامل دو دسته از آنزیم‌ها به نام AHL لاکتوناز و AHL آسیلاز بود. استفاده از این راهکارها، نگرانی ایجاد مقاومت در اثر استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های سالم را کاهش داد، اما مطالعات اخیر تأیید نمود که

جدول ۱. وجود سیگنال‌های متفاوت AHL (Acyl homoserine lactone) در بین باکتری‌های یک گونه (۳۸)

تعداد مولکول‌ها	مولکول سیگنالی	نام باکتری
۴	HHL و BHL	Aeromonas hydrophila
۷	HHL و BHL	Aeromonas salmonicida
۱۲	long-chain AHLs	Agrobacterium vitis
۵	HHL	Burkholderia vietnamiensis
۷	AI-2	Erwinia amylovora
۴	AI-2	Fusobacterium nucleatum
۳	OH-OHL	Photobacterium phosphoreum
۶	AI-2	Porphyromonas gingivalis
۷	AI-2	Prevotella intermedia
۲۸	OdDHL	Pseudomonas aeruginosa
۷	CAI-1	Vibrio campbellii
۷	AI-2	
۷	OH-BHL	
۵	CAI-1	Vibrio harveyi
۵	AI-2	
۵	OH-BHL	
۸	AHL	Vibrio salmonicida
۱۶	AI-2	Vibrio vulnificus

BHL: N-butanoyl-L-homoserine lactone; HHL: N-hexanoyl-L-homoserine lactone; OH-OHL: N-(3-hydroxyoctanoyl)-L-homoserine lactone; OdDHL: N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone; OH-BHL: N-(3-hydroxybutanoyl)-L-homoserine lactone

کاهش نفوذپذیری غشای خارجی باکتری و اثر بر پمپ‌های خروج آنتی‌بیوتیک و بنابراین مقاومت می‌شود. PvdQ در تولید پیووریدین (که سیدروفور اصلی جذب کننده‌ی آهن در باکتری سودوموناس آئروژینوزا است) نقش دارد و از آنجایی که آهن باعث تغییر نفوذپذیری غشای خارجی می‌شود، پس این پروتئین نقش خود را در سلول‌های سوارم در مقاومت به آنتی‌بیوتیک به انجام می‌رساند. Wang و همکاران این پروتئین را به عنوان یک هدف جدید برای تیمار باکتری معرفی کردند (۴۵).

مکانیسم‌های جدید مقاومت در بیوفیلیم

بیوفیلیم باکتریایی ساختاری است که توسط باکتری‌ها

باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها ایفا کند (۴۵). پژوهش انجام شده توسط Wang و همکاران نشان داد که ژن pvdQ نقش مهمی را در ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها از طریق تمایز سلول‌های سوارم ایفا می‌کند. بدین ترتیب مطالعه‌ی Vang و همکاران، دو نقش اصلی این ژن که پیش‌تر ثابت شده بود را به یکدیگر ارتباط داد. ژن pvdQ آنزیم تجزیه کننده‌ی مولکول سیگنالینگ QS (AHL) را تولید می‌کند و باعث به تعادل رسیدن تعداد مولکول‌های سیگنالینگ می‌شود که بعد از این تعادل، پدیده‌ی QS اتفاق می‌افتد و سلول‌ها سوارمینگ را انجام می‌دهند. همچنین مطالعات آنان نشان داد که این ژن باعث

در یک ماتریکس پلیمری طی چندین مرحله ساخته می‌شود و اغلب این ساختار شامل پلی‌ساکاریدها، پروتئین و DNA می‌باشد. بیوفیلیم‌های باکتریایی به دلیل این‌که در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و نیز مواد شیمیایی ضد بیوفیلیمی از خود مقاومت نشان می‌دهند، باعث ایجاد عفونت‌های مزمن می‌شوند (۴۶). این ساختار می‌تواند در باکتری‌هایی همچون استافیلوکوک و سودوموناس آئروژینوزا تشکیل شود که با عفونت مزمن همراه می‌گردد. مطالعات قبلی نشان داده است که یکی از مکانیسم‌های اصلی مقاومت باکتری‌ها در یک مجموعه‌ی بیوفیلیم به خصوص در قسمت‌های مرکزی، به رشد بسیار کم و حتی عدم رشد این سلول‌ها برمی‌گردد و از آن‌جایی که بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی باکتری‌های فعال تأثیر دارند، بنابراین این باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند (همان سلول‌های Persister) (۴۷).

همچنین مطالعات قبلی گزارش کردند، فراوانی جهش بسیار بالای باکتری‌های موجود در بیوفیلیم و نیز افزایش انتقال افقی ژن در آن‌ها، باعث مقاومت چند دارویی بالا به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود که این امر با مکانیسم‌های مختلفی از جمله تولید آنزیم‌های غیر فعال‌کننده‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید اهداف با میل ترکیبی پایین برای آن‌ها و نیز بیان بالای پمپ‌های خروج آنتی‌بیوتیک‌ها انجام می‌گیرد (۴۸-۵۰). در تحقیق Mandsberg و همکاران مکانیسم جدید مقاومت سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروسیز به کمک سیستم ترمیمی DNA نشان داده شد (۵۱). در مطالعه‌ی آنان مشخص گردید که فنوتیپ‌هایی با فرکانس بالای جهش‌زایی، در سیستم ترمیم ناجور

جفت‌شدگی (Mismatch repair یا MMR) که شامل ژن‌های *mutS*، *mutL* و *UVrD* است، باعث ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک به ویژه در اثر انتخاب ایزوله‌هایی که پمپ‌های خروج چند دارویی را بیان می‌کردند، می‌شود (۵۱).

Mai-Prochnow و همکاران در مطالعه‌ی خود به این نتیجه رسیدند که افزایش تولید ROS داخلی و یک سیستم آنتی‌اکسیدانت ناقص، باعث عدم تعادل بین بار اکسیداتیو و دفاع‌های آنتی‌اکسیدانت، ایجاد استرس در بیوفیلیم‌ها و در نهایت افزایش سویه‌های موتان مقاوم به آنتی‌بیوتیک در بیوفیلیم می‌شود (۵۲).

پژوهش *Conibear* و همکاران نشان داد که ساختارهای میکروکلنی ایجاد شده توسط استرس اکسیداتیو داخلی مکان‌های اختصاصی در بیوفیلیم برای افزایش تطابق ژنتیکی و تغییرات تکاملی، به منظور بقا و مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. به طور خلاصه ایجاد موتان در بیوفیلیم برای بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها اتفاق می‌افتد و باعث مقاومت به آن‌ها می‌شود (۵۳). مطالعه‌ی *Islam* و همکاران حاکی از آن بود که مقاومت به توبرامایسین در اثر بیان بالای پمپ خروج چند دارویی *MexXT-Omm* می‌باشد (۵۴). گزارش تحقیق *Johansen* و همکاران بیان کرد که مقاومت به کولیسین در اثر جهش‌هایی در سیستم *pmr* رخ می‌دهد که در ساختار لیپوپلی‌ساکارید (*Lipopolysaccharide* یا *LPS*) درگیر است و باعث عدم تأثیر این آنتی‌بیوتیک بر غشای محل عمل آن می‌شود (۵۳).

نتیجه‌گیری

مکانیسم‌های جدید مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیان شده

ذاتی ژنتیک باکتری‌ها برگردد.

تشکر و قدردانی

از خانم فاطمه خدابخش به جهت ویرایش ادبی متن مقاله تشکر و قدردانی می‌گردد.

نشان دهنده‌ی توانایی تطابق سریع باکتری‌ها برای مقابله با استرس‌های وارد شده به آن‌ها از قبیل فشار آنتی‌بیوتیکی می‌باشد. برخی از این مکانیسم‌ها که پیش‌تر مشابه آن‌ها شناخته نشده بود و همچنین وجود مکانیسم‌های متنوع برای مقابله با آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها، می‌تواند به انعطاف‌پذیری

References

- Bockstael K, Van Aerschot A. Antimicrobial resistance in bacteria. *Cent Eur J Med* 2009; 4(2): 141-55.
- Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2010; 74(3): 417-33.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Review of medical microbiology. New York, NY: Springer; 1980. p. 880-1200.
- Zinsser H, Joklik WK. Zinsser microbiology. 20th ed. New York, NY; 1988. p. 348-420.
- Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Med* 2006; 119(6 Suppl 1): S3-10.
- Canton R, Morosini MI. Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. *FEMS Microbiol Rev* 2011; 35(5): 977-91.
- Theuretzbacher U. Global antibacterial resistance: The never-ending story. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 1(2): 63-9.
- Shokri D, Zaghian S, Khodabakhsh F, Fazeli H, Mobasherizadeh S, Ataei B. Antimicrobial activity of a UV-stable bacteriocin-like inhibitory substance (BLIS) produced by *Enterococcus faecium* strain DSH20 against vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE) strains. *J Microbiol Immunol Infect* 2014; 47(5): 371-6.
- Mobasherizadeh S, Shokri D, Zargarzadeh AH, Jalalpour S, Ebneshahidi SA, Sajadi M. Antimicrobial resistance surveillance among hospitalized and non-hospitalized extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* from four tertiary-care hospitals in Isfahan, Iran; 2008-2011. *Afric J Microb Res* 2012; 6(5): 953-9.
- Boyd DA, Willey BM, Fawcett D, Gillani N, Mulvey MR. Molecular characterization of *Enterococcus faecalis* N06-0364 with low-level vancomycin resistance harboring a novel D-Ala-D-Ser gene cluster, vanL. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(7): 2667-72.
- Sho T, Muratani T, Hamasuna R, Yakushiji H, Fujimoto N, Matsumoto T. The mechanism of high-level carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae*: underlying OmpK36-deficient strains represent a threat of emerging high-level carbapenem-resistant *K. pneumoniae* with IMP-1 beta-lactamase production in Japan. *Microb Drug Resist* 2013; 19(4): 274-81.
- Volkers G, Palm GJ, Weiss MS, Wright GD, Hinrichs W. Structural basis for a new tetracycline resistance mechanism relying on the TetX monooxygenase. *FEBS Lett* 2011; 585(7): 1061-6.
- Seah C, Alexander DC, Louie L, Simor A, Low DE, Longtin J, et al. MupB, a new high-level mupirocin resistance mechanism in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(4): 1916-20.
- Bebrone C, Bogaerts P, Delbruck H, Bennink S, Kupper MB, Rezende de CR, et al. GES-18, a new carbapenem-hydrolyzing GES-Type beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* that contains Ile80 and Ser170 residues. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(1): 396-401.
- Ilina EN, Malakhova MV, Bodoev IN, Oparina NY, Filimonova AV, Govorun VM. Mutation in ribosomal protein S5 leads to spectinomycin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Front Microbiol* 2013; 4: 186.
- Ohneck EA, Zalucki YM, Johnson PJ, Dhulipala V, Golparian D, Unemo M, et al. A novel mechanism of high-level, broad-spectrum antibiotic resistance caused by a single base pair change in *Neisseria gonorrhoeae*. *MBio* 2011; 2(5).
- Tran TT, Panesso D, Mishra NN, Mileykovskaya E, Guan Z, Munita JM, et al. Daptomycin-resistant *Enterococcus faecalis* diverts the antibiotic molecule from the division septum and remodels cell membrane

- phospholipids. *MBio* 2013; 4(4).
18. Nordmann P, Boulanger AE, Poirel L. NDM-4 metallo-beta-lactamase with increased carbapenemase activity from *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(4): 2184-6.
 19. Cuzon G, Bonnin RA, Nordmann P. First identification of novel NDM carbapenemase, NDM-7, in *Escherichia coli* in France. *PLoS One* 2013; 8(4): e61322.
 20. Pollini S, Maradei S, Pecile P, Olivo G, Luzzaro F, Docquier JD, et al. FIM-1, a new acquired metallo-beta-lactamase from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate from Italy. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(1): 410-6.
 21. Torok ME, Chantratita N, Peacock SJ. Bacterial gene loss as a mechanism for gain of antimicrobial resistance. *Curr Opin Microbiol* 2012; 15(5): 583-7.
 22. Jia X, Zhang J, Sun W, He W, Jiang H, Chen D, et al. Riboswitch control of aminoglycoside antibiotic resistance. *Cell* 2013; 152(1-2): 68-81.
 23. Miller C, Thomsen LE, Gaggero C, Mosseri R, Ingmer H, Cohen SN. SOS response induction by beta-lactams and bacterial defense against antibiotic lethality. *Science* 2004; 305(5690): 1629-31.
 24. Guerin E, Cambray G, Sanchez-Alberola N, Campoy S, Erill I, Da RS, et al. The SOS response controls integron recombination. *Science* 2009; 324(5930): 1034.
 25. Hocquet D, Llanes C, Thouverez M, Kulasekara HD, Bertrand X, Plesiat P, et al. Evidence for induction of integron-based antibiotic resistance by the SOS response in a clinical setting. *PLoS Pathog* 2012; 8(6): e1002778.
 26. Kint CI, Verstraeten N, Fauvart M, Michiels J. New-found fundamentals of bacterial persistence. *Trends Microbiol* 2012; 20(12): 577-85.
 27. Fauvart M, De Groote VN, Michiels J. Role of persister cells in chronic infections: clinical relevance and perspectives on anti-persister therapies. *J Med Microbiol* 2011; 60(Pt 6): 699-709.
 28. Shah D, Zhang Z, Khodursky A, Kaldalu N, Kurg K, Lewis K. Persisters: a distinct physiological state of *E. coli*. *BMC Microbiol* 2006; 6: 53.
 29. Gefen O, Gabay C, Mumcuoglu M, Engel G, Balaban NQ. Single-cell protein induction dynamics reveals a period of vulnerability to antibiotics in persister bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(16): 6145-9.
 30. Wu Y, Vulic M, Keren I, Lewis K. Role of oxidative stress in persister tolerance. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(9): 4922-6.
 31. Shatalin K, Shatalina E, Mironov A, Nudler E. H2S: a universal defense against antibiotics in bacteria. *Science* 2011; 334(6058): 986-90.
 32. Nguyen D, Joshi-Datar A, Lepine F, Bauerle E, Olakanmi O, Beer K, et al. Active starvation responses mediate antibiotic tolerance in biofilms and nutrient-limited bacteria. *Science* 2011; 334(6058): 982-6.
 33. Dorr T, Lewis K, Vulic M. SOS response induces persistence to fluoroquinolones in *Escherichia coli*. *PLoS Genet* 2009; 5(12): e1000760.
 34. Tripathi A, Dewan PC, Barua B, Varadarajan R. Additional role for the ccd operon of F-plasmid as a transmissible persistence factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(31): 12497-502.
 35. Moker N, Dean CR, Tao J. *Pseudomonas aeruginosa* increases formation of multidrug-tolerant persister cells in response to quorum-sensing signaling molecules. *J Bacteriol* 2010; 192(7): 1946-55.
 36. Leung V, Levesque CM. A stress-inducible quorum-sensing peptide mediates the formation of persister cells with noninherited multidrug tolerance. *J Bacteriol* 2012; 194(9): 2265-74.
 37. Vega NM, Allison KR, Khalil AS, Collins JJ. Signaling-mediated bacterial persister formation. *Nat Chem Biol* 2012; 8(5): 431-3.
 38. Defoirdt T, Boon N, Bossier P. Can bacteria evolve resistance to quorum sensing disruption? *PLoS Pathog* 2010; 6(7): e1000989.
 39. Defoirdt T, Verstraete W, Bossier P. Luminescence, virulence and quorum sensing signal production by pathogenic *Vibrio campbellii* and *Vibrio harveyi* isolates. *J Appl Microbiol* 2008; 104(5): 1480-7.
 40. Koch B, Liljefors T, Persson T, Nielsen J, Kjelleberg S, Givskov M. The LuxR receptor: the sites of interaction with quorum-sensing signals and inhibitors. *Microbiology* 2005; 151(Pt 11): 3589-602.
 41. Joelsson A, Liu Z, Zhu J. Genetic and phenotypic diversity of quorum-sensing systems in clinical and environmental isolates of *Vibrio cholerae*. *Infect Immun* 2006; 74(2): 1141-7.
 42. Hirakawa H, Tomita H. Interference of bacterial cell-to-cell communication: a new concept of antimicrobial chemotherapy breaks antibiotic resistance. *Front Microbiol* 2013; 4: 114.
 43. LaSarre B, Federle MJ. Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiol Mol Biol Rev* 2013; 77(1): 73-111.
 44. Wilder CN, Allada G, Schuster M. Instantaneous within-patient diversity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing

- populations from cystic fibrosis lung infections. *Infect Immun* 2009; 77(12): 5631-9.
45. Wang L, Zhang C, Gong F, Li H, Xie X, Xia C, et al. Influence of *Pseudomonas aeruginosa* pvdQ gene on altering antibiotic susceptibility under swarming conditions. *Curr Microbiol* 2011; 63(4): 377-86.
46. Hoiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35(4): 322-32.
47. Brackman G, Cos P, Maes L, Nelis HJ, Coenye T. Quorum sensing inhibitors increase the susceptibility of bacterial biofilms to antibiotics in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(6): 2655-61.
48. Bjedov I, Tenaillon O, Gerard B, Souza V, Denamur E, Radman M, et al. Stress-induced mutagenesis in bacteria. *Science* 2003; 300(5624): 1404-9.
49. Conibear TC, Collins SL, Webb JS. Role of mutation in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *PLoS One* 2009; 4(7): e6289.
50. Romling U, Balsalobre C. Biofilm infections, their resilience to therapy and innovative treatment strategies. *J Intern Med* 2012; 272(6): 541-61.
51. Mandsberg LF, Ciofu O, Kirkby N, Christiansen LE, Poulsen HE, Hoiby N. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains with increased mutation frequency due to inactivation of the DNA oxidative repair system. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(6): 2483-91.
52. Mai-Prochnow A, Lucas-Elio P, Egan S, Thomas T, Webb JS, Sanchez-Amat A, et al. Hydrogen peroxide linked to lysine oxidase activity facilitates biofilm differentiation and dispersal in several gram-negative bacteria. *J Bacteriol* 2008; 190(15): 5493-501.
53. Johansen HK, Moskowitz SM, Ciofu O, Pressler T, Hoiby N. Spread of colistin resistant non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* among chronically infected Danish cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2008; 7(5): 391-7.
54. Islam S, Oh H, Jalal S, Karpati F, Ciofu O, Hoiby N, et al. Chromosomal mechanisms of aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15(1): 60-6.

New Molecular Resistance Mechanisms against Antibiotics in Bacteria

Dariush Shokri MSc¹, Mohammad Rabbani-Khorasgani PhD²

Review Article

Abstract

Only a short time after the discovery of antibiotics by Alexander Fleming, antibiotic-resistant bacteria were reported. Besides the traditional mechanisms of resistance in bacteria, new mechanisms have been described by different researchers. For example, recently a new gene operon of D-alanine-D-serine called VanL that caused resistant to the antibiotic vancomycin was reported. Other researchers have shown that *Klebsiella pneumoniae* strains lost purine Ompk36 that have a major role in the antibiotic diffusion into cells, are resistant to carbapenem. In 2011, the first full resistance to tigecycline was reported that the enzyme-linked monooxygenase flavin hydroxyl TetX cause deactivation of antibiotics. In 2012, high resistance to mupricin antibiotic was described that intermediated by a new locus named mupB. In addition, in 2013, it was showed that some strains of *Enterococcus faecalis* can move daptomycin antibiotic from its target to other places and so inhibit its activity. Removal of whole target gene (PBP3) of ceftazidime in *Burkholderia pseudomallei* was reported in 2012. In other hand, new role of riboswitch for resistance to aminoglycoside antibiotics reported in 2013. In addition, recent studies have indicated a relationship between SOS response and quorum sensing with antibiotic resistance and new antibiotic resistance mechanisms in bacterial biofilm and persister cells are known. In this review, recent studies have been conducted to identify these new mechanisms.

Keywords: Antibiotic, Antibiotic resistance, Riboswitch, SOS response, Quorum sensing, Persister cells

Citation: Shokri D, Rabbani-Khorasgani M. **New Molecular Resistance Mechanisms against Antibiotics in Bacteria.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(328): 410-28

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

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

Corresponding Author: Mohammad Rabbani-Khorasgani PhD, Email: m.rabbani@biol.ui.ac.ir

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

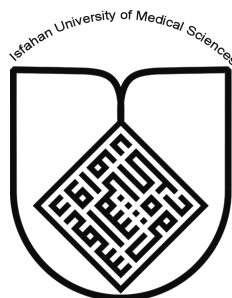
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

INSTRUCTION TO AUTHORS

1. **Aims and Scope:** The Journal of Isfahan Medical School is the official scientific **weekly** publication of the Faculty of Medicine in Isfahan Medical Sciences University.
This Journal accepts Original Papers, Review Articles, Case Reports, Short Communications, Educational Medical Video Clips and Letters to the Editor on all aspects of medicine.
2. Manuscript **Submission is acceptable only via Journal URL: <http://journals.mui.ac.ir/jims>**
Manuscript must be accompanied by a covering letter to the Editor-in-Chief, including title and author(s) name and undertaking that it has not been published or submitted elsewhere. In case the manuscript was earlier submitted to some other Journal and was rejected, the authors must provide full information for proper analysis. Manuscript should be typed in double space of the A-4 size paper with clear margins on both sides. The text should be submitted in Microsoft Word format only. Tables as well as illustrations should be typed and drawn on a separate pages. Do not submit tables as photographs.
The figures should be sent in a format of JPEG or GIF which will produce high quality images in the online edition of the journal. Authors must declare that it is being exclusively contributed to the Journal of Isfahan Medical School.
3. The manuscript should include: **Title page**, the **Abstract** (in both Farsi and English), **Introduction, Materials & Methods, Results, Discussion, Acknowledgement and References**.
4. **The title page:** The complete title of the manuscript, the name of all the authors with their highest qualifications, the department or institution to which they are attached, address for correspondence with telephone numbers, e-mail, and Fax number.
5. The **Abstract:** All original articles must accompany a structured abstract up to 250 words. It should be structured as **Background, Methods, Results and Conclusion** followed by **3 to 5 Keywords**. Keywords will assist indexers in cross indexing the article as they are published with abstract. Use terms from the Medical Subject Headings (MeSH) list of index medicus (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>). Authors need to be careful that the abstract reflects the content of the article accurately.
6. **Introduction:** This should summarize the purpose and the rationale for the study. It should neither review the subject extensively nor should it have data or conclusions of the study.
7. **Materials & Methods:** This should include exact method or observation or experiment. If an apparatus is used, its manufacturer's name and address should be given in parenthesis. If the method is established, give reference but if the method is new, give enough information so that another author is able to perform it. If a drug is used, its generic name, dose and route of administration must be given. For patients, age, sex with mean age \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. **Saeid 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 Razmjou** 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. 328, 4th Week, May 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 indexers

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

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

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