

مقاله های پژوهشی

- اثر آدیپوران بر فعالیت کاسپاز ۳، ماتریکس متالوپروتئینازهای ۲، ۹ و آنژیوژنز در سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان موش صحرایی ۱
سارا ملیح، مسعود سعیدی جم، سارا سلیمانی اصل، رضوان نجفی
- بررسی معیارهای ارزش تشخیصی لاکتوفرین ادرار در تشخیص عفونت ادراری کودکان ۸
علیرضا مریخی، زهرا پارساپور
- اثر حفاظتی ۶ هفته تمرین اختیاری بر آپوپتوز کبدی ناشی از دوکسوروبیسین در Rat های مدل سالمندی ۱۴
مینو دادبان شهامت، ولی اله دیدی روشن، تورج فرازمنذر
- بررسی ارتباط سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D3 با نوع تظاهر بالینی اولین حمله دمیلبینتو عصبی ۲۲
زهرا نصر، مسعود اعتمادی فر، مجتبی اکبری
- بررسی ویژگی های میکروبیولوژیک و سرولوژیک طغیان مننژیت در یک اردوگاه در استان اصفهان ۹۶-۱۳۹۵ ۲۸
رضا خدیوی، رضا فدایی، محمد کنعانی، فضل اله فاتحی

Original Articles

- The Effect of AdipoRon on the Activity of Caspase 3, Matrix Metalloproteinases 2 and 9, and Angiogenesis in Rat Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell 7
Sara Malih, Massoud Saidjam, Sara Soleimaniasl, Rezvan Najafi
- Diagnostic Value of Lactoferrin in Diagnosis of Urinary Tract Infections in Children 13
Alireza Merrikhi, Zahra Parsapour
- The Protective Effect of 6 Weeks of Voluntary Training on Liver Apoptosis Induced by Doxorubicin in Aging Model Rats 21
Mino Dadban-Shahamat, Valiollah Dabidi-Roshan, Touraj Farazmandfar
- Serum Levels of 25(OH) Vitamin D3 and Clinical Manifestation of First Demyelinating Attack 27
Zahra Nasr, Masoud Etemadifar, Mojtaba Akbari
- Microbiological and Serological Evaluation of the Meningitis Outbreak in a Community Center in Isfahan Province, Iran, during the Years 2016-2017 34
Reza Khadivi, Reza Fadaei, Mohammad Kanani, Fazlollah Fatehi



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و ششم، شماره (۴۶۵)، بهمنه اول فروردین ماه ۱۳۹۷

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر مریم راد احمدی

ناشر:

انتشارات وسنا (فرزاتگان راداندیش)
Email: farapublications@gmail.com
http://farapub.com

تلفن: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۳۵

دورنگار: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۸۲

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

Email: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مدیر اجرایی: علی مرادی مسؤؤل دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۹۱ تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

Email: jims@med.mui.ac.ir

http://jims.mui.ac.ir

وب سایت مجله:

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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



راهنمای نگارش و ارسال مقاله علمی - پژوهشی

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

هیأت تحریریه پس از دریافت مقالات اقدام به بررسی مقاله از لحاظ ساختاری و موضوعی می‌نماید و چنانچه مقاله در بررسی اولیه مورد تأیید باشد، برای داوری ارسال می‌شود. زمان فرایند داوری (از دریافت تا پذیرش یا رد نهایی آن) ۳ ماه و در صورت تقاضا جهت بررسی سریع‌تر با شرایط ذکر شده در راهنمای نویسندگان ۲۱ روز کاری (بجز روزهای تعطیل) می‌باشد. لازم به ذکر است داوری و انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است. لذا پس از انجام مراحل داوری و پذیرش مقاله و قبل از صدور نامه پذیرش، لازم است نویسندگان محترم فرایند مالی را تکمیل نمایند.

نحوه ارسال دست نوشته‌ها در سامانه

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

توجه به نکات زیر در ارسال مقاله ضروری است:

- ارسال مقاله منحصراً از طریق ثبت نام در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی انجام می‌شود. لازم است فقط نویسنده مسئول اقدام به سابمیت مقاله نماید و مقالاتی که توسط سایر نویسندگان یا اشخاص دیگر سابمیت شوند مورد بررسی قرار نخواهند گرفت.

- نویسنده‌ای که برای بار دوم اقدام به ارسال مقاله اصلاح شده خود می‌نماید، حتماً باید از طریق صفحه شخصی قبلی خود اقدام نموده و به هیچ عنوان دوباره به عنوان کاربر جدید و با ایمیل جدید در سامانه ثبت نام نکند.

- وارد کردن اسامی تمامی نویسندگان در سامانه و در محل مربوط به وارد کردن اسامی نویسندگان مقاله، الزامی است.

- پس از ارسال مقاله، تغییر اسامی نویسندگان امکان پذیر نمی‌باشد.

- فایل‌هایی که نویسنده در مرحله اولیه ارسال می‌کند شامل: (۱) فایل Word دست نوشته (۲) فایل Word صفحه عنوان (۳) فرم تعهدنامه، (۴) فرم مشخصات کامل نویسندگان (Cover letter) است که به ترتیب بایستی آپلود گردند.

نکته: درج شماره تماس ضروری (تلفن همراه، تلفن ثابت و ایمیل) نویسنده مسئول در فایل مشخصات نویسندگان الزامی است.

- نویسندگان در قسمت ارسال فایل‌ها، با ارسال یک فایل تعهد نامه که به امضای همه نویسندگان رسیده است، حق انتشار مقاله را به مجله دانشکده پزشکی اصفهان واگذار می‌نمایند. در غیر این صورت مقاله در روند داوری قرار نخواهد گرفت.

- مقالات ارسالی باید دارای فایل مجزا (Cover letter) شامل یک نامه خطاب به سردبیر حاوی عنوان مقاله، اسم، آدرس و ایمیل نویسنده مسئول، اسامی و ایمیل سایر نویسندگان باشد. در این نامه بایستی به صراحت اعلام گردد که دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد.

- در مرحله دوم بعد از این که دست نوشته در ابتدا از نظر همراستایی با اهداف و تنظیم در چهار چوب مجله مورد ارزیابی اولیه قرار گرفت و تأییدیه دفتر مجله در خصوص قابل ارجاع بودن آن دست نوشته برای شروع فرایند داوری ارسال گردید، ضروری است ۵۰ درصد کل هزینه به منظور شروع فرآیند بررسی به عنوان

(Processing fee) بر اساس موارد ذکر شده در بخش هزینه انتشار راهنمای نویسندگان پرداخت گردد. این هزینه غیر قابل برگشت می‌باشد. سپس فایل

مربوط به تصویر اسکن شده فیش پرداختی فقط با نام نویسنده مسئول (همراه با درج شماره مقاله و نوع هزینه (هزینه بررسی یا هزینه پذیرش) از طریق سایت به

دفتر مجله ارسال گردد. لازم به ذکر است تنظیم دست نوشته بر اساس فرمت مجله، و پرداخت وجه اولیه فقط جهت ارسال به داوران بوده و دال بر پذیرش آن نمی

باشد.

نحوه ارایه مقاله

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

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

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

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

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

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

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

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

تبصره ۱- مقالات ترجمه پذیرفته نمی‌شود.

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

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

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

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

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

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

صفحه عنوان: این صفحه باید شامل عنوان کامل، عنوان مکرری، اسامی 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 و تقدیر و تشکر (شامل تشکر از افراد، شماره طرح پژوهشی و یا پایان نامه، ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی) باشد. ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

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

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

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

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

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

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

در صورتی که مطالعه دارای پرسش‌نامه یا چک لیست است، ضمیمه کردن آن لازم است؛ شیوه تأمین روایی مشخص شود و توصیف دقیق فرآیند اجرایی برای رواسازی آن توضیح داده شود. چگونگی تعیین روش‌های مورد استفاده برای تأمین پایایی پرسش‌نامه و گزارش نتایج آزمون‌های آماری به کار گرفته شده جهت تأمین پایایی توضیح داده شود. در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

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

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

- جداول: جداول بدون حاشیه خارجی ارسال گردد. تعداد محدود جدول با توجه به حجم مطالعه و مقاله، همراه با ذکر عنوان آن در بالای جدول مورد قبول خواهد بود. ارسال جداول فقط تحت نرم‌افزار MSWord مورد قبول است. توضیحات اضافی در خصوص محتوای جداول باید به صورت پی‌نوشته و در پایین جدول باشد. جداول باید در صفحات جداگانه و در پایان دست‌نوشته (پس از منابع) قرار داده شوند. جدول‌ها باید دارای زمینه سفید و بدون سایه و ترام باشد. جداول باید توسط نرم‌افزار MS Word و فاقد هرگونه صفحه آرای، فاصله خطوط ۱ برابر (Single)، قلم B Zar و سایز ۱۰ و قلم متغیرهای هر ستون B Zar و سایز ۱۰ Bold تهیه شوند. برای تایپ کلمات لاتین در جدول از قلم Time New Roman سایز ۹ استفاده شود.

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

تبصره ۱- اگر شکل یا جدولی از مرجع دیگری اخذ شده است، شماره مرجع در آخر عنوان جدول یا شکل نوشته شود و مشخصات مأخذ در بخش مراجع درج شود. -تقدیر و تشکر: در این بخش تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند مورد تقدیر قرار گیرند؛ از جمله کسانی که کمک‌های فنی، نوشتاری و مالی داده و همچنین سرپرستان و مدیران بخش‌های محل انجام مطالعه که در امر پشتیبانی‌های عمومی در اجرای تحقیق فعالیت داشته‌اند. همچنین ذکر نام سازمان(های) حمایت‌کننده یا تأمین‌کننده مالی پژوهش در این بخش ضروری است.

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

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

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

-اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

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

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

- منابع به صورت پایان نامه

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

- منابع به صورت الکترونیکی - مجله الکترونیکی روی اینترنت

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

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

منابع به صورت صفحه وب

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

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

- نمونه خوانی (**Proofreading**): یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤل

ارسال می گردد که لازم است در کوتاه ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وبسایت مجله ارسال نماید.

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

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

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

- ملاحظات اخلاقی: این ملاحظات باید در بخش روش ها اشاره گردند. اخذ رضایت نامه از کلیه ی افراد بالغ شرکت کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأیید کننده ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.

- تداخل منافع (Conflict of Interest): نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه ها، سازمان ها، نهادها، شرکت ها و سایر منابع که انتشار یافته های مطالعه می تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

- اثر آدیپوران بر فعالیت کاسپاز ۳، ماتریکس متالوپروتئینازهای ۲، ۹ و آنژیوژنز در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان موش صحرائی.....۱
سارا ملیح، مسعود سعیدی جم، سارا سلیمانی اصل، رضوان نجفی
- ۸.....
بررسی معیارهای ارزش تشخیصی لاکتوفرین ادرار در تشخیص عفونت ادراری کودکان.....
علیرضا مریخی، زهرا پارساپور
- ۱۴.....
اثر حفاظتی ۶ هفته تمرین اختیاری بر آپوپتوز کبدی ناشی از دوکسوروبیسین در Rat‌های مدل سالمندی.....
مینو دادبان شهامت، ولی‌اله دبیدی روشن، تورج فرازمندفر
- ۲۲.....
بررسی ارتباط سطح سرمی ۲۵- هیدروکسی ویتامین D3 با نوع تظاهر بالینی اولین حمله‌ی دمی‌لینیتو عصبی.....
زهرا نصر، مسعود اعتمادی‌فر، مجتبی اکبری
- ۲۸.....
بررسی ویژگی‌های میکروبیولوژیک و سرولوژیک طغیان مننژیت در یک اردوگاه در استان اصفهان ۹۶-۱۳۹۵.....
رضا خدیوی، رضا فدایی، محمد کنعانی، فضل‌اله فاتحی

اثر آدیپوران بر فعالیت کاسپاز ۳، ماتریکس متالوپروتئینازهای ۲، ۹ و آنژیوزنز در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان موش صحرایی

سارا ملیح^۱، مسعود سعیدی جم^۲، سارا سلیمانی اصل^۳، رضوان نجفی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: امروزه استفاده از سلول‌های بنیادی یک گزینه‌ی مناسب جهت درمان بسیاری از بیماری‌ها می‌باشد، اما بقای پایین و تعداد کم سلول‌های بنیادی پیوند شده، مهم‌ترین مانع در سلول‌درمانی می‌باشند. در سال‌های اخیر، پیش‌تیمار سلول‌های بنیادی با ترکیبات شیمیایی و دارویی، کارایی این سلول‌ها در درمان را افزایش داده است. در این مطالعه، اثر آدیپوران (AdipoRon)، آگونیست گیرنده‌ی آدیپونکتین، بر فعالیت کاسپاز ۳، آنزیم‌های ماتریکس متالوپروتئیناز-۲ (MMP-2 یا Matrix metalloproteinases-2)، MMP-9 و آنژیوزنز در Mesenchymal stem cells (MSCs) مشتق از مغز استخوان موش صحرایی بررسی گردید.

روش‌ها: MSCs با غلظت‌های مختلف آدیپوران به مدت ۲۴ ساعت تیمار گردیدند. بیان ژن‌های عامل رشد اندوتلیال عروقی (Vascular endothelial growth factor) یا VEGF)، آنژیوپوتین-۲ (Angiopoietin-2 یا Ang-2) و Ang-4 با استفاده از Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) اندازه‌گیری گردید. فعالیت آنزیم‌های MMP-2 و MMP-9 با روش زایموجرافی بررسی شد. اندازه‌گیری فعالیت کاسپاز ۳ از طریق آزمون آنزیمی ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج Real-time PCR نشان داد که آدیپوران بیان VEGF را به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه شاهد افزایش داد، اما تأثیری بر بیان ژن‌های Ang-2 و Ang-4 نداشت. فعالیت MMP-2 و MMP-9 در نمونه‌های تیمار شده با آدیپوران نسبت به نمونه‌ی شاهد افزایش داشت. فعالیت کاسپاز ۳ در سلول‌های تیمار شده با آدیپوران در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های این مطالعه، احتمال می‌رود پیش‌تیمار MSCs با آدیپوران قبل از پیوند، بتواند بقا و مهاجرت این سلول‌ها را از طریق افزایش بیان VEGF، افزایش فعالیت MMP-2 و MMP-9 و مهار فعالیت آنزیمی کاسپاز ۳ بهبود دهد.

واژگان کلیدی: آدیپوران، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، کاسپاز ۳، ماتریکس متالوپروتئینازهای ۲ و ۹، عامل رشد اندوتلیوم عروقی

ارجاع: ملیح سارا، سعیدی جم مسعود، سلیمانی اصل سارا، نجفی رضوان. اثر آدیپوران بر فعالیت کاسپاز ۳، ماتریکس متالوپروتئینازهای ۲، ۹ و آنژیوزنز در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان موش صحرایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۵): ۷-۱

مقدمه

سلول‌های بنیادی، قابلیت خود بازسازی و تمایز به بافت‌های متعدد را دارا می‌باشند. سلول‌های بنیادی مشتق از مزانشیم (Mesenchymal stem cells یا MSCs) را می‌توان به راحتی از مغز استخوان، خون بند ناف، بافت چربی و خون محیطی جدا نمود و تحت شرایط مناسب به رده‌های سلولی مختلفی تمایز داد. به همین دلیل، این

سلول‌ها برای ترمیم بافت‌های آسیب دیده مناسب می‌باشند (۱). پیوند ضعیف و محدود MSCs در بافت‌های آسیب دیده، مهم‌ترین دلیل پایین بودن کارایی این سلول‌ها در درمان می‌باشد (۲). این محدودیت در پیوند، اغلب به دلیل مرگ سلولی ناشی از پاسخ‌های التهابی، کاهش عوامل بقای سلولی، حضور گونه‌های اکسیژن فعال، فعالیت آبتشارهای آپوپتوزی، عدم خون‌رسانی و فقدان

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
- ۲- استاد، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
- ۳- دانشیار، گروه آناتومی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
- ۴- استادیار، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

Email: najafi2535@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤؤل: رضوان نجفی

شرایط *In vitro* می‌باشد.

روش‌ها

تیمار دارویی: آدیپوران (Cayman, USA) در Dimethyl sulfoxide (DMSO) حل گردید. با توجه به مطالعه‌ی قبلی (۱۳)، سلول‌ها با غلظت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میکرومولار آدیپوران به مدت ۲۴ ساعت تیمار گردیدند.

جداسازی MSCs از مغز استخوان موش صحرایی و تعیین

نشانه‌های سطحی MSCs: در این مطالعه، مغز استخوان از استخوان درشت نی موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar جدا گردید. بعد از سانتریفیوژ کردن سوسپانسیون سلولی، رسوب سلولی در داخل فلاسک ۲۵ سانتی‌متر مربع که حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت (Dulbecco's Modified Eagle Medium یا DMEM)، ۱۵ درصد سرم جنین گاوی (Fetal bovine serum یا FBS) و ۱ درصد پنی‌سیلین - استرپتومایسین منتقل گردید و سپس، فلاسک در داخل انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد حاوی CO₂ ۵ درصد قرار گرفت. بعد از گذشت ۴۸ ساعت، سلول‌هایی که به کف فلاسک نچسبیده بودند، از فلاسک خارج گردید و محیط کشت نیز هر ۲-۳ روز یک بار تعویض گردید. همه‌ی آزمایش‌ها، بر روی سلول‌هایی با پاساژ ۳-۵ انجام شد. سپس، MSCs از نظر وجود CD34، CD44، CD45، CD73 و CD90 با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری بررسی گردیدند. داده‌های حاصل، با استفاده از نرم‌افزار CellQuest آنالیز گردید.

Real-time PCR (Real-time polymerase chain reaction):

RNA تام MSCs تیمار شده با آدیپوران و گروه شاهد تیمار نشده، با استفاده از محلول RNX-Plus استخراج گردید. بعد از اطمینان از سالم بودن RNA، با استفاده از کیت فرمتاز از RNA استخراج شده complementary DNA (cDNA) تهیه شد. میزان بیان با استفاده از Master mix سایبر گرین بررسی گردید. پرایمرهای اختصاصی هر ژن به کمک نرم‌افزار Allele ID7.6 طراحی گردید و در نهایت، در پایگاه National Center for Biotechnology Information (NCBI) پرایمر بلاست صورت گرفت (جدول ۱). برای تأیید نهایی محصولات PCR از روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز استفاده شد و از صحت قطعه‌ی تکثیر شده اطمینان نسبی حاصل شد. زمان و دماهای واکنش Real-time PCR به صورت دنانوراسیون (Denaturation) اولیه ۳۰ ثانیه در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و سپس، ۴۰ چرخه‌ی دنانوراسیون به مدت ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، اتصال ۳۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و طولی‌سازی ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام گرفت. طبیعی‌سازی داده‌ها با استفاده از ژن رفرنس 18S ribosomal RNA (18srRNA) انجام شد.

عامل مغذی در بافت آسیب دیده می‌باشد. از این رو، پیش تیمار MSCs با برخی عوامل، می‌تواند بقا و اثربخشی این سلول‌ها در درمان را افزایش دهد (۳-۵). زمانی که سلول‌های بنیادی به داخل بدن انسان و یا حیوان تزریق می‌گردند، به سمت بافت آسیب دیده و ملتهب حرکت می‌کنند. در این جهت‌یابی و حرکت، عوامل متعددی نقش دارند که عبارت از کموکاین‌ها، مولکول‌های چسبندگی، ماتریکس متالوپروتئینازها (Matrix metalloproteinases-2 یا MMP-2) و عوامل مؤثر در رگ‌زایی می‌باشند (۶-۷).

سلول‌های بنیادی آنزیم‌هایی را ترشح می‌نمایند که برای مهاجرت و رسیدن این سلول‌ها به بافت هدف ضروری می‌باشند که از این دسته، می‌توان به خانواده‌ی MMPs اشاره نمود. این پروتئازها، موجب تجزیه‌ی ماتریکس خارج سلولی می‌شوند و مهاجرت سلول‌ها از بین ماتریکس خارج سلولی را تسهیل می‌کنند. از طرف دیگر، MMP-2 و MMP-9 با تخریب ژلاتین و کلاژن موجود در غشای پایه‌ی عروق و بافت بینابینی، نقش مهمی در فرایند رگ‌زایی دارند (۸).

سلول‌های بنیادی، همچنین از طریق ترشح Vascular endothelial growth factor (VEGF) و آنژیوپوتین رگ‌زایی در بافت هدف را افزایش می‌دهند. VEGF، یک تنظیم‌کننده‌ی کلیدی رگ‌زایی فیزیولوژیک می‌باشد (۹). مکانیسم عمل آنژیوپوتین ۲ و ۴ (Angiotensin 2/4 یا Ang-2/4) وابسته به حضور VEGF می‌باشد. در حضور VEGF، این دو آنژیوپوتین از طرفی باعث پایداری عروق موجود می‌شوند و از طرف دیگر، موجب حساسیت این عروق به عوامل رگ‌زایی می‌گردند (۱۰).

آدیپوران، یک ریز مولکول صنعتی آگونیست گیرنده‌های آدیپونکتین می‌باشد. آدیپوران با تمایل بالایی به هر دو گیرنده‌ی آدیپونکتین (Adiponectin receptor 1 یا Adipo-R1 و Adipo-R2) متصل می‌شود (۱۱).

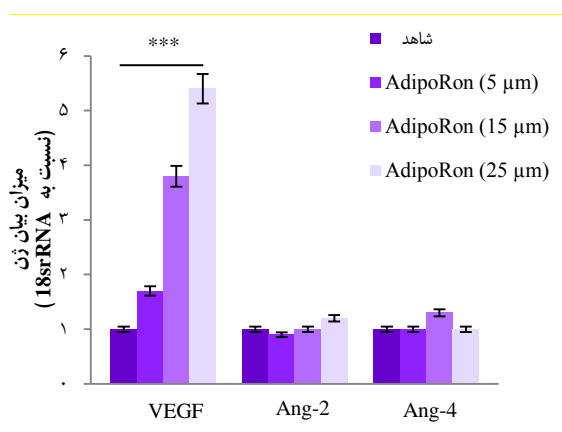
Adipo-R1 و Adipo-R2، هفت دومین ترانس‌ممبران دارند که قسمت N-ترمینال آن‌ها در داخل سلول و ناحیه‌ی C-ترمینال در خارج از سلول قرار گرفته است. ساختار و عملکرد این دو گیرنده، به طور کامل متفاوت از گیرنده‌های جفت شونده با پروتئین G (G protein-coupled receptors یا GPCR) می‌باشند. اتصال آدیپونکتین به این دو گیرنده، موجب فعال شدن پروتئین کیناز وابسته به AMP (AMP-activated protein kinase یا AMPK)، گیرنده‌های فعال‌کننده‌ی تکثیر پروکسیزوم‌ها (Peroxisome proliferator-activated receptor یا PPARα) و اکسیداسیون اسیدهای چرب و برداشت گلوکز می‌شود (۱۲).

هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر آدیپوران بر فعالیت آنزیمی کاسپاز ۳، MMP-2، MMP-9 و آنژیوژن‌زدر سلول‌های بنیادی در

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در واکنش (Real-time PCR) Real-time polymerase chain reaction

اندازه‌ی محصول	کد دسترسی (Accession number)	رشته‌ی پادرمز (Antisense strand)	رشته‌ی رمز (Sense strand)	ژن
102bp	NM_134454	CCGTATAGTAATAGTGTCCAGCCATT	CAGTTCGTTCCGTCCTGTG	Ang-2
150bp	NM_001106526	GCAGTTATCATTGTCCAT	TCCATCCAGTATGAGAAC	Ang-4
107bp	NM_001287107	GCAGAGCTGAGTGTAGCAA	GTGTGTGTGTGTATGAAATCTGTG	VEGF
151bp	NR-046237	CCATCCAATCGGTAGTAGCG	GTAACCCGTTGAACCCCAT	18srRNA

ملاحظه‌ای نسبت به گروه شاهد افزایش داشت؛ در حالی که آدیپوران بر بیان ژن‌های Ang-2 و Ang-4 تأثیری نداشت (شکل ۱).



شکل ۱. اندازه‌گیری بیان Messenger RNA (mRNA) مربوط به ژن‌های Vascular endothelial growth factor (VEGF)، آنژیوپوئین-۲ و -۴ (Ang-2 و Ang-4) با استفاده از Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR)

تیمار Mesenchymal stem cells (MSCs) به مدت ۲۴ ساعت با غلظت‌های مختلف آدیپوران تأثیری بر بیان ژن‌های Ang-2 و Ang-4 نداشت. $P < 0.001$ در مقایسه با گروه شاهد ($n = 2$).

تأثیر آدیپوران بر فعالیت آنزیم‌های MMP-2 و MMP-9

بررسی دانسیتومتریک مربوط به نواحی هیدرولیز شده، افزایش قابل ملاحظه‌ای در فعالیت زایموگرافیک MMP-2/9 در MSCs تیمار شده با آدیپوران در مقایسه با گروه شاهد نشان داد (شکل ۲).

تأثیر آدیپوران بر فعالیت کاسپاز ۳: تیمار MSCs با غلظت‌های ۱۵ و ۲۵ میکرومولار آدیپوران، میزان فعالیت کاسپاز ۳ را نسبت به گروه شاهد کاهش می‌دهد (شکل ۳).

بحث

پیش درمان‌های دارویی، یک روش مفید و کارآمد برای بهبود عملکرد بافت و سلول‌ها به ویژه سلول‌های بنیادی می‌باشد. سلول‌های پیش‌یمار شده، بقای بهتر، تأثیر پاراکرینی کارآمدتر، تمایز و مهاجرت بیشتری از خود بروز می‌دهند (۵).

در انتها، از روش Relative quantification برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. میزان بیان ژن‌ها در گروه‌های مورد مطالعه به صورت Fold change و از رابطه $2^{-\Delta\Delta CT}$ به دست آمد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های MMP-2 و MMP-9 به وسیله‌ی زایموگرافی: پس از تیمار سلول‌ها با آدیپوران، محلول رویی سلول‌ها جمع‌آوری گردید. مقادیر مساوی از پروتئین‌ها بر روی ژل پلی‌اکریلامید ۱۰ درصد حاوی ۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر ژلاتین Load گردید و به مدت ۳-۲ ساعت با ولتاژ ۱۲۰ ولت Run شد. سپس، ژل به مدت ۲ ساعت در بافر تریتون ۱۰۰-X ۲/۵ درصد Renature گردید و سپس، به مدت ۷۲ ساعت در داخل بافر زایموگرافی قرار گرفت. در مرحله‌ی آخر، ژل با استفاده از Coomassie Blue رنگ‌آمیزی و سپس، رنگ‌بری شد. تراکم باندها با استفاده از نرم‌افزار NIH Image J تحلیل گردید.

بررسی فعالیت کاسپاز ۳: جهت بررسی فعالیت کاسپاز ۳ از کیت شرکت Abcam استفاده گردید. سلول‌های لیز شده با بافر واکنش ۲X حاوی Dithiothreitol (DTT) ۱۰ میلی‌مولار و ۵ میکرولیتر از سوبسترای ۴ میلی‌مولار کاسپاز ۳، به مدت ۲-۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. جذب نوری Peptide nucleic acid (pNA) در طول موج ۴۰۰ نانومتر خوانده شد.

اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد بررسی قرار گرفت. متغیرهای کمی به صورت میانگین \pm انحراف میانگین بیان شده‌اند. کلیه‌ی تفاوت‌ها بین دو گروه با استفاده از آزمون‌های t و One-way ANOVA و با در نظر گرفتن $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری مورد مقایسه قرار گرفتند.

واکوی آساری: اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶

بررسی نشانگرهای سطحی MSCs: نشانگرهای سطحی MSCs به وسیله‌ی فلوسایتومتری بررسی گردید. نتایج نشان دادند که CD44، CD73 و CD90 بر سطح MSCs بیان شدند، اما این سلول‌ها قادر به بیان CD34 و CD45 نبودند.

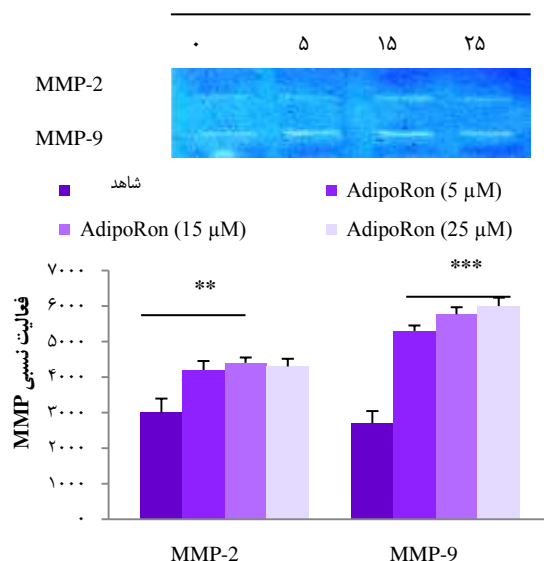
یافته‌ها

تأثیر آدیپوران بر بیان ژن‌های VEGF، Ang-2 و Ang-4: بیان ژن VEGF در سلول‌های تیمار شده با آدیپوران، به طور قابل

از این رو، در مطالعه‌ی فعلی به منظور ارزیابی اطلاعات بیشتر در تقویت یافته‌های مطالعه‌ی پیش‌گفته، ابتدا MSCs با دزهای متفاوت آدیپوران تیمار شدند و بعد از گذشت ۲۴ ساعت، میزان بیان عوامل آنژیوژنیک (VEGF، Ang-4 و Ang-2) و فعالیت آنزیم‌های ژلاتیناز (MMP-2 و MMP-9) بررسی گردید. همچنین، در این مطالعه فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ مورد بررسی قرار گرفت.

در این مطالعه، آدیپوران فعالیت MMP-2 و MMP-9 را افزایش داد. افزایش فعالیت پروتئولیتیکی آنزیم‌هایی مانند MMP-2 و MMP-9 برای مهاجرت و لانه‌گزینی سلول ضروری می‌باشد؛ چرا که این آنزیم‌ها از طریق تجزیه‌ی ماتریکس خارج سلولی موجب تسهیل عبور سلول‌ها از ماتریکس و رسیدن آن‌ها به بافت هدف می‌گردند. یافته‌های اخیر، نشان داد که HIF-1 α مهاجرت یافته‌های BM-MSCs (Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells) را از طریق فعالیت افزایش یافته‌ی MMP، به خصوص MMP-2 تنظیم می‌کند (۱۴-۱۵). علاوه بر این، نشان داده شد که آدیپونکتین می‌تواند مهاجرت سلولی را از طریق فعال‌سازی محور سیگنالینگ APPL1-AMPK افزایش دهد که تا حدودی به APPL1-AMPK و Membrane type 1 metalloprotease (MT1-MMP) و Globular adiponectin (gAd) وابسته است (۱۶). آدیپونکتین کروی (gAd یا Globular adiponectin) به طور قابل توجهی سبب افزایش فعالیت MMP-2 و MMP-9 در سلول‌های Human microvascular endothelial cell (HMEC-1) (سلول‌های اندوتلیال مویرگی انسان) می‌گردد. این اثرات gAd از طریق پیش تیمار سلول‌های HMEC-1 با آنتی‌بادی AdipoR1 یا AdipoR2 مهار شد (۱۷). ترانسفکشن (Transfection) با آدیپونکتین، سطح بیان MMP-1، 2، 9 و 14 را در سلول‌های A549 (سلول سرطان ریه‌ی انسانی) افزایش می‌دهد (۱۸).

بررسی مکانیسم‌های درگیر در رگ‌زایی، نشان داد که آدیپوران باعث افزایش بیان ژن VEGF می‌شود، اما Ang-2 و Ang-4 افزایش معنی‌داری را در MSCs تیمار شده در مقایسه با گروه شاهد نشان ندادند. رگ‌زایی نقش مهمی را در رخداد‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک بر عهده دارد. VEGF به عنوان کلید اصلی رگ‌زایی، می‌تواند باعث تکثیر، تمایز و مهاجرت سلولی گردد. gAd به طور چشم‌گیری میزان بیان VEGF mRNA را در سلول‌های HMEC-1 افزایش داد. همچنین، رگ‌زایی اندوتلیال القا شده توسط gAd شامل مسیر AMPK نیز می‌باشد (۱۷). در مطالعه‌ی Lee و همکاران، آدیپونکتین بیان VEGF-A را از طریق مکانیسم‌های متعدد در سلول‌های کاندرو سارکوما‌ی انسانی افزایش می‌دهد (۱۹). آدیپونکتین، سبب تحریک تمایز Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) به ساختارهای مویرگ مانند در شرایط آزمایشگاهی می‌شود

آدیپوران (μM)

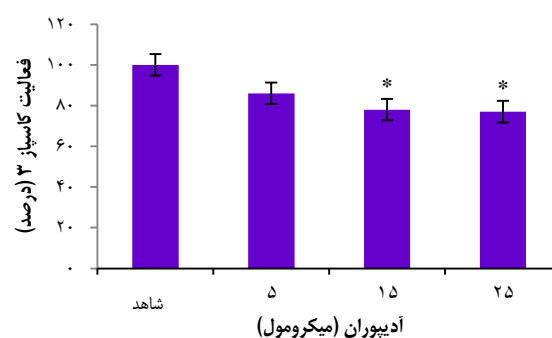
شکل ۲. بررسی فعالیت Matrix metalloproteinases-2 (MMP-2) و

MMP-9 به روش زایموگرافی

تیمار Mesenchymal stem cells (MSCs) با غلظت‌های مختلف آدیپوران منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت پروتئولیتیکی MMP-2/9 در غلظت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میکرومولار در مقایسه با گروه شاهد گردید.

$P < 0.01$ ، $P < 0.001$ در مقایسه با گروه شاهد

مطالعه‌ی قبلی پژوهشگران نشان داد که پیش تیمار MSCs با آدیپوران با واسطه‌ی القای (COX-2) Cyclooxygenase-2، Hypoxia-inducible factor 1- (HIF-1 α) alpha و تثبیت (PGE2) Prostaglandin E2 موجب افزایش بقا، تکثیر و مهاجرت MSCs می‌گردد (۱۳).



شکل ۳. اندازه‌گیری فعالیت کاسپاز ۳ در Mesenchymal stem cells

(MSCs) تیمار شده با آدیپوران

آدیپوران در غلظت‌های ۱۵ و ۲۵ میکرومول فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ را در سلول کاهش داد. غلظت ۵ میکرومول از آدیپوران، تأثیری بر فعالیت کاسپاز ۳ نداشت.

$P < 0.05$ در مقایسه با گروه شاهد ($n = 3$).

تحریک آدیپونکتین، آپوتوز سلول‌های اندوتلیال را از طریق یک مکانیسم وابسته به AMPK مهار می‌کند (۲۴). به تازگی، نشان داده شده است که آدیپوران آپوتوز پس از ایسکمی میوکارد را از طریق هر دو مسیر وابسته به AMPK و مستقل AMPK کاهش می‌دهد و مانع از فعال‌سازی کاسپاز ۳ در سلول‌های قلبی می‌شود که همسو با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌باشد (۲۵).

نتیجه‌گیری نهایی این که تیمار سلول‌های بنیادی با آدیپوران منجر به افزایش بیان VEGF، افزایش فعالیت هیدرولیتیکی آنزیم‌های ماتریکس متالوپروتینازهای MMP-2 و MMP-9 و کاهش فعالیت کاسپاز ۳ می‌گردد. بنابراین، انجام مطالعات تکمیلی به منظور بررسی اثر آدیپوران بر مهاجرت و رگ‌زایی سلول‌های بنیادی در شرایط *In vivo* توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان با شماره‌ی ۹۳۰۹۱۸۴۵۳۵ استخراج شده است. بدین وسیله از تمامی افرادی که در اجرای این مطالعه همکاری داشتند، سپاسگزاری می‌گردد.

و به عنوان یک جاذب شیمیایی در مهاجرت عمل می‌کند (۲۰). آنژیوپویتین‌ها، لیگاند گیرنده‌ی تیروزین کیناز Tie2 می‌باشند و تأثیر Ang-2 در آنژیوژنز به حضور VEGF بستگی دارد (۲۱). در حضور Ang-2، VEGF قادر به حفظ رگ‌های موجود و واکنش‌پذیرتر کردن آن‌ها به محرک‌های آنژیوژنیک می‌شود. Ang-4، مهاجرت و رگ‌زایی سلول‌های اندوتلیال را تحریک می‌کند (۱۰).

در حضور VEGF، Ang-2 عروق موجود را ناپایدار می‌کند و در نتیجه، باعث می‌شود تا بیشتر به محرک‌های رگ‌زایی پاسخگو باشد و در واقع، در ارتباط با نورگ‌زایی است که با افزایش طول رگ مشخص می‌شود. بنابراین، هنگامی که با VEGF همراه شوند، هر دو Ang-1 و Ang-2 قادر به افزایش رگ‌زایی هستند (۲۲). Ang-4، مشابه با Ang-1، به عنوان آگونیست به Tie-2 متصل می‌شود (۴). Ang-4 مهاجرت سلول‌های اندوتلیال و Tube formation را تحریک می‌کند (۲۳).

بر اساس مطالعه‌ی قبلی، آدیپوران تکثیر MSCs را افزایش داد. در مطالعه‌ی حاضر، آدیپوران موجب کاهش چشم‌گیر فعالیت کاسپاز ۳ در MSCs گردید. فعال‌سازی کاسپاز ۳، به عنوان یک نشانگر مشترک آپوتوز شناخته شده است. آدیپونکتین فیبروبلاست قلبی را از طریق یک مکانیسم وابسته به AMPK از آپوتوز محافظت می‌کند.

References

1. Pourjafar M, Saidijam M, Mansouri K, Ghasemibasir H, Karimi DF, Najafi R. All-trans retinoic acid preconditioning enhances proliferation, angiogenesis and migration of mesenchymal stem cell in vitro and enhances wound repair in vivo. *Cell Prolif* 2017; 50(1).
2. Najafi R, Sharifi AM. Deferoxamine preconditioning potentiates mesenchymal stem cell homing in vitro and in streptozotocin-diabetic rats. *Expert Opin Biol Ther* 2013; 13(7): 959-72.
3. Esfahani M, Karimi F, Afshar S, Niknazar S, Sohrabi S, Najafi R. Prolyl hydroxylase inhibitors act as agents to enhance the efficiency of cell therapy. *Expert Opin Biol Ther* 2015; 15(12): 1739-55.
4. Herberts CA, Kwa MS, Hermesen HP. Risk factors in the development of stem cell therapy. *J Transl Med* 2011; 9: 29.
5. Srijaya TC, Ramasamy TS, Kasim NH. Advancing stem cell therapy from bench to bedside: lessons from drug therapies. *J Transl Med* 2014; 12: 243.
6. Ren G, Chen X, Dong F, Li W, Ren X, Zhang Y, et al. Concise review: Mesenchymal stem cells and translational medicine: emerging issues. *Stem Cells Transl Med* 2012; 1(1): 51-8.
7. Bruno S, Collino F, Tetta C, Camussi G. Dissecting paracrine effectors for mesenchymal stem cells. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2013; 129: 137-52.
8. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2005; 9(2): 267-85.
9. Leeper NJ, Hunter AL, Cooke JP. Stem cell therapy for vascular regeneration: adult, embryonic, and induced pluripotent stem cells. *Circulation* 2010; 122(5): 517-26.
10. Yamakawa M, Liu LX, Belanger AJ, Date T, Kuriyama T, Goldberg MA, et al. Expression of angiopoietins in renal epithelial and clear cell carcinoma cells: regulation by hypoxia and participation in angiogenesis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 287(4): F649-F657.
11. Okada-Iwabu M, Yamauchi T, Iwabu M, Honma T, Hamagami K, Matsuda K, et al. A small-molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity. *Nature* 2013; 503(7477): 493-9.
12. Guillod-Maximin E, Roy AF, Vacher CM, Aubourg A, Bailleux V, Lorisignol A, et al. Adiponectin receptors are expressed in hypothalamus and colocalized with proopiomelanocortin and neuropeptide Y in rodent arcuate neurons. *J Endocrinol* 2009; 200(1): 93-105.
13. Malih S, Saidijam M, Mansouri K, Pourjafar M, Tafakh MS, Talebzadeh F, et al. Promigratory and proangiogenic effects of AdipoRon on bone marrow-derived mesenchymal stem cells: An in vitro study. *Biotechnol Lett* 2017; 39(1): 39-44.
14. Wislet-Gendebien S, Laudet E, Neirinckx V, Rogister B. Adult bone marrow: which stem cells for cellular therapy protocols in neurodegenerative disorders? *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 601560.

15. Barry FP, Murphy JM. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36(4): 568-84.
16. Dadson K, Chasiotis H, Wannaiampikul S, Tungtrongchitr R, Xu A, Sweeney G. Adiponectin mediated APPL1-AMPK signaling induces cell migration, MMP activation, and collagen remodeling in cardiac fibroblasts. *J Cell Biochem* 2014; 115(4): 785-93.
17. Adya R, Tan BK, Chen J, Randeve HS. Protective actions of globular and full-length adiponectin on human endothelial cells: Novel insights into adiponectin-induced angiogenesis. *J Vasc Res* 2012; 49(6): 534-43.
18. Tsai JR, Liu PL, Chen YH, Chou SH, Cheng YJ, Hwang JJ, et al. Curcumin Inhibits Non-Small Cell Lung Cancer Cells Metastasis through the Adiponectin/NF-kappab/MMPs Signaling Pathway. *PLoS One* 2015; 10(12): e0144462.
19. Lee HP, Lin CY, Shih JS, Fong YC, Wang SW, Li TM, et al. Adiponectin promotes VEGF-A-dependent angiogenesis in human chondrosarcoma through PI3K, Akt, mTOR, and HIF-alpha pathway. *Oncotarget* 2015; 6(34): 36746-61.
20. Ouchi N, Kobayashi H, Kihara S, Kumada M, Sato K, Inoue T, et al. Adiponectin stimulates angiogenesis by promoting cross-talk between AMP-activated protein kinase and Akt signaling in endothelial cells. *J Biol Chem* 2004; 279(2): 1304-9.
21. Jones N, Iljin K, Dumont DJ, Alitalo K. Tie receptors: new modulators of angiogenic and lymphangiogenic responses. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2(4): 257-67.
22. Marina Garcia J, Goldenthal MJ, Moe GW. Aging and the heart: A post-genomic view. New York, NY: Springer; 2007.
23. Karp JM, Leng Teo GS. Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details. *Cell Stem Cell* 2009; 4(3): 206-16.
24. Shibata R, Sato K, Pimentel DR, Takemura Y, Kihara S, Ohashi K, et al. Adiponectin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through AMPK- and COX-2-dependent mechanisms. *Nat Med* 2005; 11(10): 1096-103.
25. Zhang Y, Zhao J, Li R, Lau WB, Yuan YX, Liang B, et al. AdipoRon, the first orally active adiponectin receptor activator, attenuates postischemic myocardial apoptosis through both AMPK-mediated and AMPK-independent signalings. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2015; 309(3): E275-E282.

The Effect of AdipoRon on the Activity of Caspase 3, Matrix Metalloproteinases 2 and 9, and Angiogenesis in Rat Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell

Sara Malih¹, Massoud Saidijam², Sara Soleimaniasl³, Rezvan Najafi⁴

Original Article

Abstract

Background: Today, the use of mesenchymal stem cells (MSCs) is an appropriate option for the treatment of many diseases. But, poor viability, and low number of transplanted stem cells are the main obstacles in cell therapy. Recently, stem cell preconditioning with chemical and pharmacological agents has been shown to increase therapeutic efficacy. Herein, we investigated the effect of AdipoRon, adiponectin receptor agonist, on activity of caspase 3, matrix metalloproteinases 2 and 9 (MMP-2 and MMP-9), and angiogenesis in rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells.

Methods: Mesenchymal stem cells were treated with different concentrations of AdipoRon for 24 hours. The expression level of vascular endothelial growth factor (VEGF), and angiopoietin 2 and 4 (Ang-2 and Ang-4) were assessed using real-time polymerase chain reaction (real-time PCR). Gelatin zymography assay was applied to investigate the protease activity of matrix metalloproteinase 2 and 9. Measurement of caspase-3 activity was carried out via an enzymatic assay.

Findings: The real-time polymerase chain reaction results indicated that the expression of vascular endothelial growth factor was higher in AdipoRon-treated mesenchymal stem cells compared to control groups when angiopoietin 2 and 4 did not show any significant change. The enzymatic activity of metalloproteinase 2 and 9 was increased in treated samples with AdipoRon compared to control group. The caspase-3 activity was attenuated in AdipoRon-pretreated cells compared to the control group.

Conclusion: Based on these results, it is likely that preconditioning of mesenchymal stem cells with AdipoRon prior to transplantation can enhance the viability and migration via overexpression of vascular endothelial growth factor, activation of metalloproteinase 2 and 9 enzymes, and inhibit the activation of caspase-3.

Keywords: AdipoRon, Mesenchymal stem cell, Caspase 3, Matrix metalloproteinases 2, 9, Vascular endothelial growth factor

Citation: Malih S, Saidijam M, Soleimaniasl S, Najafi R. **The Effect of AdipoRon on the Activity of Caspase 3, Matrix Metalloproteinases 2 and 9, and Angiogenesis in Rat Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(465): 1-7.

1- MSc Student, Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

2- Professor, Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

3- Associate Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

4- Assistant Professor, Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Corresponding Author: Rezvan Najafi, Email: najafi2535@gmail.com

بررسی معیارهای ارزش تشخیصی لاکتوفرین ادرار در تشخیص عفونت ادراری کودکان

علیرضا مریخی^۱، زهرا پارساپور^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: عفونت ادراری، بیماری شایعی به ویژه در کودکان است و تشخیص آن از طریق کشت ادرار صورت می‌گیرد. این مطالعه، با هدف بررسی ارزش تشخیصی لاکتوفرین در تشخیص عفونت‌های ادراری به انجام رسید.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی، ۴۵ کودک با عفونت ادراری (کشت مثبت) و ۴۵ کودک بدون عفونت ادراری (کشت منفی) از نظر سطح ادراری لاکتوفرین ادراری مورد بررسی قرار گرفتند و نقطه‌ی برش و معیارهای ارزش تشخیصی لاکتوفرین بر مبنای نتیجه‌ی کشت ادرار تعیین گردید.

یافته‌ها: نقطه‌ی برش سطح لاکتوفرین، ۴۰۰ نانوگرم/دسی‌لیتر به دست آمد و بر اساس آن، این روش دارای حساسیت ۲۰ درصد، ویژگی ۹۳ درصد، ارزش اخباری مثبت ۷۵ درصد و ارزش اخباری منفی ۵۳ درصد بود.

نتیجه‌گیری: لاکتوفرین به دلیل ویژگی بالا، می‌تواند از انجام روش‌های تشخیصی بیشتر برای افراد با نتیجه‌ی آزمایش منفی پیش‌گیری کند. به دلیل ارزش اخباری مثبت به نسبت بالا، در موارد بالینی، تصمیم‌گیری در مورد شروع درمان افراد با آزمایش مثبت را تسهیل می‌کند. در نهایت، به منظور پیش‌گیری از تأخیر در شروع درمان که منجر به عارضه‌ی غیر قابل برگشت به کلیه و سیستم ادراری می‌شود، لاکتوفرین می‌تواند آزمایش مناسبی باشد.

واژگان کلیدی: عفونت ادراری، لاکتوفرین، حساسیت و ویژگی

ارجاع: مریخی علیرضا، پارساپور زهرا. بررسی معیارهای ارزش تشخیصی لاکتوفرین ادرار در تشخیص عفونت ادراری کودکان. مجله دانشکده

پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۵): ۸-۱۳

بتواند تشخیص عفونت ادراری را رد یا تأیید کند، از تأخیر درمان یا درمان بی‌مورد جلوگیری می‌کند (۱۴).

لاکتوفرین، گلیکوپروتئینی است که با دو یون آهن و دو ملکول بی‌کربنات همراه است (۱۱). لاکتوفرین، علاوه بر شیر مادر، در بافت‌ها و ترشحات مختلفی نظیر سرم، اشک، بزاق، صفرا، مایع منی، مایع واژینال و گرانول‌های ثانویه‌ی نوتروفیل‌ها نیز دیده می‌شود (۱۵)؛ البته بیشترین غلظت آن در شیر است که توسط نوتروفیل‌ها و سلول‌های اپی‌تلیال ساخته و به داخل شیر ترشح می‌شود (۱۶-۱۷).

مطالعات نشان داده است اندازه‌گیری لاکتوفرین در نمونه‌های ادراری، یک شاخص سریع و ساده در تشخیص عفونت‌های ادراری است و انجام این آزمایش در مدت زمان کوتاهی قابل انجام است و در صورتی که نتایج قابل قبولی به دست دهد، می‌توان از آن به عنوان یک ابزار سودمند در تشخیص‌های سریع

مقدمه

عفونت‌های ادراری، یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها در کودکان محسوب می‌شود؛ به طوری که حداقل ۸ درصد دختران و ۲ درصد پسران در طول دوران کودکی به عفونت‌های ادراری مبتلا می‌شوند و خطر آن در ماه اول زندگی از بقیه‌ی سنین بالاتر است (۸-۱). برای تشخیص عفونت ادراری، روزانه نمونه‌های زیاد ادرار در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی مورد آزمایش قرار می‌گیرد و با این وجود، بیشتر نمونه‌ها منفی هستند (۳).

روش‌های غربالگری زیادی برای تشخیص عفونت ادراری وجود دارند، از جمله آنالیز بیوشیمیایی ادرار از نظر نیتريت و گلبول‌های سفید، آزمایش میکروسکوپی ادرار، کشت ادرار و نشانگرهای التهابی که برای تشخیص عفونت به کار می‌روند (۹-۱۳)، اما فرایند انجام این روش‌ها، به طور معمول طولانی است و روش سریعی که

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

۲- دستیار، گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤو: زهرا پارساپور

لاکتوفرین در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد فریز (Freez) شد. نمونه بر اساس جواب کشت به دو گروه دارای عفونت ادراری و گروه فاقد عفونت ادراری تقسیم شد. تعداد بیش از 10^5 میکروارگانیسم در روش Mid-stream، بیش از 10^3 میکروارگانیسم در روش کاتریزاسیون و وجود یک میکروارگانیسم در روش سوپراپوبیک، کشت مثبت تلقی می‌شد (۲۱).

نمونه‌های ادراری قبل از اندازه‌گیری سطح لاکتوفرین به دمای اتاق رسانده شدند و سطح لاکتوفرین به روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) اندازه‌گیری شد. به منظور جلوگیری از خطای اندازه‌گیری ناشی از غلظت لاکتوفرین ادرار در کودکان مختلف، سطح کراتینین (Creatinine) یا Cr (ادراری نیز اندازه‌گیری شد و از نسبت Lactoferrin/Cr جهت مقایسه استفاده گردید.

اندازه‌گیری لاکتوفرین با استفاده از کیت ELISA (Glory Science Co., Ltd, China) (LF) Human Lactoferrin و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد (۲۱).

داده‌های مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۴ (version 24, IBM Corporation, Armonk, NY) و آزمون‌های آماری t و χ^2 و آنالیز ROC (receiver operating characteristic) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای به دست آوردن نقطه‌ی برش، کلیه‌ی مقادیر مربوط به متغیر کمی مورد آزمون قرار گرفت و نقطه‌ای که بالاترین مقدار حساسیت و ویژگی را داشت، به عنوان نقطه‌ی برش در نظر گرفته شد. همچنین، حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی و نسبت درست‌نمایی مثبت و منفی با استفاده از نرم‌افزار Medcalc محاسبه شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۹۰ نمونه بررسی شدند که از این تعداد، ۵۲ نمونه (۵۷/۱ درصد) مربوط به دختران و سایر نمونه‌ها مربوط به پسران بودند. میانگین و انحراف معیار سن نمونه‌ها $3/2 \pm 3/5$ سال بود. میانگین و انحراف معیار لاکتوفرین در دو گروه مورد و شاهد به ترتیب 126 ± 352 و 75 ± 263 نانوگرم/میلی‌لیتر بود که تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/001$). ویژگی‌های دموگرافیک نمونه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است. بر حسب این جدول، توزیع عوامل دموگرافیک در دو گروه مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشت.

شایع‌ترین میکروارگانیسم کشت شده در بیماران با عفونت ادراری، به ترتیب Escherichia coli (۶۲/۲ درصد)، Klebsiella (۲۲/۲ درصد) و Enterobacter (۱۵/۶ درصد) بود.

Urinary tract infections (UTI) استفاده نمود (۲۰-۱۸). از طرف دیگر، مطالعه‌ی بومی به منظور تعیین ارزش تشخیصی لاکتوفرین در تشخیص عفونت ادراری کودکان انجام نشده است. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین ارزش تشخیصی لاکتوفرین در تشخیص عفونت ادراری در کودکان به انجام رسید.

روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی برای ارزیابی روش‌های تشخیصی بود که در سال‌های ۹۱-۱۳۹۰ بر روی دو گروه از کودکان مبتلا به عفونت ادراری و کودکان بدون عفونت ادراری در بیمارستان الزهرا (س) و امام حسین (ع) اصفهان انجام شد.

معیارهای ورود به مطالعه برای گروه مورد شامل کودکان مبتلا به عفونت ادراری بر اساس نتایج کشت ادرار- با دامنه‌ی سنی یک ماه تا ۱۵ سال، عدم ابتلا به سایر بیماری‌های عفونی و عدم دریافت آنتی‌بیوتیک بودند. معیارهای ورود گروه شاهد نیز عدم ابتلا به هر نوع عفونت اعم از عفونت ادراری و سایر عفونت‌ها بود. همچنین، ابتلا به عفونت دیگری به غیر از فونت ادراری در خلال مطالعه و عدم امکان اندازه‌گیری سطح لاکتوفرین به علل مختلف، به عنوان معیارهای خروج از مطالعه در نظر گرفته شد.

این گروه برای ورود به مطالعه از نظر سنی با پراکنندگی و انحراف معیار و به صورت گروهی همسان‌سازی شدند. بیمارانی که در روزهای گذشته آنتی‌بیوتیک دریافت کرده بودند، وارد مطالعه نشدند. بیمارانی که به دلایل مختلف دسترسی به اطلاعات آن‌ها مقدور نبود یا در صورت انصراف والدین از ادامه‌ی مطالعه، از مطالعه حذف می‌شدند.

نمونه‌گیری به روش غیر احتمالی آسان انجام شد. حجم نمونه با استفاده از فرمول مقایسه‌ی دو میانگین و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، توان آزمون ۸۰ درصد، انحراف معیار سطح لاکتوفرین که حدود ۱۳۵ برآورد شد (۷) و حداقل تفاوت معنی‌دار بین دو گروه مورد و شاهد که معادل ۰/۸ در نظر گرفته شد، به تعداد ۴۵ نفر در هر گروه تعیین شد.

روش کار بدین صورت بود که بعد از انجام هماهنگی‌های لازم، برای مراجعینی که با علائم ادراری و یا علائم غیر اختصاصی نظیر تب، بی‌اشتهایی، عدم وزن‌گیری مناسب، استفراغ و غیره مراجعه می‌کردند و در معاینه‌ی اولیه بیماری عفونی خاص دیگری به جز احتمال عفونت ادراری نداشتند، کشت ادرار به عمل آمد. کشت ادرار بر اساس سن و وضعیت کودک به روش سوپراپوبیک، کاتریزاسیون یا Mid-stream انجام شد. در این مرحله، از نمونه‌ای از ادرار ساتریفیوژ نشده جهت کشت برداشته شد و بقیه جهت تعیین سطح

جدول ۱. ویژگی‌های دموگرافیک نمونه‌های مورد مطالعه

مقدار P	گروه شاهد	گروه مورد	گروه
۰/۰۶۰	۲۲ (۴۸/۹)	۳۰ (۶۶/۷)	جنس
	۲۳ (۵۱/۱)	۱۵ (۳۳/۳)	[تعداد (درصد)]
۰/۴۰۰	۴/۱ ± ۳/۲	۳/۳ ± ۳/۲	سن (سال) (میانگین ± انحراف معیار)
۰/۹۰۰	۱۶/۵ ± ۱۳/۸	۱۴/۰۶ ± ۸/۳	وزن (کیلوگرم) (میانگین ± انحراف معیار)
۰/۳۰۰	۸۹ ± ۲۳	۸۹ ± ۲۵	قد (سانتی‌متر) (میانگین ± انحراف معیار)

بحث

هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی ارزش تشخیصی لاکتوفرین در تشخیص عفونت‌های ادراری بود. به همین منظور، می‌بایست نقطه‌ی برشی برای لاکتوفرین تعیین می‌شد. در مطالعه‌ی حاضر، این نقطه‌ی برش برای جداسازی موارد مثبت و منفی به دست آمد.

نتایج این مطالعه نشان داد که مقدار متوسط لاکتوفرین در گروه مورد به طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود. همچنین، تعیین ارزش تشخیصی لاکتوفرین در غربالگری عفونت‌های ادراری در غربالگری‌های جمعی و موقعیت‌های بالینی بود. مقایسه‌ی ویژگی‌های اولیه‌ی دو گروه نشان داد که توزیع عوامل تأثیرگذار در نتیجه‌ی مطالعه یکسان بود و عامل مخدوشگری وجود نداشت.

در این مطالعه، ۴۰۰ نانوگرم/میلی‌لیتر لاکتوفرین ادرار به عنوان نقطه‌ی برش تعیین گردید و بر حسب آن، لاکتوفرین دارای حساسیت ۲۰ درصد می‌باشد که حساسیت پایینی تلقی می‌شود. ویژگی این آزمایش ۹۳ درصد به دست آمد.

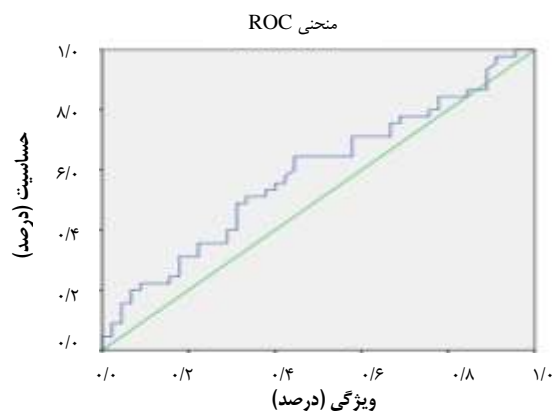
ارزش اخباری مثبت این روش، ۷۵ درصد به دست آمد؛ بدین ترتیب، در اقدامات بالینی، هر فردی که لاکتوفرین بالای ۴۰۰ نانوگرم/میلی‌لیتر دارد، با احتمال ۷۵ درصد، مبتلا به عفونت ادراری است. از این رو، احتمال می‌رود بتوان در شرایط خاص نظیر بدحالی بیمار، درمان را در اسرع وقت شروع کرد و منتظر اقدامات تشخیصی زمان‌بر مانند کشت ادرار جهت شروع درمان نشد و سپس، جهت تأیید تشخیص، کشت ادرار را انجام داد. از طرف دیگر، ارزش اخباری منفی آزمایش لاکتوفرین ادرار ۵۳ درصد به دست آمد. این یافته را می‌توان چنین تفسیر کرد که در افراد با سطح لاکتوفرین کمتر از ۴۰۰ نانوگرم، احتمال عدم عفونت ادراری ۵۳ درصد می‌باشد. در نهایت این که نسبت درست‌نمایی مثبت آزمایش لاکتوفرین برابر ۳ به دست آمد و طبق قواعد آزمایش‌های تشخیصی، نسبت درست‌نمایی مثبت حداقل می‌تواند تشخیص بیماری را ۱۵ درصد بهبود ببخشد. احتمال عفونت در افراد با لاکتوفرین منفی، ۲۳ درصد کمتر از افراد با لاکتوفرین مثبت است.

در ارتباط با معیارهای ارزش تشخیصی لاکتوفرین، مطالعات زیادی در مناطق مختلف جهان انجام شده است؛ به طوری که در

میانگین و انحراف معیار لاکتوفرین به تفکیک نوع میکروارگانیسم تفاوت معنی‌داری نداشت. اگر چه میانگین آن در عفونت با *Klebsiella* و *Escherichia coli* بیشتر از *Enterobacter* بود.

۱۵ نمونه (۱۶/۷ درصد) از کل نمونه‌ها، ضایعات مادرزادی در کلیه داشتند که از این تعداد، ۶۶ درصد کشت مثبت و ۳۳ درصد کشت منفی داشتند. فراوانی عفونت ادراری در افراد دارای آنومالی و گروه بدون عفونت ادراری، تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P > 0/050$). میانگین و انحراف معیار لاکتوفرین در گروه مورد 299 ± 90 و در گروه شاهد 121 ± 320 میکروگرم/دسی‌لیتر بود. از ۴۵ بیمار با کشت مثبت، ۹ نفر (۲۰ درصد) لاکتوفرین بالای ۴۰۰ نانوگرم/دسی‌لیتر داشتند و از بین ۴۵ نفر با کشت منفی، تنها ۳ نفر (۶/۷ درصد) لاکتوفرین بالای ۴۰۰ نانوگرم/دسی‌لیتر داشتند.

شکل ۱، سطح زیر منحنی ROC را برای سطح ادراری لاکتوفرین نشان می‌دهد که بر حسب آن، سطح زیر منحنی برای لاکتوفرین، معادل ۰/۵۶۷ به دست آمد که از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P = 0/050$). با توجه به نقطه‌ی برش نمودار ROC که ۴۰۰ میکروگرم/دسی‌لیتر به دست آمد، لاکتوفرین ادرار دارای حساسیت ۲۰ درصد، ویژگی ۹۳ درصد، ارزش اخباری مثبت ۷۵ درصد، ارزش اخباری منفی ۵۳ درصد، نسبت درست‌نمایی مثبت ۳ و در نهایت، نسبت درست‌نمایی منفی ۰/۸ بود.



شکل ۱. سطح زیر منحنی Receiver operating characteristic (ROC) برای تشخیص عفونت ادراری توسط سطح ادراری لاکتوفرین

مقداری که روش لاتکس می‌تواند شناسایی کند، حدود ۳۱۰ نانوگرم می‌باشد. این روش بر اساس نقطه‌ی برش به دست آمده در مطالعه‌ی حاضر، قابل استفاده می‌باشد (۲۴).

اگر چه در مطالعه‌ی حاضر، لاکتوفرین را به عنوان یک روش غربالگری به نسبت سریع می‌توان پیشنهاد نمود، اما مرور سیستماتیک که توسط Nanda و Juthani-Mehta انجام شده است، به دلیل کم بودن تعداد مطالعات در این زمینه، آن را به عنوان یک روش غربالگری توصیه نمی‌کند (۲۲).

نتیجه‌گیری نهایی این که نقطه‌ی برش تعیین شده در این مطالعه، معیار مناسبی برای غربالگری‌های عمومی در کودکان نیست، اما با توجه به ارزش اخباری به نسبت مناسب در شرایط خاص مانند بدحالی بیمار و یا عدم دسترسی به امکانات تشخیصی، می‌توان برای پیش‌گیری از عوارض عفونت ادراری، درمان بیماران را شروع کرد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر حاصل پایان‌نامه‌ی دکتری تخصصی در رشته‌ی کودکان و نوزادان به شماره‌ی ۳۹۰۵۶۶ است که در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی تصویب و با حمایت‌های این معاونت انجام شده است. از این رو، نویسندگان مقاله از زحمات ایشان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

مطالعه‌ی Arao و همکاران، مناسب‌ترین نقطه‌ی برش لاکتوفرین ۲۰۰ نانوگرم/دسی‌لیتر به دست آمد که در این نقطه‌ی برش، حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی لاکتوفرین به ترتیب ۹۳/۳، ۸۹/۳، ۸۶/۲ و ۹۴/۹ درصد به دست آمده است که این مقادیر، نسبت به مطالعه‌ی حاضر مطلوب‌تر می‌باشد (۱۸). در یک مطالعه‌ی مروری که توسط Nanda و Juthani-Mehta انجام گرفته است، ۲۱ مطالعه در ارتباط با ارزش تشخیصی نشانگرهای مختلف در تشخیص عفونت ادراری بررسی گردید که از بین آن‌ها در ۶ مقاله سطح لاکتوفرین ادرار مورد بررسی قرار گرفته است که در تمامی این مطالعات، سطح ادراری لاکتوفرین در کودکان دارای عفونت ادراری، بالاتر از کودکان بدون عفونت ادراری بوده است. برابر نتایج این مطالعه نیز بهترین نقطه‌ی برش لاکتوفرین برای پیش‌بینی عفونت ادراری ۲۰۰ میکروگرم/دسی‌لیتر بوده و مقدار حساسیت و ویژگی آن در این نقطه‌ی برش به ترتیب ۹۳/۳ و ۸۹/۳ درصد بوده است (۲۲).

در مطالعه‌ی حاضر، هیچ کدام از بیماران با کشت منفی، لاکتوفرین کمتر از ۲۰۰ نداشتند. به همین دلیل، این نقطه‌ی برش در مورد بیماران مطالعه‌ی حاضر، فاقد ارزش تشخیصی لازم می‌باشد. لاکتوفرین به روش‌های مختلف نظیر ELISA و آگلوتیناسیون لاتکس قابل اندازه‌گیری است و در روش ELISA، حتی مقادیر بسیار کم هم قابل شناسایی است، اما از نظر سرعت عمل زمان‌بر است و در موقعیت‌های اورژانسی توصیه نمی‌شود (۲۳). حداقل

References

- Koch VH, Zuccolotto SMC. Urinary tract infection: A search of evidence. *Jornal de Pediatria* 2003; 79: S97-S106.
- Mashouf RY, Babalhavaeji H, Yousef J. Urinary tract infections: Bacteriology and antibiotic resistance patterns. *Indian Pediatr* 2009; 46(7): 617-20.
- Riccabona M. Management of recurrent urinary tract infection and vesicoureteral reflux in children. *Curr Opin Urol* 2000; 10(1): 25-8.
- Shaikh N, Morone NE, Bost JE, Farrell MH. Prevalence of urinary tract infection in childhood: a meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27(4): 302-8.
- Winberg J, Andersen HJ, Bergstrom T, Jacobsson B, Larson H, Lincoln K. Epidemiology of symptomatic urinary tract infection in childhood. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1974; (252): 1-20.
- Askarian M, Mahmoudi H, Assadian O. Incidence of nosocomial infections in a big university affiliated hospital in Shiraz, Iran: A Six-month Experience. *Int J Prev Med* 2013; 4(3): 366-72.
- Ghorashi Z, Ghorashi S, Soltani-Ahari H, Nezami N. Demographic features and antibiotic resistance among children hospitalized for urinary tract infection in northwest Iran. *Infect Drug Resist* 2011; 4: 171-6.
- Nickavar A, Sotoudeh K. Treatment and prophylaxis in pediatric urinary tract infection. *Int J Prev Med* 2011; 2(1): 4-9.
- Gorelick MH, Shaw KN. Screening tests for urinary tract infection in children: A meta-analysis. *Pediatrics* 1999; 104(5): e54.
- Pezlo M. Detection of urinary tract infections by rapid methods. *Clin Microbiol Rev* 1988; 1(3): 268-80.
- Hurlbut TA 3rd, Littenberg B. The diagnostic accuracy of rapid dipstick tests to predict urinary tract infection. *Am J Clin Pathol* 1991; 96(5): 582-8.
- Mohkam M, Karimi A, Karimi H, Sharifian M, Armin S, Dalirani R, et al. Urinary interleukin-8 in acute pyelonephritis of children: a before-after study. *Iran J Kidney Dis* 2008; 2(4): 193-6.
- McGeachie J, Kennedy AC. Simplified quantitative methods for bacteriuria and pyuria. *J Clin Pathol* 1963; 16(1): 32-8.
- Tolkoff-Rubin NE, Weber D, Fang LS, Kelly M, Wilkinson R, Rubin RH. Single-dose therapy with trimethoprim-sulfamethoxazole for urinary tract infection in women. *Rev Infect Dis* 1982; 4(2): 444-8.
- Newburg DS, Peterson JA, Ruiz-Palacios GM, Matson DO, Morrow AL, Shults J, et al. Role of human-milk lactadherin in protection against

- symptomatic rotavirus infection. *Lancet* 1998; 351(9110): 1160-4.
16. Ward PP, Conneely OM. Lactoferrin: role in iron homeostasis and host defense against microbial infection. *Biometals* 2004; 17(3): 203-8.
 17. Donangelo CM, Trugo NM, Mesquita VL, Rosa G, Da-Silva VL. Lactoferrin levels and unsaturated iron-binding capacity in colostrum of Brazilian women of two socioeconomic levels. *Braz J Med Biol Res* 1991; 24(9): 889-93.
 18. Arao S, Matsuura S, Nonomura M, Miki K, Kabasawa K, Nakanishi H. Measurement of urinary lactoferrin as a marker of urinary tract infection. *J Clin Microbiol* 1999; 37(3): 553-7.
 19. Pan Y, Sonn GA, Sin ML, Mach KE, Shih MC, Gau V, et al. Electrochemical immunosensor detection of urinary lactoferrin in clinical samples for urinary tract infection diagnosis. *Biosens Bioelectron* 2010; 26(2): 649-54.
 20. Aly SM, El-Zawawy LA, Said DE, Fathy FM, Mohamed ON. The utility of lactoferrin in differentiating parasitic from bacterial infections. *J Egypt Soc Parasitol* 2005; 35(3 Suppl): 1149-62.
 21. Blake DR, Doherty LF. Effect of perineal cleansing on contamination rate of mid-stream urine culture. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2006; 19(1): 31-4.
 22. Nanda N, Juthani-Mehta M. Novel biomarkers for the diagnosis of urinary tract infection-a systematic review. *Biomark Insights* 2009; 4: 111-21.
 23. Gill K, Brenton T, Kupelian A, Horsley H, Sathiananthamoorthy S, Collins L, et al. Urinary lactoferrin as a promising, new, improved surrogate marker for urinary tract infection. *Proceedings of 42th Annual Meeting of the International Continence Society*; 2012 Oct15-19; Beijing, China.
 24. Yong WH, Mattia AR, Ferraro MJ. Comparison of fecal lactoferrin latex agglutination assay and methylene blue microscopy for detection of fecal leukocytes in *Clostridium difficile*-associated disease. *J Clin Microbiol* 1994; 32(5): 1360-1.

Diagnostic Value of Lactoferrin in Diagnosis of Urinary Tract Infections in Children

Alireza Merrikhi¹, Zahra Parsapour²

Original Article

Abstract

Background: Urinary tract infections is a common disease, especially in children, and is diagnosed through urine culture. The aim of this study was to evaluate the diagnostic value of lactoferrin in the diagnosis of urinary tract infections.

Methods: In this descriptive-analytical study, 45 children with urinary tract infection (positive culture) and 45 children without urinary tract infection (negative culture) were investigated for urinary lactoferrin level and its cut-off point and diagnostic value were evaluated based on the result of urine culture.

Findings: The cut-off point for lactoferrin level was 400 ng/dl, and based on this test, the sensitivity and specificity rate was 20% and 93%, respectively. The positive and negative predictive values were 75% and 53%, respectively.

Conclusion: Lactoferrin, due to its high specificity, can prevent more diagnostic tests for negative cases. Due to the relatively high positive predictive value in clinical cases, it facilitates the decision to initiate treatment with positive tests. Lactoferrin can be a good test for ultimate prevention of delay in the onset of treatment, which results in irreversible complications in kidney and urinary system.

Keywords: Urinary tract infection, Lactoferrin, Sensitivity and specificity

Citation: Merrikhi A, Parsapour Z. **Diagnostic Value of Lactoferrin in Diagnosis of Urinary Tract Infections in Children.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(465): 8-13.

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

2- Resident, Department of Pediatrics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Zahra Parsapour, Email: za.parsapour@gmail.com

اثر حفاظتی ۶ هفته تمرین اختیاری بر آپوپتوز کبدی ناشی از دوکسوروبیسین در Rat های مدل سالمندی

مینو دادبان شهامت^۱، ولی‌اله دبیدی روشن^۲، تورج فرازمنذر^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: روش‌های تمرینی مختلفی جهت کاهش عوارض داروی دوکسوروبیسین ارائه شده‌اند که به نظر می‌رسد با توجه به شرایط بیماران، زمان شروع تمرینات، طول دوره و استرس تمرینی باید مورد توجه بیشتری قرار بگیرند. از این رو، هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر حفاظتی تمرین اختیاری بر آپوپتوز کبدی ناشی از دوکسوروبیسین در Rat های مدل سالمندی بود.

روش‌ها: ۴۲ سر Rat بالغ نژاد Wistar، در ۶ گروه (n = 7) شامل جوان، سالمند، سالمند + سالی، سالمند + دوکسوروبیسین، سالمند + دوکسوروبیسین + تمرین اختیاری و سالمند + سالی + تمرین اختیاری قرار گرفتند. تمرین اختیاری، در قفس‌های مجهز به چرخ دوار و شمارشگر مسافت، به مدت ۶ هفته به صورت انفرادی و آزادانه انجام شد. هم‌زمان با ۱۵ روز پایانی تمرین، دوکسوروبیسین یا محلول سالی با دز روزانه ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم (دز تجمعی ۱۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از اتمام تمرین، بافت‌برداری از کبد برای ارزیابی بیان پروتئین‌های Bax و B-cell leukemia 2 (Bcl-2) جهت بررسی آپوپتوز به روش Western blot انجام شد.

یافته‌ها: آزمون One-way ANOVA نشان داد در گروه‌های تمرینی نسبت به سایر گروه‌ها، میزان بیان پروتئین Bax و نسبت Bax/Bcl-2 کاهش معنی‌دار و بیان پروتئین Bcl-2، افزایش معنی‌داری یافته بود.

نتیجه‌گیری: تمرین اختیاری قبل و حین شیمی‌درمانی، ممکن است بتواند از طریق کاهش پروتئین Bax و نسبت Bax/Bcl-2، باعث کاهش آپوپتوز و افزایش بقا در هیپاتوسیت‌های سالم سالمندان و در نتیجه، کاهش عوارض دوکسوروبیسین شود.

واژگان کلیدی: تمرین، آپوپتوز، دوکسوروبیسین، سالمندی، پروتئین Bax، پروتئین B-cell leukemia 2

ارجاع: دادبان شهامت مینو، دبیدی روشن ولی‌اله، فرازمنذر تورج. اثر حفاظتی ۶ هفته تمرین اختیاری بر آپوپتوز کبدی ناشی از دوکسوروبیسین در

Rat های مدل سالمندی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۵): ۲۱-۱۴

مقدمه

دوکسوروبیسین (Doxorubicin یا DOX)، یک آنتی‌بیوتیک آنتراسایکلین قارچی و یکی از داروهای شیمی‌درمانی است که برای درمان بسیاری از تومورها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱-۲) و اثر درمانی خود را از طریق اختلال در تکثیر سلول سرطانی، با مهار آنزیم توپوایزومراز II و ایجاد فرصتی برای ترمیم ژنوم به انجام می‌رساند و اگر ترمیم با شکست روبه‌رو شود، با تولید رادیکال‌های آزاد، باعث القای آپوپتوز (Apoptosis) سلول می‌شود (۲).

آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده، روشی طبیعی در سلول‌ها می‌باشد که در هموستاز بافتی و حذف سلول‌های آسیب دیده یا پیر،

نقش حیاتی دارد و از دو مسیر بیرونی (Extrinsic pathway) و درونی (Intrinsic pathway) رخ می‌دهد. مسیر خارجی، با تحریک گیرنده‌های مرگ که در غشای خارجی اغلب سلول‌ها وجود دارد، آغاز می‌شود و منجر به فعال‌سازی کاسپازها و القای مرگ سلولی می‌گردد و مسیر داخلی نیز، از طریق سیگنال‌هایی مانند رادیکال‌های آزاد (Free radicals) در درون سلول آغاز می‌شود و به واسطه پروتئین‌های خانواده‌ی Bcl-2 (B-cell leukemia 2 family proteins) موجود در غشای خارجی میتوکندری، با آسیب به غشای میتوکندری و رهایش سیتوکروم C، موجب فعال شدن کاسپازها و در نهایت، مرگ سلول می‌شود (۳).

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

۲- استاد، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابل، ایران

۳- استادیار، گروه پزشکی مولکولی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین در علوم پزشکی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

Email: v.dabidi@umz.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: ولی‌اله دبیدی روشن

اختیاری پیش درمان قبل و حین القای دوکسوروبیسین بر بیان پروتئین‌های Bax، Bcl-2 و نسبت Bax / Bcl-2 بافت کبدی Rat های مدل سالمندی انجام شد.

روش‌ها

طرح پژوهش و محیط آزمایشگاه: این پژوهش به روش تجربی و بر روی ۴۲ سر Rat نژاد Wistar با سن ۱۲ هفته و میانگین وزن 230 ± 25 گرم، در محیطی با میانگین دمای $22/0 \pm 1/4$ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ درصد و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف و با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد پلت (۱۲) و با رعایت اصول اخلاقی منطبق با منشور حقوق حیوانات انجام گردید.

مدل‌سازی سالمندی: پس از یک هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه، مدل‌سازی سالمندی به مدت ۹ هفته بر روی ۳۵ سر از Rat ها اجرا شد. برای ایجاد مدل سالمندی، از دی‌گالاکتوز (Sigma, USA) محلول در سالیین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) استفاده شد که روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به صورت درون صفاقی تزریق می‌شد (۲۰). Rat ها ۴ هفته پس از مدل‌سازی در ۶ گروه ۷ تایی شامل گروه جوان، گروه سالمند، گروه سالمند + سالیین، گروه سالمند + دوکسوروبیسین، گروه سالمند + تمرین اختیاری + سالیین و گروه سالمند + تمرین اختیاری + دوکسوروبیسین قرار گرفتند.

تمرین اختیاری: حیوانات گروه تمرینی پس از یک هفته آشنایی با نحوه‌ی فعالیت روی چرخ گردان، از ابتدای هفته‌ی چهارم و به مدت ۶ هفته در قفس‌های مجهز به چرخ دوار و شمارشگر مسافت به صورت انفرادی قرار گرفتند. مسافت‌ها هر روز صبح ثبت می‌شد.

القای دوکسوروبیسین: آزمودنی‌ها از هفته‌ی هشتم مدل‌سازی سالمندی، به مدت ۱۵ روز در معرض تزریق درون صفاقی دوکسوروبیسین و یا محلول سالیین NaCl ۰/۹ درصد، با دز روزانه‌ی ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن با هدف رسیدن به دز تجمع‌ی ۱۵ میلی‌گرم/کیلوگرم قرار گرفتند (۲۱).

نمونه‌برداری: ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق، آزمودنی‌ها در شرایط ناشتایی، با کتامین و زایلازین با نسبت ۵ به ۲ بیهوش شدند و پس از جراحی، قطعاتی از بافت کبد در نیتروژن مایع منجمد و در دمای -80°C درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد.

سنجش بیان پروتئین‌های Bax و Bcl-2 به روش

Western blot. بافت کبد به روش مکانیکی کوبیده و توسط بافر Radioimmunoprecipitation assay (RIPA) به همراه پروتاز، با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت حاصل به

پروتئین‌های خانواده‌ی Bcl-2، حاوی دو گروه پیش‌برنده‌ی آپوپتوز (Pro-Apoptotic) مانند Bax، Bcl-2، Bcl-2-associated death promoter (Bad) و B-cell lymphoma-extra short (Bcl-xS) و مهارکننده‌ی آپوپتوز (Anti-Apoptotic) نظیر Bcl-2 و B-cell lymphoma-extra large (Bal) می‌باشند که نقش مهمی در فرایند آپوپتوز میتوکندریایی دارند (۴). از این رو، از پروتئین‌هایی هستند که تحت تأثیر دوکسوروبیسین قرار می‌گیرند.

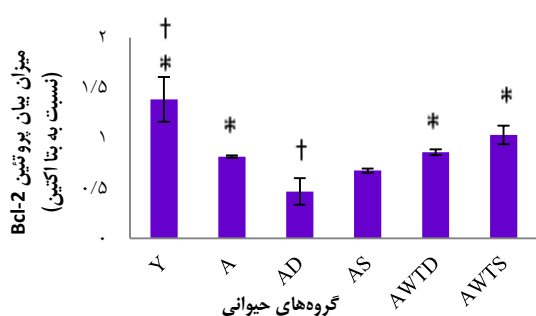
علاوه بر خواص درمانی دوکسوروبیسین، این دارو با عبور از میان غشاهای سلولی و تجمع در بیشتر سلول‌ها (۲)، دارای عوارض جانبی غیر قابل برگشتی (۱) همچون، سمیت در بافت‌های سالم و حساس (۵) به خصوص بافت کبد (۸-۶) می‌باشد. از طرفی، افزایش سن نیز با تغییرات فیزیولوژیکی در افراد همراه است که توانایی متابولیزه نمودن و حذف داروها را کاهش می‌دهد. میزان آپوپتوز و روند ترمیم ژنوم در سلول‌ها و اعضای پیر، دچار اختلال می‌شود که شانس ابتلای جمعیت پیر به بیماری سرطان را افزایش می‌دهد و بنابراین، توجه به درمان و کاهش عوارض درمان، در این افراد ضروری به نظر می‌رسد (۱۰-۹).

پژوهش‌های بسیاری، روش‌های تمرینی، دزهای مختلف دارو و مصرف مکمل‌های غذایی را جهت کاهش عوارض دوکسوروبیسین آزموده‌اند. بسیاری از این مطالعات، نشان داده‌اند که تمرینات منظم هوازی، باعث بهبود تعادل اکسیدانی/آنتی‌اکسیدانی ناشی از دوکسوروبیسین در بافت کبد شده است (۸-۷). به نظر می‌رسد راه‌کارهای تمرین ورزشی در حین شیمی‌درمانی (۱۳-۱۲، ۱) و نیز شیوه‌نامه‌های پیش درمان طولانی با بیش از ۱۲ هفته (۱۶-۱۴)، با وجود اثرات مثبت در مقابل استرس اکسایشی ناشی از دارو، با توجه به شرایط جسمی و روحی بیماران و امکان ورزش طولانی در انسان، با توجه به فاصله‌ی کوتاه بین تشخیص و شروع درمان، مورد سؤال است. همچنین، بیشتر مطالعات، به اثر ورزش اجباری بر عوارض ناشی از دوکسوروبیسین پرداخته‌اند (۱۷، ۱۱). در حالی که به نظر می‌رسد، این شیوه‌نامه‌ی ورزشی، خود با استرس اکسایشی همراه است و ممکن است پیامدهای فیزیولوژیک، برای بیماران داشته باشد (۱۸).

پارسایی فر و همکاران، در پژوهشی دریافته‌اند که فعالیت بدنی اختیاری، ابزاری مؤثر در کاهش اثرات سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین در افراد سالمند می‌باشد (۱۹). همچنین، در بسیاری از پژوهش‌های ورزشی و عوارض القای دوکسوروبیسین، از Rat های جوان به عنوان آزمودنی استفاده شده است (۱۳، ۱۱)؛ در حالی که سازگاری آپوپتوزی به ورزش و القای دوکسوروبیسین، می‌تواند تحت تأثیر سالمندی قرار گیرد (۱۰).

از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثر حفاظتی تمرین

همچنین، مقایسه‌ی بین گروه‌ها نشان داد میزان بیان پروتئین Bax در گروه سالمند + تمرین اختیاری + دوکسوروبیسین نسبت به گروه‌های شاهد خود، تفاوت معنی‌داری داشت و با دو گروه سالمند و سالمند + سالی، تفاوت معنی‌داری نداشت ($P < 0/05$). با توجه به شکل ۲، مقایسه‌ی میزان بیان پروتئین Bcl-2 در گروه‌های پژوهش نیز حاکی از تفاوت معنی‌دار گروه سالمند + تمرین اختیاری + دوکسوروبیسین نسبت به گروه جوان و گروه سالمند + دوکسوروبیسین و عدم معنی‌داری تفاوت با سایر گروه‌ها بود ($P < 0/05$).



شکل ۲. میانگین بیان پروتئین B-cell leukemia 2 (Bcl-2) در گروه‌های پژوهش

Y: جوان، A: سالمند، AD: سالمند + دوکسوروبیسین، AS: سالمند + سالی،

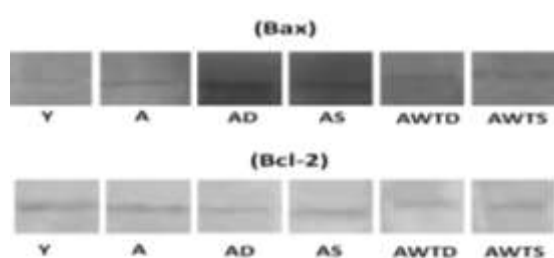
AWTd: سالمند + دوکسوروبیسین + تمرین اختیاری و

AWTs: سالمند + سالی + تمرین اختیاری

* اختلاف معنی‌دار با گروه سالمند + دوکسوروبیسین

† اختلاف معنی‌دار با گروه سالمند + تمرین اختیاری + دوکسوروبیسین ($P < 0/05$).

نمایش باند Western blot در شکل ۳ نیز حاکی از بیان پایین پروتئین Bax و بیان بالای پروتئین Bcl-2 در گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه‌های شاهد بود.



شکل ۳. باند Western blot پروتئین‌های BCL2-associated X protein (Bax) و B-cell leukemia 2 (Bcl-2) استخراج شده از بافت کبدی

گروه‌های پژوهش

Y: جوان، A: سالمند، AD: سالمند + دوکسوروبیسین، AS: سالمند + سالی،

AWTd: سالمند + دوکسوروبیسین + تمرین اختیاری و

AWTs: سالمند + سالی + تمرین اختیاری

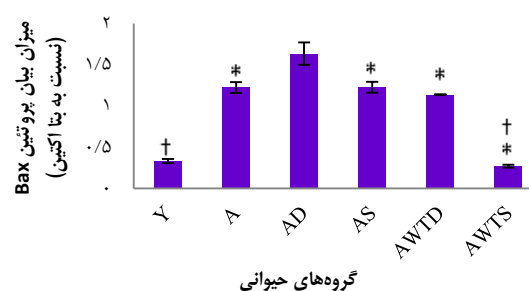
مقدار مساوی (۴۰ میکروگرم در هر چاهک) روی ژل پلی‌آکریل‌آمید قرار داده شد و به مدت ۲-۳ ساعت در ولتاژ ۱۰۰ آمپر الکتروفورز شدند. سپس، ژل به همراه کاغذ Polyvinylidene fluoride (PVDF)، اسفنج‌ها و پدهای دستگاه به صورت ساندویچی، داخل تانک (Cleaver scientific, UK) قرار گرفت و با ۳۵۰ آمپر، الکتروفورز شد. پس از انتقال، کاغذ PVDF، یک ساعت در Blocking buffer گذاشته و Shake داده شد.

بعد از خالی کردن Blocking buffer، آنتی‌بادی اولیه (BioLegend, Canada) روی آن ریخته و Overnight shake داده شدند. روز بعد، کاغذ با Tris buffered saline1X (TBS1X) شسته شد و بار دیگر، به مدت ۵ دقیقه Shake شد. سپس، آنتی‌بادی ثانویه رقیق شده روی آن ریخته شد تا به مدت ۲-۱ ساعت Shake شود. پس از آن، آنتی‌بادی ثانویه خالی شد و ۳ بار به روش قبل شستشو داده شد. در پایان، 3, 3' Diaminobenzidine (DAB) (Sigma, USA) به آن اضافه گردید تا باند قابل مشاهده شود و سپس، از باند اسکن گرفته شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ (IBM Corporation, Armonk, NY) و آزمون One-way ANOVA و مقایسه‌ی آزمون تعقیبی Tukey و در سطح معنی‌داری $P < 0/05$ انجام شد.

یافته‌ها

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، میانگین میزان بیان پروتئین Bax بافت کبدی در گروه سالمند + دوکسوروبیسین، به طور معنی‌داری بالاتر از همه‌ی گروه‌ها بود ($P < 0/05$).



شکل ۱. میانگین بیان پروتئین BCL2-associated X protein (Bax) در گروه‌های پژوهش

Y: جوان، A: سالمند، AD: سالمند + دوکسوروبیسین، AS: سالمند + سالی،

AWTd: سالمند + دوکسوروبیسین + تمرین اختیاری و

AWTs: سالمند + سالی + تمرین اختیاری

* اختلاف معنی‌دار با گروه سالمند + دوکسوروبیسین

† اختلاف معنی‌دار با گروه سالمند + تمرین اختیاری + دوکسوروبیسین ($P < 0/05$).

کننده‌ی آپوپتوز در سلول‌های سالم کبدی می‌شود. برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که استرس اکسایشی ناشی از دوکسوروبیسین به علت عدم تعادل عوامل اکسایشی نظیر مالون دی‌آلدئید و عوامل ضد اکسایشی، همانند سوپراکساید دیسموتاز می‌باشد (۷).

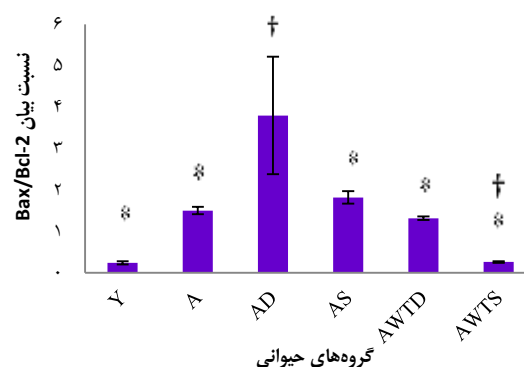
فعالیت بدنی، اگر چه به عنوان یک راه‌کار کمکی جهت کاهش عوارض دوکسوروبیسین در پژوهش‌های بسیاری مورد تأیید قرار گرفته است، اما برخی از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که ورزش‌های اجباری (Forced Exercise) با اعمال شوک الکتریکی به حیوان، می‌تواند باعث کاهش بیان آنزیم‌های ضد اکسایشی و افزایش بیان پروتئین‌های اکسایشی شود (۲۱-۲۲).

پس از ورزش‌های شدید، آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد به طور مستقیم و آسیب‌های اکسایشی ناشی از آن به طور غیر مستقیم، همچون پراکسیداسیون لیپیدی، آسیب‌های اکسایشی پروتئین‌ها و ساختارهای ژنومی، در بسیاری از پژوهش‌ها گزارش شده است (۲۱، ۳). Zhenjun و همکاران، در پژوهشی به این نتیجه رسیدند که تمرینات خسته کننده، منجر به افزایش بیان پروتئین Bax و کاهش بیان پروتئین Bcl-2 می‌شود (۲۰). راه‌کار ورزشی مورد استفاده در این پژوهش، شامل ۶ هفته تمرین اختیاری بر روی چرخ دوار، ۴ هفته قبل از القای دوکسوروبیسین و ۲ هفته هم‌زمان با القای آن بود. فعالیت بدنی اختیاری، روش پیشنهادی این پژوهش بود که در آن آزمودنی‌ها بدون اجبار و آزادانه، فعالیت بدنی متناسب با توانایی خود را انجام می‌دادند. این روش تمرینی، با توجه به شرایط بدنی آزمودنی‌ها که تحت تأثیر سالمندی و القای دوکسوروبیسین بودند، انتخاب شده بود. همچنین، بر خلاف مطالعات پیشین که بر روی Rat‌های جوان انجام شده بود (۱۳-۱۱)، در این پژوهش از Rat مدل سالمندی و با تزریق دز تجمعی دوکسوروبیسین که احتمال می‌رفت اثرات سمیت متفاوتی نسبت به دزهای حاد داشته باشد، استفاده گردید.

نتایج پژوهش نشان داد در گروه‌های دریافت کننده‌ی دوکسوروبیسین، بیان پروتئین Bax به طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های شاهد خود افزایش پیدا کرده بود. پژوهش‌های دیگری نیز همسو با این پژوهش، حاکی از افزایش بیان پروتئین Bax به دنبال تزریق دوکسوروبیسین بودند (۲۳-۲۴).

همچنین، پژوهشگران بسیاری نشان دادند که دوکسوروبیسین باعث اختلال عملکرد تنفس میتوکندریایی، آسیب اکسیداتیو و ضایعات هیستوپاتولوژیک و راه انداختن مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده می‌شود (۱۹، ۱۱-۱۲). مقایسه‌ی میزان بیان پروتئین Bax در گروه‌های پژوهش نشان داد که بیان پروتئین Bax در گروه جوان نسبت به گروه‌های سالمند به طور معنی‌داری پایین‌تر بود. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که افزایش سن، با

همچنین، یافته‌ها نشان داد نسبت بیان Bax/Bcl-2 در گروه سالمند + تمرین اختیاری + دوکسوروبیسین با سه گروه جوان، سالمند + دوکسوروبیسین و سالمند + تمرین اختیاری + سالین تفاوت معنی‌داری داشت و نسبت به سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۴) ($P < 0/05$).



شکل ۴. نسبت بیان B-cell leukemia 2/BCL2-associated X protein

در گروه‌های پژوهش

Y: جوان، A: سالمند، AD: سالمند + دوکسوروبیسین، AS: سالمند + سالین،

AWTD: سالمند + دوکسوروبیسین + تمرین اختیاری و

AWTS: سالمند + سالین + تمرین اختیاری

* اختلاف معنی‌دار با گروه سالمند + دوکسوروبیسین.

† اختلاف معنی‌دار با گروه سالمند + تمرین اختیاری + دوکسوروبیسین ($P < 0/05$)

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که تمرینات اختیاری قبل و طی درمان با دوکسوروبیسین، می‌تواند از مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول‌های سالم کبدی ناشی از القای دوکسوروبیسین در Rat‌های نر مدل سالمندی پیش‌گیری کند. یکی از مکانیزم‌های اثر دوکسوروبیسین در صورت شکست ترمیم ژنوم، تولید رادیکال‌های آزاد و القای آپوپتوز می‌باشد (۲). رادیکال‌های آزاد، از طریق پروتئین‌های خانواده‌ی Bcl-2 که حاوی دو گروه پیش‌برنده و مهارکننده‌ی آپوپتوز هستند، با آسیب به غشای میتوکندری و رهایش سیتوکروم C، سبب فعال شدن کاسپازها و در نهایت، آپوپتوز سلول‌های آسیب دیده می‌شود (۳) که در این میان، سلول‌های سالم نیز درگیر آسیب و آپوپتوز می‌شوند و این از عوارض این دارو می‌باشد. نتایج پژوهش‌های مختلف، حاکی از افزایش آپوپتوز در بافت‌های حساس سالم، همچون کبد (۸-۶)، به دنبال القای دوکسوروبیسین می‌باشد.

پژوهش حاضر نیز هم‌راستا با این پژوهش‌ها، نشان داد که القای دوکسوروبیسین، باعث افزایش بیان Bax، یکی از پروتئین‌های پیش‌برنده‌ی آپوپتوز و کاهش بیان Bcl-2، از پروتئین‌های مهار

بر خلاف پروتئین Bax که از سیتوپلاسم به غشای میتوکندری انتقال می‌یابد و با تغییراتی در نفوذپذیری غشای خارجی آن سلول‌های آسیب دیده را به سمت آپوپتوز هدایت می‌کند، پروتئین Bcl-2، از طریق اتصال به کانال‌های موجود بر روی میتوکندری موجب حفظ یکپارچگی این غشا می‌شود (۲).

یکی از نتایج قابل توجه این پژوهش، عدم معنی‌داری میزان بیان پروتئین Bcl-2 در گروه سالمند + تمرین اختیاری + دوکسوروبیسین نسبت به گروه سالمند سالم می‌باشد که نشانه‌ی خوبی برای اثرات ورزش اختیاری می‌باشد. همچنین، مقایسه‌ی میزان بیان پروتئین Bcl-2 در گروه‌های پژوهش نشان داد، بیان پروتئین Bcl-2 در گروه جوان نسبت به گروه‌های سالمند به طور معنی‌دار بالاتر بود که نشان می‌دهد بافت جوان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به بافت سالمند دارد. پژوهش‌های قبلی نشان داده‌اند که تمرین ورزشی در سالمندی، سطوح کاسپاز ۹ و نسبت Bax/Bcl-2 را از طریق کاهش بیان پروتئین Bax و افزایش سطوح Bcl-2، کاهش می‌دهد (۲۹، ۱۱).

Kavazis و همکاران، در پژوهشی نشان دادند تمرین ورزشی باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پروتئین شوک گرمایی-۷۲ (Heat shock protein 72 یا HSP72) بافت قلب می‌شود و از میوسیت‌ها در مقابل آسیب میتوکندریایی ناشی از دوکسوروبیسین، فعال‌سازی پروتئاز و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده محافظت می‌کند (۱۷). نسبت Bax/Bcl-2، شاخصی است که نشان دهنده‌ی میزان واقعی آپوپتوز است و مطالعات نشان داده‌اند سطوح بالای پروتئین‌های مهار کننده‌ی آپوپتوز نسبت به پروتئین‌های پیش‌برنده‌ی آپوپتوز، بقا را افزایش می‌دهد؛ در حالی که نسبت معکوس آن منجر به آپوپتوز می‌شود (۲۳-۲۲). یافته‌های پژوهش نشان داد، نسبت Bax/Bcl-2 در گروه‌های دریافت کننده‌ی دوکسوروبیسین بالاتر بود که حاکی از بالا رفتن آپوپتوز در این گروه بعد از القای دوکسوروبیسین می‌باشد. این یافته‌ها، با یافته‌های بسیاری از پژوهش‌ها که نشان دادند القای دوکسوروبیسین باعث افزایش پروتئین‌های پیش‌برنده‌ی آپوپتوز می‌شوند، همسو می‌باشد (۳۳، ۱۷، ۱۱).

همچنین، نسبت Bax/Bcl-2 در گروه سالمند + تمرین اختیاری + دوکسوروبیسین نسبت به گروه سالمند + دوکسوروبیسین تفاوت معنی‌دار داشت و با گروه سالمند سالم تفاوت معنی‌داری نداشت. این یافته، نشان دهنده‌ی افزایش بقا و کاهش آپوپتوز در اثر تمرین ورزشی اختیاری در هیپاتوسیت‌های سالم کبدی ناشی از القای دوکسوروبیسین بود. در معرض فعالیت ورزشی بودن، می‌تواند با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو، باعث کاهش فعالیت پروتئین Bax و مهار آزادسازی سیتوکروم c از میتوکندری و در نتیجه، مانع فعال شدن کاسپاز ۹ و ۳ و مهار آپوپتوز شود (۳۰-۲۹، ۱۱).

اختلال آپوپتوز سلول‌های پیر و آسیب دیده و نیز کاهش توانایی بدن در متابولیزه نمودن و حذف داروها همراه می‌باشد (۹-۱۰)؛ به طوری که میزان صدمه‌ی اکسیداتیو در DNA هسته‌ای و میتوکندریایی موش جوان ۲۴ هزار و در موش‌های پیر، ۶۶ هزار نوکلئوتید در هر سلول می‌باشد (۲۵) و به نظر می‌رسد این عوامل می‌توانند بر اثرات داروی دوکسوروبیسین و پاسخ بدن تغییراتی ایجاد کند.

همچنین، یافته‌های پژوهش نشان داد در گروه‌های دریافت کننده‌ی دوکسوروبیسین که دارای تمرین ورزشی اختیاری به عنوان تیمار بودند، بیان پروتئین Bax به طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های شاهد خود کاهش پیدا کرده بود. نتایج برخی پژوهش‌ها، همسو با پژوهش حاضر، حاکی از کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دوکسوروبیسین در نتیجه‌ی فعالیت بدنی اختیاری در Rat‌ها می‌باشد (۱۹-۱۸). در حالی که پژوهش‌هایی نیز حاکی از بی‌تأثیر بودن تمرین ورزش اختیاری بر روی چرخ گردان بر آسیب‌های بافتی ناشی از دوکسوروبیسین می‌باشد (۲۶).

پس از فعالیت ورزشی، تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن اجتناب ناپذیر است و بدن با طراحی مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی، اثرات زیان‌بار آن‌ها را تا حدودی خنثی می‌نماید. اگر چه در صورت افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، صدمات ناشی از آن یا استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد؛ اما آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند با مکانیسم‌های مختلفی همچون برداشت اکسیژن یا کاهش غلظت موضعی اکسیژن، برداشت یون‌های فلزی کاتالیتیک مانند Cu^{2+} و Fe^{2+} برداشت گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکساید و هیدروژن پراکساید، اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد را کاهش دهند (۲۷).

تنظیم آپوپتوز بسیار پیچیده است و پروتئین‌های زیادی در مسیرهای فعال شدن آن دخیل هستند. اگر چه در این پژوهش، اتفاقات آپوپتوزی در مسیرهای قبل از فعال شدن Bax بررسی نگردیده است که از محدودیت‌های این مطالعه می‌باشد، اما بسیاری از مطالعات قبلی، حاکی از اثرات مثبت فعالیت بدنی بر ضد اکسایش‌های آنزیمی همچون سوپراکساید دیسموتاز (Superoxide dismutase یا SOD)، کاتالاز (Catalase یا CAT) و پارا اکسوناز-۱ (Paraoxonase یا PON1) و ضد اکسایش‌های غیر آنزیمی همچون گلووتاتیون (Glutathione یا GSH)، اسید اوریک، بیلی‌روبین و یویکینون می‌باشند که در نهایت، منجر به افزایش برداشت رادیکال‌های آزاد توسط آن‌ها (۲۹-۲۸، ۱۳، ۷، ۳) و کاهش احتمالی فعالیت آپوپتوزی می‌شود. به نظر می‌رسد قرار گرفتن مداوم در معرض تمرینات بدنی، می‌تواند سازگاری‌های آنزیمی را که مسئولیت کاهش استرس اکسایشی را بر عهده دارند، افزایش دهد. احتمال می‌رود مهار اکسیدان‌ها و تنظیم مثبت آنتی‌اکسیدان‌ها در بیان پروتئین Bax نقش داشته باشد (۲۵، ۲۳).

دوکسوروبیسین، بتواند میزان آپوپتوز سلول‌های سالم کبدی را کاهش و بقای آن‌ها را افزایش دهد که می‌تواند راه‌کاری سالم، جهت کاهش عوارض داروی دوکسوروبیسین باشد.

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، می‌توان به تمرینات اختیاری قبل از شروع درمان با داروی شیمی‌درمانی دوکسوروبیسین به خصوص برای افراد مسن و با توجه به توانایی بدن آن‌ها، به عنوان راه‌کاری غیر دارویی، بی‌خطر و کم هزینه در برابر استرس اکسایشی ناشی از دارو، توجه بیشتری نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه‌ی مقطع دکتری می‌باشد که با هزینه‌ی شخصی اجرا شده است. پژوهشگران از دانشکده‌ی علوم ورزشی دانشگاه مازندران جهت فراهم‌سازی مقدمات اجرای مطالعه‌ی حاضر سپاسگزاری می‌نمایند.

پژوهش‌ها نشان دادند فعالیت بدنی، افزایش پروتئین کربونیل، مالون دی‌آلدئید، Bax، نسبت Bax/Bcl-2 ناشی از القای دوکسوروبیسین را تعدیل می‌کند (۱۷، ۱۱). احتمال می‌رود فعالیت بدنی با تنظیم مثبت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون افزایش بیان پروتئین شوک گرمایی، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها از آسیب‌های بافتی در مقابل دوکسوروبیسین محافظت کند (۲۹-۲۸، ۱۷، ۳).

به طور خلاصه، نتایج مطالعه‌ی حاضر، حاکی از آن است که ۶ هفته تمرین اختیاری، ۴ هفته قبل و ۲ هفته در حین درمان با دوکسوروبیسین، توانست میزان آپوپتوز سلول‌های سالم کبدی را از طریق کاهش پروتئین Bax و افزایش پروتئین Bcl-2 کاهش دهد. همچنین، در گروه‌های تمرینی، نسبت Bax/Bcl-2 کاهش یافت که تأییدی دیگر در کاهش میزان آپوپتوز و افزایش بقای سلول‌های سالم کبدی می‌باشد. به نظر می‌رسد، تمرینات اختیاری قبل و حین درمان با

References

- Smuder AJ, Kavazis AN, Min K, Powers SK. Doxorubicin-induced markers of myocardial autophagic signaling in sedentary and exercise trained animals. *J Appl Physiol* (1985) 2013; 115(2): 176-85.
- Pecorino L. Molecular biology of cancer: Mechanisms, targets, and therapeutics. Oxford, UK: Oxford University Press; 2008. p. 71-9.
- Afzalpour ME, Taheri Chadorneshin H. Physical activity and oxidative pressure. Tehran, Iran: Bamdad Ketab; 2014. p. 23-95. [In Persian].
- Dadban-Shahamat M. Cellular and molecular mechanisms of the effects of physical activity on cancer. Proceedings of the 5th National Conference on Applied Science in Sport; 2016 Dec 23; Ali Abad Katoul, Iran.
- Alexieva B, Sainova IV, Pavlova VG, Markova T, Nikolova EB. Insights into mechanisms of doxorubicin cardiotoxicity. *J Phys Pharm Adv* 2014; 4(3): 342-8.
- Salouge I, Ben AR, Ben SD, Elkadri N, Kourda N, Lakhali M, et al. Means of evaluation and protection from doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats. *J Cancer Res Ther* 2014; 10(2): 274-8.
- Zolfagharzadeh F, Roshan VD. Pretreatment hepatoprotective effect of regular aerobic training against hepatic toxicity induced by Doxorubicin in rats. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(5): 2931-6.
- Alishahi A, Nasiri S. The protective effect of regular aerobic training on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats: the insulin-like growth factor system. *Zahedan J Res Med Sci* 2014; 16(12): 59-64.
- Mangoni AA, Jackson SH. Age-related changes in pharmacokinetics and pharmacodynamics: basic principles and practical applications. *Br J Clin Pharmacol* 2004; 57(1): 6-14.
- Lu B, Chen H, Hong-Guang H. The relationship between apoptosis and aging. *Adv Biosci Biotechnol* 2012; 3(6):705-711.
- Ascensao A, Magalhaes J, Soares JM, Ferreira R, Neuparth MJ, Marques F, et al. Moderate endurance training prevents doxorubicin-induced in vivo mitochondriopathy and reduces the development of cardiac apoptosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289(2): H722-H731.
- Ashrafi J, Dabidi Roshan V, Mahjoub S. Cardioprotective effects of aerobic regular exercise against doxorubicin-induced oxidative stress in rat. *Afr J Pharm Pharmacol* 2012; 6(31): 2380-8.
- Shirinbayan V, Dabidi-Roshan V, Mahjoub S. The therapeutic effect of endurance training on adriamycin-induced cardiac stress in rats. *Journal of Health and Physical Activity* 2013; 7(4): 8-17.
- Kim EJ, Hwang S. Effects of aerobic exercise on antioxidants in rat models with cardiomyopathy. *Phys Ther Rehabil Sci* 2015; 4(1):17-21.
- Huang CC, Chiang WD, Huang WC, Huang CY, Hsu MC, Lin WT. Hepatoprotective effects of swimming exercise against D-galactose-induced senescence rat model. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 275431.
- Santana ET, Serra AJ, Silva Junior JA, Bocalini DS, Barauna VJG, Krieger JJE, et al. Aerobic exercise training induces an anti-apoptotic milieu in myocardial tissue. *Motriz Revista de Educacao Fisica* 2014; 20(2): 233-8.
- Kavazis AN, Smuder AJ, Min K, Tumer N, Powers SK. Short-term exercise training protects against doxorubicin-induced cardiac mitochondrial damage independent of HSP72. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299(5): H1515-H1524.
- Chicco AJ, Schneider CM, Hayward R. Voluntary

- exercise protects against acute doxorubicin cardiotoxicity in the isolated perfused rat heart. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 289(2): R424-R431.
19. Parsaeifar A, Dabidi Roshan V, Mazaheri Z. cardioprotective effect of voluntary physical activity on changes of doxorubicin-induced cardiac myosin heavy chain expression in aging model rats. *J Urmia Univ Med Sci* 2017; 27(10): 893-901. [In Persian].
 20. Kim SY, Lee J. Exercise training suppresses vascular fibrosis in aging obesity induced rats. *J Exerc Nutrition Biochem* 2014; 18(2): 175-80.
 21. Zhenjun T, Weixin X, Linong D. Effect of exercise training on expression of NOS, Bcl-2 and Bax in liver tissue of rats. *Journal of Chengdu Sport University* 2006; (5): 100-3.
 22. Chicco AJ, Hydock DS, Schneider CM, Hayward R. Low-intensity exercise training during doxorubicin treatment protects against cardiotoxicity. *J Appl Physiol* (1985) 2006; 100(2): 519-27.
 23. Sharifi F, Roshan V, Mazaheri Z. Effect of pretreatment of aerobic training on doxorubicin-induced left ventricular apoptosis gene expression in aging model rats. *Modares J Med Sci Pathol* 2016; 19(2): 29-43. [In Persian].
 24. Mohammadi Gorji S, Karimpour Malekshah AA. Effect of doxorubicin on Bcl2 and Bax expression in Rat heart. *J Gorgan Univ Med Sci* 2013; 15(1): 19-24. [In Persian].
 25. Yari R. Cell ageing and biotechnology. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 2011; 1(4): 7-26. [In Persian].
 26. Sadat-Hoseini SK, Dabidi Roshan V. Is sub-chronic exercise in Combination with medicinal nanoparticles a protective strategy against Doxorubicin-induced Hepatic oxidative stress and apoptosis in aging model rats? *Nanomedicine Journal* 2017; 4(4): 224-31.
 27. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we now? *J Neurochem* 2006; 97(6): 1634-58.
 28. Javid AH, Dabidi Roshan V. Effects of six weeks of continuous training with and without nanocurcumin supplementation on doxorubicin-induced hepatotoxicity in an aging rat model. *Pathobiology Research* 2017; 19(4): 1-12. [In Persian].
 29. Kwak HB, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *FASEB J* 2006; 20(6): 791-3.
 30. Jafari A, Pourrazi H, Nikookheslat S, Baradaran B. Effect of exercise training on Bcl-2 and Bax gene expression in the rat heart. *Gene, Cell and Tissue* 2015; 2(4): e32833.

The Protective Effect of 6 Weeks of Voluntary Training on Liver Apoptosis Induced by Doxorubicin in Aging Model Rats

Minoo Dadban-Shahamat¹, Valiollah Dabidi-Roshan², Touraj Farazmandfar³

Original Article

Abstract

Background: Different training methods have been presented to reduce the side effects of doxorubicin and it seems that according to patient's condition, the time to start exercises, and the duration and stress of exercise should be considered. This study aimed to investigate the preventive effect of voluntary exercise on liver apoptosis induced by doxorubicin in aging model rats.

Methods: 42 adult male Wistar rats were divided into 6 equal groups of young, aging, aging + saline, aging + doxorubicin, aging + doxorubicin + voluntary training, and aging + saline+ voluntary training. Voluntary training was performed in cages equipped with a running wheel for six weeks individually and freely. At the same time, as the end of the training, doxorubicin or saline solution was injected with a cumulative dose (1 mg/kg). 48 hours after completion of the training, liver tissue sampling was performed to assess the apoptosis via examining the expression of Bax and B-cell leukemia 2 (Bcl-2) proteins using western blot method.

Findings: One-way analysis of variance showed that in the training groups, the expression level of Bax protein and Bax/Bcl-2 ratio decreased significantly, and the expression of Bcl-2 protein was significantly increased in comparison to the control groups.

Conclusion: Voluntary exercises prior to treatment with doxorubicin can reduce apoptosis and increase survival in healthy elderly hepatocytes via reducing the Bax protein and the Bax/Bcl-2 ratio, thereby reducing the side effects of doxorubicin.

Keywords: Exercise, Apoptosis, Doxorubicin, Aging, Bax protein, B-cell leukemia 2 family proteins

Citation: Dadban-Shahamat M, Dabidi-Roshan V, Farazmandfar T. **The Protective Effect of 6 Weeks of Voluntary Training on Liver Apoptosis Induced by Doxorubicin in Aging Model Rats.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(465): 14-21.

1- PhD Student in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

2- Professor, Department of Exercise Physiology, School of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

3- Assistant Professor, Department of Molecular Medicine, School of Advanced Medical Technologies AND Medical Cellular and Molecular Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Corresponding Author: Valiollah Dabidi-Roshan, Email: v.dabidi@umz.ac.ir

بررسی ارتباط سطح سرمی ۲۵- هیدروکسی ویتامین D₃ با نوع تظاهر بالینی اولین حمله‌ی

دمیلینیتو عصبی

زهرا نصر^۱، مسعود اعتمادی‌فر^۲، مجتبی اکبری^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: Multiple sclerosis (MS)، یک بیماری شایع سیستم عصبی مرکزی است. نقش کمبود ویتامین D₃ در ابتلا و پیشرفت این بیماری به خوبی شناخته شده است. این مطالعه، با هدف بررسی مقایسه‌ای سطح سرمی ویتامین D₃ در بیماران با اولین حمله‌ی دمیلینیتو عصبی در سه گروه با تظاهرات بالینی درگیری عصب بینایی، نخاع و ساقه‌ی مغز انجام شد.

روش‌ها: ۱۰۴ بیمار (۳۵ بیمار با تظاهر بالینی درگیری عصب بینایی، ۳۵ بیمار با تظاهر بالینی درگیری نخاع و ۳۴ بیمار با تظاهر بالینی درگیری ساقه‌ی مغز) وارد مطالعه شدند. سطح سرمی ۲۵- هیدروکسی ویتامین D₃ در این سه گروه اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: سطح سرمی ویتامین D₃ در بیماران با تظاهرات بالینی درگیری نخاع، عصب بینایی و ساقه‌ی مغز به ترتیب $11/3 \pm 6/82$ ، $10/27 \pm 14/00$ و $13/15 \pm 18/65$ نانوگرم/میلی‌لیتر بود. سطح سرمی ویتامین D₃ به طور معنی‌داری در بیماران با تظاهرات بالینی نخاعی کمتر از بیماران با تظاهرات بالینی ساقه‌ی مغز و درگیری عصب بینایی بود ($P = 0/010$).

نتیجه‌گیری: بر اساس مطالعات قبلی، کمبود ویتامین D₃ با افزایش تعداد حملات و پلاک‌های بیماری در Magnetic resonance imaging (MRI) همراه است. به علاوه، سطح سرمی پایین ویتامین D₃ با خطر بالاتر ابتلا به بیماری در آینده همراه است. در مطالعه‌ی حاضر، سطوح مختلف ویتامین D₃ در بیماران، با درگیری مکان‌های مختلف از سیستم عصبی مرکزی همراه بود. نتایج این مطالعه، در تأیید نقش مهم ویتامین D₃ در مراحل ابتدایی ابتلا به بیماری می‌باشد.

واژگان کلیدی: Multiple sclerosis، سندرم ایزوله‌ی کلینیکی دمیلینیتو سیستم عصبی مرکزی، ویتامین D₃

ارجاع: نصر زهرا، اعتمادی‌فر مسعود، اکبری مجتبی. بررسی ارتباط سطح سرمی ۲۵- هیدروکسی ویتامین D₃ با نوع تظاهر بالینی اولین حمله‌ی

دمیلینیتو عصبی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۵): ۲۷-۲۲

مطالعات قبلی پیرامون نقش ویتامین D₃ در بیماری MS، اغلب به بررسی این عامل در بیماران با دوره‌ی بیماری طولانی و ناتوانی‌های شدید پرداخته‌اند (۶). نتایج این مطالعات بیان می‌دارد که بیماران با سطوح پایین‌تر ویتامین D₃ شانس بیشتری برای پیشرفت بیماری، بروز حمله و ظهور پلاک‌های جدید در Magnetic resonance imaging (MRI) دارند. به علاوه، درمان کمبود ویتامین D₃ در مبتلایان به MS با کاهش سرعت پیشرفت بیماری همراه بوده است (۷).

در شمار زیادی از مبتلایان به MS، بیماری با اولین حمله‌ی دمیلینیتو عصبی و بدون سابقه‌ی حملات مشابه قبلی

مقدمه

Multiple sclerosis (MS)، یک بیماری نورودژنراتیو (Neurodegenerative) شایع در سیستم عصبی مرکزی است (Central nervous system یا CNS) که اغلب افراد را در سنین جوانی تحت تأثیر قرار می‌دهد و با ناتوانی‌های جسمی همراه است (۱). اگر چه منشأ بیماری MS همچنان ناشناخته است؛ اما به نظر می‌رسد که عوامل ژنتیکی و محیطی هر دو در بروز این بیماری دخیل هستند (۲). پژوهش‌های تجربی، بالینی و اپیدمیولوژیک به طور ویژه نقش ویتامین D₃ را در ابتلا و پیشرفت بیماری نشان داده‌اند (۳-۵).

۱- دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و کمیته‌ی تحقیقات MS، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و کمیته‌ی تحقیقات MS، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

ورده یا مثنانه تعریف شده است. تظاهر بالینی درگیری ساقه‌ی مغز به عنوان دو‌بینی گاهی همراه با تهوع و استفراغ تعریف شده است (۸). معیارهای ورود به مطالعه، ابتلا به CIS با علائم نورولوژیک مونوفوکال و عدم ابتلا به بیماری‌های زمینه‌ای اثبات شده و عدم مصرف هر گونه دارو تا زمان ورود بیمار به مطالعه است که به نوعی با تولید، متابولیسم و دفع ویتامین D3 در ارتباط می‌باشد. معیارهای خروج از مطالعه، شامل هر گونه تشخیص بهتری از CIS که با علائم بالینی و پیرابالینی بیمار توجیه شود و عدم تمایل بیمار به ادامه‌ی همکاری در مطالعه، می‌باشند. جهت کاهش تأثیر میزان تابش نور خورشید به عنوان یک عامل مخدوشگر بر سطوح سرمی ویتامین D3 در بیماران، کلیه‌ی بیماران اهل و ساکن اصفهان جهت ورود به مطالعه انتخاب شدند و سطح سرمی ویتامین D3 آنان اندازه‌گیری شد.

اطلاعات دموگرافیک، رژیم غذایی، علائم بالینی بیمار، سابقه‌ی بیماری‌های قبلی و فعلی، سابقه‌ی هر گونه مصرف داروهای قبلی و فعلی با تمرکز ویژه بر شرایطی که با سطح سرمی ویتامین D3 در ارتباط است، در اولین مراجعه‌ی بیمار به پزشک ثبت شد.

از بیماران شرکت کننده، نمونه‌ی خون ناشتا (بیشتر از ۸ ساعت) جمع‌آوری شد. فرایند نمونه‌گیری در تمامی بیماران توسط یک پرستار مجرب، با استفاده از کیت اندازه‌گیری و طی فرایند واحد صورت گرفت. نمونه‌ها در حالی که در معرض نور خورشید نبودند، در کمتر از یک ساعت به آزمایشگاه انتقال داده شدند. سطح سرمی ۲۵- هیدروکسی ویتامین D3 با کیت رادیوایمونواسی (Radioimmunoassay یا RIA) (USA, Itd, IDS) طبق دستورالعمل تهیه شده توسط کارخانه‌ی سازنده‌ی کیت، اندازه‌گیری شد. در این مطالعه، سطح سرمی ۲۵- هیدروکسی ویتامین D3 را مورد ارزیابی قرار دادیم؛ چرا که از فرم فعال آن (کلسی تریول) نیمه عمر بیشتری دارد و با اطمینان بیشتری نشان دهنده‌ی سطح سرمی ویتامین D3 در افراد است (۱۲). تمامی نمونه‌ها جهت پیش‌گیری از بروز هر گونه خطا دو نوبت از نظر سطح سرمی ویتامین D3 اندازه‌گیری شدند. هم‌زمان با اندازه‌گیری سطح سرمی ویتامین D3، MRI مغز و نخاع در تمام بیماران بر اساس شیوه‌نامه‌ی استاندارد تشخیص بیماری MS جهت کمک به تشخیص CIS توسط نورولوژیست و تطابق علائم بالینی با درگیری سیستم عصبی و تعیین قطعیت درگیری عصب بینایی، نخاع و یا ساقه‌ی مغز انجام شد (۱۳). طرح پژوهشی حاضر، در کمیته‌ی اخلاق دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد تصویب قرار گرفت.

از آن جایی که راهنمای بین‌المللی واحدی برای پایین‌ترین حد طبیعی ویتامین D3 منتشر نشده است و با توجه به این که این میزان،

آغاز می‌شود که به آن سندرم ایزوله‌ی کلینیکی (Clinically isolated syndrome یا CIS) می‌گویند. CIS وضعیت بالینی در بیماری است که هنوز معیارهای لازم جهت تشخیص قطعی بیماری MS (بر اساس معیارهای McDonald criteria) را تکمیل نکرده است (۱). سندرم ایزوله‌ی کلینیکی، می‌تواند با تظاهرات کلینیکی درگیری عصب بینایی، نخاع و یا ساقه‌ی مغز همراه باشد (۸). در شمار زیادی از بیماران مبتلا به CIS، با گذر زمان و تحت تأثیر عوامل مختلف و با پیشرفت بیماری، تشخیص MS قطعی می‌شود (۹). بر اساس مطالعات قبلی، کمبود شدید ویتامین D3 در بیماران CIS بسیار شایع است (۱۰). همچنین، بیماران با کمبود شدیدتر ویتامین D3 شانس بیشتری برای بروز حملات بعدی و بیماری شدیدتر داشته‌اند (۱۱-۱۰).

اگر چه در تعبیر کلی، بیماری MS سیستم عصبی مرکزی را درگیر می‌کند، اما این درگیری در مکان‌های مختلفی از سیستم عصبی مرکزی اتفاق می‌افتد که سبب بروز تظاهرات بالینی متفاوت بیماری MS با دامنه‌ی بسیار گسترده از درگیری حرکتی اندام‌ها تا تاری دید و عدم تعادل و بی‌اختیاری ادرار می‌گردد (۱). تا کنون علت مشخصی در رابطه با علت تشکیل پلاک‌های MS در مکان‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی و به دنبال آن، بروز عوامل بالینی مرتبط با قسمت درگیر شده ارایه نشده است. این مطالعه، با هدف بررسی مقایسه‌ای سطح سرمی ویتامین D3 به عنوان یکی از علل احتمالی دخیل در این رابطه در بیماران با اولین حمله‌ی دمی‌لینیتو عصبی با تظاهرات بالینی متفاوت (با درگیری عصب بینایی، نخاع و ساقه‌ی مغز) انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه‌ی مقطعی در تیر ماه تا شهریور ماه ۱۳۹۵ بر روی ۱۰۴ بیمار با اولین حمله‌ی دمی‌لینیتو عصبی و با تشخیص سندرم ایزوله‌ی کلینیکی در سه گروه با تظاهرات بالینی درگیری عصب بینایی، ساقه‌ی مغز و نخاع مراجعه کننده به درمانگاه اصفهان انجام شد. CIS به عنوان اولین علامت مونوفوکال یا مولتی فوکال عصبی که به علت التهاب یا دمی‌لیناسیون (demyelination) در سیستم عصبی مرکزی ایجاد می‌شود و حداقل ۲۴ ساعت طول می‌کشد و عصب بینایی، ساقه‌ی مغز و یا نخاع را درگیر می‌کند، تعریف شده است. تظاهر بالینی درگیری عصب بینایی به عنوان کاهش بینایی یک طرفه یا تاری دید و گاهی همراه با درد با حرکت دادن چشم درگیر، مختل شدن رفلکس قرنیه و از دست دادن دید رنگی تعریف شده است. تظاهر بالینی درگیری نخاع به عنوان حداقل یکی از علائم بی‌حسی بالارونده، پارستزی، هایپرفلکسی، درگیری حرکتی اندام‌ها و درگیری

جدول ۱. فراوانی بیماران (CIS) Clinically isolated syndrome با کمبود ۲۵-هیدروکسی ویتامین D3 با تظاهرات بالینی مختلف

نوع تظاهر بالینی	سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D3 (نانوگرم/میلی لیتر)	تعداد (درصد)
درگیری نخاع	طبیعی (< ۳۰)	۱ (۳)
	کمبود ملایم (25(OH)-D3 < ۳۰ < ۲۰)	۱ (۳)
	کمبود متوسط (25(OH)-D3 < ۲۰ < ۱۰)	۱۴ (۴۰)
درگیری عصب بینایی	کمبود شدید (< ۱۰)	۱۹ (۵۴)
	طبیعی (< ۳۰)	۳ (۹)
	کمبود ملایم (25(OH)-D3 < ۳۰ < ۲۰)	۳ (۹)
درگیری ساقه‌ی مغز	کمبود متوسط (25(OH)-D3 < ۲۰ < ۱۰)	۱۸ (۵۱)
	کمبود شدید (< ۱۰)	۱۱ (۳۱)
	طبیعی (< ۳۰)	۴ (۱۲)
	کمبود ملایم (25(OH)-D3 < ۳۰ < ۲۰)	۶ (۱۸)
	کمبود متوسط (25(OH)-D3 < ۲۰ < ۱۰)	۱۸ (۵۲)
	کمبود شدید (< ۱۰)	۶ (۱۸)

25(OH)-D3: 25-Hydroxy vitamin D3

بالینی درگیری ساقه‌ی مغز) وارد مطالعه‌ی حاضر شدند. ۹۶ بیمار زن و ۸ بیمار مرد بودند. سطح سرمی ویتامین D3 در زنان و مردان تفاوت معنی‌داری نداشت ($P = ۰/۶۰۰$). میانگین سنی بیماران $۷/۴۵ \pm ۲۷/۶۳$ سال بود. میانگین سطح سرمی ویتامین D3 در بیماران $۱۰/۷۲ \pm ۱۴/۶۳$ نانوگرم/میلی لیتر بود.

سطح سرمی ویتامین D3 با افزایش سن به طور معنی‌داری کاهش نشان داد ($P = ۰/۰۲۶$, Pearson correlation = $-۰/۰۱۸$). ۸ بیمار سطوح طبیعی ویتامین D3 داشتند؛ در حالی که ۱۰ بیمار مبتلا به کمبود ملایم، ۵۰ بیمار مبتلا به کمبود متوسط و ۳۶ بیمار مبتلا به کمبود شدید ویتامین D3 بودند (جدول ۱).

سطح سرمی ویتامین D3 در بیماران با تظاهرات بالینی درگیری نخاع، عصب بینایی و ساقه‌ی مغز به ترتیب $۶/۸۲ \pm ۱۱/۳۰$ ، $۱۰/۲۷ \pm ۱۴/۰۰$ و $۱۳/۱۵ \pm ۱۸/۶۵$ نانوگرم/میلی لیتر بود (جدول ۲). سطح سرمی ویتامین D3 به طور معنی‌داری در بیماران با تظاهرات بالینی نخاعی کمتر از بیماران با تظاهرات بالینی ساقه‌ی مغز و درگیری عصب بینایی بود ($P = ۰/۰۱۰$). این تفاوت در بیماران با تظاهرات بالینی ساقه‌ی مغز در مقایسه با بیماران با درگیری عصب بینایی معنی‌دار نبود ($P = ۰/۱۵۰$).

جدول ۲. مقایسه‌ی سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D3 در بیماران (CIS) Clinically isolated syndrome با تظاهرات بالینی متفاوت

نوع تظاهر بالینی	میانگین سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D3 (نانوگرم/میلی لیتر)
درگیری نخاع	$۱۱/۳ \pm ۶/۸۲$
درگیری عصب بینایی	$۱۴/۰۰ \pm ۱۰/۲۷$
درگیری ساقه‌ی مغز	$۱۸/۶۵ \pm ۱۳/۱۵$

$P < ۰/۰۵۰$

می‌تواند تحت تأثیر نژادهای مختلف و مناطق جغرافیایی با میزان تابش متغیر خورشید، متفاوت باشد؛ در این مطالعه از راهنمایی که به تازگی در مورد شیوع کمبود ویتامین D3 منتشر شده بود، استفاده گردید (۱۴). بر این اساس، تمامی نمونه‌ها در چهار گروه طبیعی (بالای ۳۰ نانوگرم/میلی لیتر)، کمبود ملایم (۲۰-۳۰ نانوگرم/میلی لیتر)، کمبود متوسط (۱۰-۲۰ نانوگرم/میلی لیتر) و کمبود شدید ویتامین D3 (کمتر از ۱۰ نانوگرم/میلی لیتر) طبقه‌بندی شدند.

داده‌های مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد آنالیز قرار گرفت. اعداد برای متغیرهای کیفی به صورت درصد و برای متغیرهای کمی به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است. آزمون آماری Kolmogorov-Smirnov برای ارزیابی توزیع طبیعی متغیرها، آزمون آماری One-way ANOVA و آزمون تعقیبی LSD) Least significant difference) برای مقایسه‌ی سطح سرمی ویتامین D3 در گروه‌های مختلف با اولین حمله‌ی عصبی مورد استفاده قرار گرفت. تمام آزمون‌های آماری دو دامنه بودند و $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سطوح اندازه‌گیری شده‌ی ویتامین D3 در تمام بیماران در هر دو نوبت یکسان بود. سطح سرمی ویتامین D3 در ۱۰۹ بیمار اندازه‌گیری شد که در نهایت، سه بیمار به علت عدم تطابق یافته‌های بالینی با MRI و دو بیمار به علت اعلام عدم تمایل جهت ادامه‌ی همکاری برای شرکت در مطالعه، از مطالعه خارج گشتند.

در نتیجه، ۱۰۴ بیمار (۳۵ بیمار با تظاهر بالینی درگیری عصب بینایی، ۳۵ بیمار با تظاهر بالینی درگیری نخاع و ۳۴ بیمار با تظاهر

بحث

پژوهش‌های منتشر شده، نقش ویتامین D3 را در ریشه‌شناسی و آسیب‌زایی بیماری MS تأیید کرده‌اند (۷). مطالعات بالینی نشان داده‌اند که کمبود ویتامین D3 در بیماران مبتلا به MS با افزایش تعداد حملات و پلاک‌های بیماری همراه است. به علاوه، در مرحله‌ی حمله، سطوح ویتامین D3 پایین‌تر از مرحله‌ی بهبودی گزارش شده است (۶).

به نظر می‌رسد سطح سرمی ویتامین D3 با خطر بالاتر ابتلا به MS در آینده همراه است (۲). همچنین، بیماران CIS با سطوح پایین‌تر ویتامین D3، شانس بیشتری برای پیشرفت بیماری تا رسیدن به مرحله‌ی تشخیص قطعی MS داشته‌اند (۱۱). نتایج بیان شده، همه حاکی از نقش بارز ویتامین D3 از مراحل اولیه‌ی بروز بیماری می‌باشد. بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، بیماران CIS با تظاهر بالینی درگیری نخاعی، سطح سرمی ویتامین D3 پایین‌تری نسبت به بیماران با تظاهرات بالینی درگیری عصب بینایی و ساقه‌ی مغز داشتند. به علت آن که مطالعه‌ی مشابه دیگری در این زمینه صورت نگرفته است و نظریه‌ای در رابطه با این که «چرا پلاک‌های MS مکان‌های مختلفی از سیستم عصبی مرکزی را درگیر می‌کنند؟» وجود ندارد، نتیجه‌گیری امر دشواری است.

با توجه به این که طبق مطالعات قبلی مکانیسم‌های مولکولی دخیل در رابطه با ویتامین D3 و میزان بیان ژن گیرنده‌های ویتامین D3 در سلول‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی متفاوت می‌باشد، این مسأله می‌تواند به عنوان یکی از علل احتمالی دخیل مطرح گردد. ویتامین D3، از سد خونی-مغزی عبور می‌کند. پاسخ CNS به ویتامین D3 در شرایط التهاب عصبی افزایش می‌یابد (۱۵). فرم فعال آن (۲۵- هیدروکسی ویتامین D)، از طریق گیرنده‌ی درون سلولی ویتامین D (Vitamin D3 receptor یا VDR) تأثیر خود را اعمال می‌کند. VDR در نورون‌ها و سلول‌های گلیال حضور دارد (۱۶). سلول‌های عصبی بنیادی، VDR را بیان می‌کنند و سطوح بیشتر ویتامین D3 به طور قابل ملاحظه‌ای این بیان را افزایش می‌دهد (۱۷). کمبود ویتامین D3، باعث کاهش سرعت تمایز الیگودندروسیت‌ها، افزایش آپوپتوز، آسیب آکسونی و دمی‌لینیشن می‌شود (۱۸). VDR روی بیان بیش از ۲۰۰ ژن تأثیر می‌گذارد که برخی از جمله HLA-DRB1*15 به عنوان یک عامل خطر ابتلا به MS شناخته شده‌اند (۱۹).

با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر، بررسی تفاوت‌های مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با ویتامین D3 در سلول‌های عصبی واقع در مکان‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی، می‌تواند محور توجه مطالعات بعدی قرار گیرد. در مطالعه‌ی حاضر، محدودیت‌هایی وجود داشت. ماهیت مقطعی مطالعه و عدم پی‌گیری بیماران در مراجعات بعدی، مانع بررسی نتایج بیشتر در سیر پیشرفت بیماری شد.

در مطالعه‌ی حاضر، اگر چه سطح سرمی ویتامین D3 در زنان کمتر از مردان بود، اما این تفاوت معنی‌دار نبود. مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی سطح سرمی ویتامین D3 بر اساس جنسیت صورت نگرفته است. از این رو، حجم نمونه‌ی موجود (۹۶ زن و ۸ مرد) جهت انجام مقایسه قابل اطمینان نمی‌باشد. مطالعات قبلی شیوع بیشتر کمبود ویتامین D3 و MS را در زنان گزارش داده‌اند. نتایج مطالعاتی که تا کنون در مورد تأثیر حجاب بر سطح سرمی ویتامین D3 منتشر شده است، ضد و نقیض می‌باشد. در حالی که برخی مطالعات، از تأثیر حجاب بر کاهش سطح سرمی ویتامین D3 گزارش می‌دهند، مطالعات دیگری، حاکی از آن هستند که حجاب، تأثیری بر سطح سرمی ویتامین D3 ندارد و در معرض قرار گرفتن قرص کامل صورت و کف دست‌ها در مقابل خورشید برای تأمین میزان مورد نیاز ویتامین D3 کفایت می‌کند. در طی سال‌های اخیر، تغییر شیوه‌ی زندگی و کمتر قرار گرفتن در معرض نور خورشید با افزایش گرایش به آپارتمان نشینی، استفاده‌ی گسترده از ضد آفتاب به علت ترس از ابتلا به سرطان پوست و افزایش پیش‌رونده‌ی آلودگی هوا از عوامل کاهنده‌ی سطح ویتامین D3 در بدن بوده‌اند (۲۰).

به طور خلاصه، در مطالعه‌ی حاضر، سطوح مختلف ویتامین D3 در بیماران، با درگیری مکان‌های مختلف از سیستم عصبی مرکزی همراه بود. نتایج این مطالعه در تأیید نقش مهم ویتامین D3 در مراحل ابتدایی ابتلا به بیماری می‌باشد. مطالعات تجربی و بالینی با هدف بررسی مکانیسم‌های مولکولی دخیل و با تأکید بر مقایسه‌ی میزان بیان VDR در سلول‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مطالعه از بیماران مبتلا به MS که در این مطالعه شرکت نمودند، کمال قدردانی و تشکر را دارند. این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی دانشجویی مصوب در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره‌ی ۱۹۲۰۷۶ می‌باشد.

References

- Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 2011; 69(2): 292-302.
- McKay KA, Jahanfar S, Duggan T, Tkachuk S, Tremlett H. Factors associated with onset, relapses or

- progression in multiple sclerosis: A systematic review. *Neurotoxicology* 2017; 61: 189-212.
- Hartl C, Obermeier V, Gerdes LA, Brugel M, von KR, Kumpfel T. Seasonal variations of 25-OH vitamin D serum levels are associated with clinical disease activity in multiple sclerosis patients. *J Neurol Sci* 2017; 375: 160-4.
 - Bhargava P, Steele SU, Waubant E, Revirajan NR, Marcus J, Dembele M, et al. Multiple sclerosis patients have a diminished serologic response to vitamin D supplementation compared to healthy controls. *Mult Scler* 2016; 22(6): 753-60.
 - Pakpoor J, Ramagopalan S. Evidence for an association between vitamin D and multiple sclerosis. *Curr Top Behav Neurosci* 2015; 26: 105-15.
 - Rito Y, Flores J, Fernandez-Aguilar A, Escalante-Membrillo C, Barboza MA, Amezcua L, et al. Vitamin D and disability in relapsing-remitting multiple sclerosis in patients with a Mexican background. *Acta Neurol Belg* 2017.
 - Alharbi FM. Update in vitamin D and multiple sclerosis. *Neurosciences (Riyadh)* 2015; 20(4): 329-35.
 - Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O. Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol* 2012; 11(2): 157-69.
 - Kuhle J, Disanto G, Dobson R, Adiatori R, Bianchi L, Topping J, et al. Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: A large multicentre study. *Mult Scler* 2015; 21(8): 1013-24.
 - Muris AH, Rolf L, Broen K, Hupperts R, Damoiseaux J, Smolders J. A low vitamin D status at diagnosis is associated with an early conversion to secondary progressive multiple sclerosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2016; 164: 254-7.
 - Mowry EM, Pelletier D, Gao Z, Howell MD, Zamvil SS, Waubant E. Vitamin D in clinically isolated syndrome: evidence for possible neuroprotection. *Eur J Neurol* 2016; 23(2): 327-32.
 - Bettencourt A, Boleixa D, Reguengo H, Samoes R, Santos E, Oliveira JC, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in multiple sclerosis patients from the north of Portugal. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2017. [Epub ahead of print].
 - Simon JH, Li D, Traboulsee A, Coyle PK, Arnold DL, Barkhof F, et al. Standardized MR imaging protocol for multiple sclerosis: Consortium of MS Centers consensus guidelines. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006; 27(2): 455-61.
 - Hovsepian S, Amini M, Aminorroaya A, Amini P, Iraj B. Prevalence of vitamin D deficiency among adult population of Isfahan City, Iran. *J Health Popul Nutr* 2011; 29(2): 149-55.
 - Yeshokumar AK, Saylor D, Kornberg MD, Mowry EM. Evidence for the Importance of Vitamin D Status in Neurologic Conditions. *Curr Treat Options Neurol* 2015; 17(12): 51.
 - Bermudez-Morales VH, Fierros G, Lopez RL, Martinez-Nava G, Flores-Aldana M, Flores-Rivera J, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with multiple sclerosis in Mexican adults. *J Neuroimmunol* 2017; 306: 20-4.
 - Shirazi HA, Rasouli J, Ciric B, Rostami A, Zhang GX. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 enhances neural stem cell proliferation and oligodendrocyte differentiation. *Exp Mol Pathol* 2015; 98(2): 240-5.
 - Sandberg L, Bistrom M, Salzer J, Vagberg M, Svenningsson A, Sundstrom P. Vitamin D and axonal injury in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2016; 22(8): 1027-31.
 - Ramagopalan SV, Byrnes JK, Dyment DA, Guimond C, Handunnetthi L, Disanto G, et al. Parent-of-origin of HLA-DRB1*1501 and age of onset of multiple sclerosis. *J Hum Genet* 2009; 54(9): 547-9.
 - Etemadifar M, Sajjadi S, Nasr Z, Firoozeei TS, Abtahi SH, Akbari M, et al. Epidemiology of multiple sclerosis in Iran: a systematic review. *Eur Neurol* 2013; 70(5-6): 356-63.

Serum Levels of 25(OH) Vitamin D₃ and Clinical Manifestation of First Demyelinating Attack

Zahra Nasr¹, Masoud Etemadifar², Mojtaba Akbari³

Original Article

Abstract

Background: Multiple sclerosis (MS) is a common demyelinating disease of the central nervous system. The role of vitamin D against onset and progression of multiple sclerosis is well-recognized. In this study, we evaluated the serum levels of 25(OH) vitamin D₃ in patients with clinically isolated syndrome with the manifestation of optic neuritis, brain stem, and spinal cord syndrome.

Methods: In this cross sectional study, a total of 104 cases were enrolled (35 patients with optic neuritis, 35 patients with spinal cord syndrome, and 34 patients with brain stem syndrome). The serum levels of 25(OH) vitamin D₃ were measured in all patients.

Findings: Mean serum level of 25(OH) vitamin D₃ was 11.30 ± 6.82 , 14.00 ± 10.27 , and 18.65 ± 13.15 ng/ml in patients with spinal cord syndrome, optic neuritis, and brain stem syndrome, respectively. Serum level of 25(OH) vitamin D₃ was significantly lower in patients with spinal cord syndrome in comparison to patients with optic neuritis or brain stem syndrome ($P = 0.010$).

Conclusion: According to previous studies, the association between poor serum levels of 25-OH vitamin D₃ and increased relapse rate and magnetic resonance imaging (MRI) lesions in patients with multiple sclerosis has been reported. Furthermore, lower 25-OH vitamin D₃ levels are associated with increased risk of the disease later in life. In our study, different serum levels of 25-OH vitamin D₃ was associated with variable clinical manifestations of the disease. The status of 25-OH vitamin D₃ appears to play an important role since the very early stages of disease.

Keywords: Multiple Sclerosis, Clinically isolated CNS demyelinating syndrome, Vitamin D

Citation: Nasr Z, Etemadifar M. Serum Levels of 25(OH) Vitamin D₃ and Clinical Manifestation of First Demyelinating Attack. J Isfahan Med Sch 2018; 36(465): 22-7.

1- Student of Medicine, Isfahan Neuroscience Research Center AND Isfahan Research Committee of Multiple Sclerosis, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Professor, Isfahan Neuroscience Research Center AND Isfahan Research Committee of Multiple Sclerosis, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

Corresponding Author: Zahra Nasr, Email: zahranasr1@yahoo.com

بررسی ویژگی‌های میکروبیولوژیک و سرولوژیک طغیان مننژیت در یک اردوگاه در استان اصفهان ۹۶-۱۳۹۵

رضا خدیوی^۱، رضا فدایی^۱، محمد کنعانی^۲، فضل‌اله فاتحی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مننژیت مننگوکوکی یک معضل مهم بهداشتی در مناطق گرمسیری از جمله ایران می‌باشد که شناسایی نوع سروگروپ درگیر کننده جهت انجام برنامه‌های غربالگری امری ضروری است. بنابراین، هدف از انجام این مطالعه، بررسی ویژگی‌های میکروبیولوژیک و سرولوژیک طغیان مننژیت در یک اردوگاه در استان اصفهان ۹۶-۱۳۹۵ بود.

روش‌ها: این مطالعه، از نوع مقطعی بود که بر روی ۵۱ بیمار مبتلا به مننژیت مننگوکوکی انجام گرفت. پس از ثبت اطلاعات دموگرافیک، متغیرهای مختلف نظیر سابقه‌ی واکسیناسیون و پروفیلاکسی، نتیجه‌ی Lumbar puncture (LP)، نتیجه‌ی کشت خون و مقاوت آنتی‌بیوتیکی ثبت شد. آمارهای به دست آمده، به صورت فراوانی و میانگین گزارش شد.

یافته‌ها: ۳۱/۴ درصد افراد واکسیناسیون شده بودند و ۷۶/۵ درصد کمپروفیلاکسی دریافت کرده بودند. در کشت CSF (CSF) Cerebrospinal fluid ۸۰/۴۸ درصد موارد منفی بوده و تنها ۴/۸۷ درصد موارد Viridans streptococci و ۱۴/۵۳ درصد Neisseria meningitidis رشد نمود و همچنین، در بررسی خون و کشت خون ۷۴/۵ درصد موارد منفی، ۲۳/۵ درصد موارد Neisseria meningitidis و ۲/۰ درصد موارد Staphylococcus epidermidis به دست آمد. همچنین، تمام سروگروپ‌های به دست آمده از نوع سروگروپ B بود.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های این مطالعه، بروز مننژیت حتی در بیمارانی که پروفیلاکسی استاندارد و واکسن ضد مننگوکوک دریافت کرده بودند نیز بالا می‌باشد و از طرفی، تمام افراد دارای سروگروپ B بودند. از این رو، پیشنهاد می‌شود اقدامات پیش‌گیرانه نظیر استفاده از واکسیناسیون‌ها و پروفیلاکسی‌های مؤثر بر سروگروپ B با جدیت بیشتری انجام شود.

واژگان کلیدی: مننژیت مننگوکوکی، طغیان، سروگروپ B

ارجاع: خدیوی رضا، فدایی رضا، کنعانی محمد، فاتحی فضل‌اله. بررسی ویژگی‌های میکروبیولوژیک و سرولوژیک طغیان مننژیت در یک اردوگاه در

استان اصفهان ۹۶-۱۳۹۵. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۵): ۳۴-۲۸

مقدمه

مننژیت مننگوکوکی، یک معضل مهم بهداشتی در مناطق گرمسیری به ویژه بخش‌هایی از آفریقا و آمریکای لاتین است. بروز این اپیدمی‌ها به دلیل کاهش مصونیت جمعیت، فراهم شدن شرایط انتشار عامل بیماری‌زا در فصل خشک، شب‌های سرد و تراکم جمعیت خانوارها است. میزان کشندگی و احتمال بروز همه‌گیری‌های وسیع بیماری بالا می‌باشد. در عین حال، امکان پیش‌گیری از بیماری نیز با انجام واکسیناسیون و رعایت بهداشت فردی وجود دارد. عامل بیماری

Neisseria meningitidis است. Neisseria meningitidis، دیپلوکوک‌های گرم منفی، هوازای و دارای کپسول هستند. مننگوکوک‌ها را از نظر سروگروپ‌ها، سروتایپ‌ها، ساب‌تایپ‌ها، ایمنوتایپ‌ها و تایپ‌های الکتروفورز آنزیمی دسته‌بندی نموده‌اند. ۱۲ نوع مننگوکوک که سروگروپ نام دارند، شناخته شده‌اند که ۶ نوع آن (A, B, C, W, X و Y) می‌تواند باعث ایجاد اپیدمی شود.

شایع‌ترین سروگروپ‌های مننژیت مننگوکوکی شامل سروگروپ‌های A, B و C می‌باشند که بر اساس گزارش سازمان

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

۲- متخصص بیماری‌های عفونی، گروه مبارزه با بیماری‌ها، مرکز بهداشت استان اصفهان، اصفهان، ایران

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

۴- پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤؤل: محمد کنعانی

بیماری *Neisseria meningitidis* بود (۱۰).

در پی بروز موارد متعدد بیماری مننژیت مننگوکوکی در یک اردوگاه در استان اصفهان و از طرف دیگر، بروز بیماری مننژیت مننگوکوکی در افراد حاضر در آن محیط، با وجود سابقه انجام واکسیناسیون ضد مننگوکوک و همچنین، گرفتن کمپروبیلاکسی استاندارد، به نظر می‌رسد واکسن موجود ضد مننگوکوک در کشور و کمپروبیلاکسی استاندارد توصیه شده، در پیش‌گیری از مننژیت در محیط‌های خاص، از اثربخشی لازم برخوردار نیست. از این رو، مطالعه‌ی حاضر به منظور تبیین نوع سروگروپ مسؤل این طغیان و وجود یا عدم وجود مقاومت *Neisseria meningitidis* به آنتی‌بیوتیک‌های مصرف شده طبق شیوه‌نامه‌ی استاندارد کمپروبیلاکسی از مننژیت مننگوکوکی -ابلاغ شده از سوی اداره‌ی کل مدیریت بیماری‌های وزارت متبوع- انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه‌ی مقطعی (Cross sectional study) بود که از فروردین ماه سال ۱۳۹۵ شروع و تا آبان ماه سال ۱۳۹۶ ادامه داشت. در این مطالعه، کلیه‌ی افرادی که در یک اردوگاه در استان اصفهان در ۲ سال گذشته با یکدیگر زندگی می‌کردند و مبتلا به مننژیت شدند، وارد مطالعه شدند. بلافاصله بعد از شروع اولین موارد مننژیت در شهریور سال ۱۳۹۵، افراد مستقر در این اردوگاه، به تنوع واکسیناسیون ضد مننژیت و کمپروبیلاکسی قرار گرفتند. بیمارانی که در این کانون جمعی مستقر بودند و بعد از انجام اولین مداخله‌ی واکسیناسیون و کمپروبیلاکسی ضد مننژیت، بر اساس کشت مایع مغزی- نخاعی، تشخیص مننژیت برای آن‌ها قطعی شده بود، وارد مطالعه شدند و تحت پی‌گیری قرار گرفتند. حجم نمونه‌ی مورد نیاز این مطالعه، شامل همه‌ی افراد مقیم در این مکان جمعی بود که مبتلا به مننژیت شده بودند. نمونه‌گیری به صورت غیر احتمالی و متوالی شامل کلیه‌ی افراد بود.

معیارهای ورود شامل کلیه‌ی افرادی بود که در یک اردوگاه در استان اصفهان در ۲ سال گذشته با یکدیگر زندگی می‌کردند و مبتلا به مننژیت شده بودند و برای شرکت در مطالعه رضایت داشتند. معیار خروج از مطالعه، شامل نقص در اطلاعات مورد بررسی بود.

بعد از انجام هماهنگی‌های لازم، با مراجعه‌ی پژوهشگر به مراکز درمانی اصفهان، بیماران مراجعه کننده به علت مننژیت در ۲ سال گذشته انتخاب شدند و پس از بررسی پرونده، با استفاده از چک لیست‌های استاندارد (صادر از طرف اداره‌ی کل مدیریت بیماری‌های واکسیناسیون و زارخانه‌ی متبوع)، داده‌های مربوط به خصوصیات دموگرافیک بیماران، بروز بیماری در هر ماه و هر فصل سال و همچنین، داده‌های

جهانی بهداشت (World health organization یا WHO) در سال ۲۰۱۷، بیشترین اپیدمی‌های به وقوع پیوسته در منطقه‌ی آفریقا مربوط به سروگروپ A می‌باشد، اما در حال حاضر، اپیدمی‌های وسیع، مربوط به سروگروپ C می‌باشد (۴-۱).

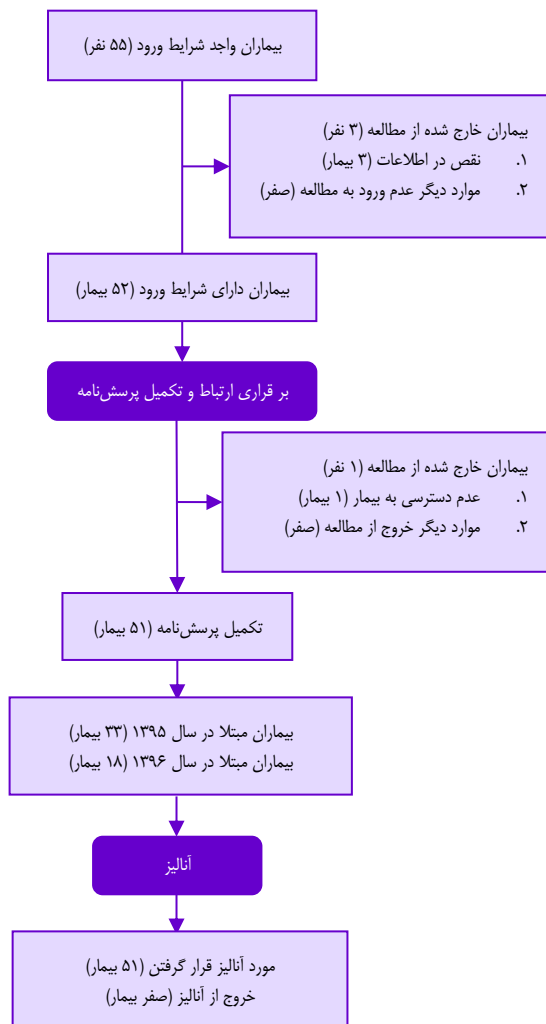
توزیع بیماری مننژیت مننگوکوکی، جهانی است. هنگامی که ارتباط بین میزان، عامل بیماری‌زا و محیط در جهت تسهیل در انتشار عفونت باشد، اپیدمی‌هایی ظاهر می‌شود. بیماری مننژیت مننگوکوکی در ایالات متحده‌ی آمریکا به صورت بومی است. سالیانه، حدود ۲۵۰۰ مورد به مرکز کنترل بیماری‌های واکسیناسیون آمریکا گزارش می‌شود. میزان بروز سالانه، ۱ در ۱۰۰۰۰۰ نفر جمعیت آمریکا است. مننژیت مغزی- نخاعی در قاره‌ی آفریقا هر ساله، همه‌گیری در ماه‌های خشک زمستان روی می‌دهد و ۵-۳ ماه بعد از آن در فصل بارانی متوقف می‌شود. در مناطقی که همه‌گیری مننژیت‌های مننگوکوکی مشاهده نمی‌شود، باکتری‌های دیگری نظیر *Pneumococ* ها و *Haemophilus influenzae* سبب مننژیت می‌شوند (۶-۵).

در مطالعه‌ی مروری که توسط حوری و همکاران با هدف بررسی اپیدمی‌های مننژیت باکتریال در ایران انجام شد، مشاهده گردید که ۱۳ درصد موارد مننژیت باکتریایی، حاصل از مننژیت مننگوکوکی می‌باشد و این در حالی است که واکسن‌های استفاده شده در ایران دارای سروگروپ‌های A، C، Y و W135 می‌باشد و با توجه به این که در ایران این واکسن تنها پیش از سفرهای خارجی (به خصوص به حج) و نیز در سربازان تازه وارد مورد استفاده قرار می‌گیرد، بیان کردند که علت بروز این عامل در ایران ناشی از عدم استفاده‌ی همگانی این نوع واکسن می‌باشد (۷).

همه‌گیری‌های بزرگ بیماری ناشی از مننگوکوک‌های گروه A می‌باشند که بیشترین میزان بروز آن در کمربند مننژی آفریقا گزارش شده است که از سال ۲۰۱۰ و پس از استفاده‌ی مؤثر از واکسن کونزوگه علیه سروگروپ A، در حال حاضر بیشتر اپیدمی‌ها در این منطقه ناشی از سروگروپ C می‌باشد (۴). اپیدمی‌های مننژیت در مقیاس بزرگ به تنوع در آفریقا، بخش‌هایی از آسیا، آمریکای جنوبی و کشورهای شوروی سابق اتفاق افتاده است. بیشتر این اپیدمی‌ها توسط سروگروپ A و در برخی موارد سروگروپ C از جمله *Neisseria meningitidis* به وقوع پیوسته است. بزرگ‌ترین طغیان ناشی از سروگروپ C مننگوکوک در سال ۲۰۱۵ در کمربند مننژیت آفریقا به وقوع پیوست. ۸۵۰۰ مورد مشکوک به مننژیت و ۵۷۳ مورد مرگ توسط WHO گزارش شد (۹-۸).

در مطالعه‌ای که در ایران صورت گرفت، مشخص شد که طغیان‌های مننژیت دارای عوارض بالایی می‌باشد و سبب مرگ بیش از ۸ درصد افراد شد و مشخص گردید که در ۲۷ درصد موارد، عامل

(۷۰-۰ درصد)، میانگین پروتئین برابر با ۳۰۲ میلی گرم/دسی لیتر (۶۱۰-۱۹ میلی گرم/دسی لیتر) و میانگین گلوکز برابر با ۲۷/۴۸ میلی گرم/دسی لیتر (۷۸-۱۰ میلی گرم/دسی لیتر) به دست آمد (جدول ۱).



شکل ۱. فلوچارت مطالعه

منتج از بررسی های آزمایشگاهی نظیر گونه‌ی عامل مننژیت، سروگروپ باکتری و همچنین، حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها، داده‌های مربوط به مدت اقامت بیماران در بیمارستان و نتایج اقدامات درمانی (بهبودی/مهرگ) جمع‌آوری شد.

مطالعه‌ی حاضر یک مطالعه‌ی مقطعی بود که از بازه‌ی زمانی فروردین ماه ۱۳۹۵ تا آبان ماه ۱۳۹۶ انجام شد؛ از این رو، تعدادی از بیماران که قبل از شروع مطالعه، تحت درمان قرار گرفته و مرخص شده بودند، با استفاده از پرونده‌ی ایشان و برقراری تماس تلفنی، برای مصاحبه و تکمیل پرونده دعوت شدند. گروه دیگر بیماران نیز که از زمان شروع مطالعه به بعد مراجعه کردند، با هماهنگی‌های صورت گرفته با پزشک و بخش‌های مربوط جهت تکمیل پرونده و مصاحبه‌ی حضوری دعوت شدند. فلوچارت مطالعه در شکل ۱ آمده است.

تمام اطلاعات بیماران شامل عوامل دموگرافیک و علائم پیراابالینی در چک لیست ساخته شده توسط مجری ثبت گردید و وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) شد.

یافته‌ها

از میان ۵۱ بیماری که وارد این مطالعه شدند، همه‌ی افراد (۱۰۰ درصد) دارای جنسیت مرد بودند. میانگین سن افراد مورد مطالعه برابر با $9/80 \pm 33/49$ سال (۶۴-۱۸ سال) بود. مدت اقامت بیماران در کانون کلونی برابر با $51/16 \pm 53/10$ روز (۲۰۴-۱ روز) بود. میانگین مدت زمان بستری در بیمارستان برابر با $13/52 \pm 1/57$ روز) بود. ۴۱ بیمار (۸۰/۳۹ درصد) تحت انجام Lumbar puncture (LP) قرار گرفته بودند که میانگین گلبول سفید خون (White blood cell یا WBC) در مایع مغزی- نخاعی مورد آزمایش، برابر با $6945/53 \pm 38600$ (در میلی متر مکعب) بود. میانگین Polymorphonuclear neutrophil (PMN) برابر با $74/14 \pm 31/10$ درصد (۹۵-۰ درصد)، میانگین لنفوسیت برابر با $13/65 \pm 14/53$ درصد (۷۰-۰ درصد)، میانگین پروتئین برابر با $302/00 \pm 187/76$ (mg/dl) (۶۱۰-۱۹ mg/dl) و میانگین گلوکز برابر با $27/48 \pm 21/62$ (mg/dl) (۲۷/۴۸-۲۱/۶۲ mg/dl) بود.

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار متغیرهای دموگرافیک و آزمایشگاهی در بیماران مبتلا به مننژیت در سال‌های ۹۶-۱۳۹۵

متغیر	کمینه	بیشینه	میانگین \pm انحراف معیار
سن (سال)	۱۸	۶۴	$33/49 \pm 9/80$
مدت اقامت در کانون جمعی (روز)	۱	۲۰۴	$53/10 \pm 51/16$
مدت بستری (روز)	۱	۵۷	$13/52 \pm 1/57$
نتیجه‌ی Lumbar puncture	۰	۳۸۶۰۰	$6945/53 \pm 9530/06$
Polymorphonuclear leukocytes (درصد)	۰	۹۵	$74/14 \pm 31/10$
لنفوسیت (درصد)	۰	۷۰	$13/65 \pm 14/53$
پروتئین (mg/dl)	۱۹	۶۱۰	$302/00 \pm 187/76$
گلوکز (mg/dl)	۱۰	۸۷	$27/48 \pm 21/62$

حساسیت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که بیشترین مقاومت در بیماران مربوط به پنی‌سیلین G (۱۰۰ درصد مقاومت) و کوتریموکسازول (۸۰ درصد مقاومت) بوده است. در بررسی خون و کشت خون صورت گرفته، مشخص شد که ۷۴/۵ درصد موارد منفی، ۲۳/۵ درصد موارد *Neisseria meningitidis* و ۲/۰ درصد موارد *Staphylococcus epidermidis* به دست آمد (جدول ۲). در بررسی سروگروپ‌های به دست آمده از مجموع افراد مورد مطالعه، تمام سروگروپ‌های به دست آمده از نوع سروگروپ B بودند. بنابراین، از ۵۱ بیماری که وارد مطالعه شدند، ۱۳ نفر کشت خون مثبت داشتند که در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشخص شد و بیشترین فراوانی مقاومت در کلیندامایسین (۱۰۰ درصد) و در ایترومایسین (۱۰۰ درصد) و در درجه‌ی بعد کوتریموکسازول (۸۵/۷۱ درصد) و در نهایت، پنی‌سیلین G (۵۰ درصد) بود. در بررسی به عمل آمده، مشخص شد که از ۵۱ بیمار مورد مطالعه، تنها ۳ مورد (۵/۹ درصد) نمودند و بقیه‌ی موارد بهبودی کامل داشتند. همچنین، در مطالعه‌ی حاضر مشخص شد که بیشترین فراوانی بروز مننژیت در ماه‌های خرداد (۱۱ مورد) و شهریور (۱۰ مورد) بود (شکل ۲).

از ۵۱ بیماری که وارد مطالعه شدند، اعتیاد در ۴۵/۱ درصد بیماران وجود داشت و در بیماران مورد مطالعه، ۱۴/۲۸ درصد بیماران دارای بیماری زمینه‌ای که شامل ۲ مورد سابقه‌ی تشنج، ۲ مورد دیابت، دو مورد بیماری قلبی (یک مورد سابقه‌ی سکته‌ی قلبی و یک مورد اختلال مادرزادی دریچه‌ی میترا) و یک مورد فشار خون بالا بود. همچنین، در مطالعه‌ی حاضر، مشخص شد که ۳۱/۴ درصد افراد واکسیناسیون شده بودند و ۷۶/۵ درصد کمپروویلاکسی دریافت کرده بودند. مایع خارج شده در طی LP در ۲۴/۳۹ درصد موارد نیمه شفاف و در ۵۳/۶۵ درصد موارد کدر بود. در بررسی اسمیر *Cerebrospinal fluid* (CSF) مشخص شد که ۷۵/۶ درصد موارد منفی بوده است. ۱۷/۰۷ درصد موارد کوکسی گرم منفی، ۴/۸۷ درصد موارد کوکسی گرم مثبت و ۲/۴۳ درصد موارد دیپلوکوک گرم منفی تشخیص داده شد. در ادامه، با کشت CSF مشخص شد که ۸۰/۴۸ درصد موارد منفی بودند و تنها ۴/۸۷ درصد موارد *Viridans streptococci* و ۱۴/۵۳ درصد *Neisseria meningitidis* رشد نمود (جدول ۲). از این رو، در کل از مجموع ۴۱ بیمار که برای آن‌ها کشت CSF صورت گرفت، تنها ۸ مورد مثبت بودند و برای آن‌ها آنتی‌بیوتیک شروع شد. بنابراین،

جدول ۲. فراوانی متغیرهای دموگرافیک و آزمایشگاهی در بیماران مبتلا به مننژیت در سال‌های ۹۶-۱۳۹۵

متغیر	تعداد (درصد)
اعتیاد	۲۳ (۴۵/۱۰)
دارای بیماری زمینه‌ای	۶ (۱۴/۲۸)
واکسیناسیون	۱۶ (۳۱/۴۰)
کمپروویلاکسی	۳۹ (۷۶/۵۰)
ظاهر Lumbar puncture (LP)	۹ (۲۱/۹۵)
نیمه شفاف	۱۰ (۲۴/۳۹)
کدر	۲۲ (۵۳/۶۵)
اسمیر Cerebrospinal fluid	۳۱ (۷۵/۶۰)
کوکسی گرم منفی	۷ (۱۷/۰۷)
کوکسی گرم مثبت	۲ (۴/۸۷)
دیپلوکوک گرم منفی	۱ (۲/۴۳)
کشت CSF	۳۳ (۸۰/۴۸)
منفی	۲ (۴/۸۷)
<i>Viridans streptococci</i>	۶ (۱۴/۳۳)
<i>Neisseria meningitidis</i>	۳۸ (۷۴/۵۰)
کشت خون	۱۲ (۲۳/۵۰)
منفی	۱ (۲/۰۰)
<i>Neisseria meningitidis</i>	۴۸ (۹۴/۱۰۰)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	۳ (۵/۹۰)
نتیجه‌ی درمان	۴۸ (۹۴/۱۰۰)
بهبودی	۳ (۵/۹۰)
فوت	

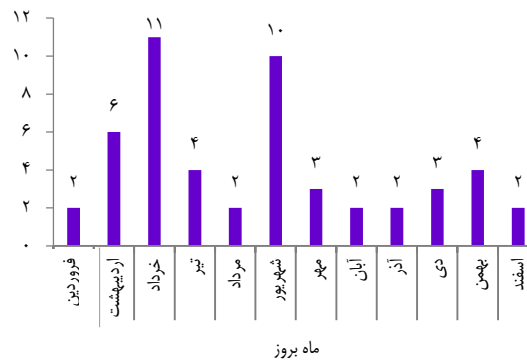
از سرگروپ B بوده است (۱۱). همچنین، در سال ۲۰۱۳، ۸ مورد عفونت ناشی از سرگروپ B در دانشگاه Princeton ایالت New Jersey اتفاق افتاد (۱۲). در نوامبر ۲۰۱۳، ۳ مورد عفونت ناشی از سرگروپ B در دانشگاه Santa Barbara ایالت California به وقوع پیوست و در ژانویه ۲۰۱۶، ۳ مورد عفونت ناشی از سرگروپ B در دانشگاه Santa Clara تشخیص داده شد (۱۳). نتایج به دست آمده از این مطالعات، همسو با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌باشد.

یک مطالعه‌ی مروری که در مورد بروز جهانی عفونت ناشی از سرگروپ B منگوکوک انجام شد، بروز سالانه‌ی کمتر از ۲ در ۱۰۰۰۰۰ نفر را در بیشتر کشورها نشان داد. با این وجود، تفاوت قابل توجهی بین کشورها وجود داشت. موارد بروز بیماری به صورت بارزی در استرالیا، اروپا، آمریکای جنوبی و آمریکای شمالی بیشتر بود. چین و هند تنها موارد اسپورادیک را گزارش کردند و به جز آفریقای جنوبی، در جنوب صحرای آفریقا تعداد موارد بروز بیماری نزدیک به صفر بود (۱۴).

در مطالعه‌ای که در ایران توسط حیدری و همکاران در تهران انجام شد، شایع‌ترین میکروارگانیزم‌های جدا شده از CSF یا خون بیماران *Streptococcus pneumoniae* (۳۳/۳۳ درصد) و به دنبال آن *Neisseria meningitidis* (۲۷/۷۸ درصد) و *Haemophilus influenzae* (۱۶/۶۷ درصد) بود (۱۰). این در حالی است که بر خلاف مطالعه‌ی پیش‌گفته، در مطالعه‌ی حاضر، *Neisseria meningitidis* شایع‌ترین عامل بیماری بود. همچنین، در مطالعه‌ی پیش‌گفته، شایع‌ترین داروهای ضد میکروبی، سفتریاکسون همراه با وانکوماسین (۶۹/۴۴ درصد) و پس از آن، سفتریاکسون و وانکوماسین به همراه آمپی‌سیلین (۱۱/۱۱ درصد) بود. تنها ۳ بیمار (۸/۳۳ درصد) از مننژیت باکتریایی جان باخته‌اند و ۳۳ نفر باقی مانده از بیمارستان ترخیص شدند (۱۰). نتایج مطالعه‌ی پیش‌گفته در خصوص مرگ و میر کمی بالاتر از مطالعه‌ی حاضر بوده است.

در مطالعه‌ی حاضر، بیشترین میزان بروز بیماری به ترتیب در ماه‌های خرداد و شهریور بود. این در حالی است که پیش‌بینی می‌شود بروز مننژیت منگوکوکی در ماه‌های سرد سال بیشتر باشد (۱۵). همچنین، بر اساس اعلام WHO، بیشترین موارد بروز مننژیت منگوکوکی در کمربند مننژیت آفریقا در ماه‌های سرد زمستان اتفاق می‌افتد (۱۶).

نتیجه‌گیری نهایی این که در مطالعه‌ی حاضر مشخص شد که بروز مننژیت حتی در بیمارانی که پروبیلاکسی استاندارد و واکسن ضد منگوکوک دریافت کرده بودند نیز وجود دارد و از طرف دیگر، در این طغیان بیشترین سرگروپ منگوکوک از نوع سرگروپ B



شکل ۲. فراوانی بروز مننژیت بر اساس ماه‌های سال

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که در کشت CSF، *Neisseria meningitidis* در ۱۴/۵۳ درصد موارد رشد نمود و در بررسی کشت خون، *Neisseria meningitidis* در ۲۳/۵ درصد موارد رشد کرد. در بررسی سرگروپ‌های به دست آمده از مجموع افراد مورد مطالعه، تمام سرگروپ‌های به دست آمده از نوع سرگروپ B بود.

بیشتر اپیدمی‌های مننژیت توسط سرگروپ A و در برخی موارد سرگروپ C از جمله *Neisseria meningitidis* به وقوع پیوسته است. بزرگ‌ترین طغیان ناشی از سرگروپ C منگوکوک در سال ۲۰۱۵ در کمربند مننژیت آفریقا به وقوع پیوست (۸-۹). این در حالی است که در مطالعه‌ی حاضر مشخص شد که تمام سرگروپ‌ها به دست آمده از اپیدمی ایران در سال‌های ۹۶-۱۳۹۵، سرگروپ B بود. علت این اختلاف ممکن است ناشی از تفاوت در جمعیت‌های مورد مطالعه، تفاوت در شاخص‌های دموگرافیک بیماران و نحوه‌ی واکسیناسیون و سرگروپ‌های پوشش داده شده توسط واکسیناسیون و پروبیلاکسی باشد.

در ایالات متحده، از زمان تولید واکسن چهارگانه‌ی ضد منگوکوک در سال ۲۰۰۵ علیه چهار سرگروپ A، C، W135 و Y، چندین طغیان ناشی از سرگروپ B در دانشگاه‌ها به وقوع پیوست. در حالی که قبل از استفاده‌ی معمول این واکسن در بالغین، طغیان‌های واقع شده در دانشگاه‌ها به طور مشخص ناشی از سرگروپ C بوده است (۱۱). نتایج مطالعه‌ی پیش‌گفته، همسو با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌باشد. در مطالعه‌ی حاضر نیز مشخص شد که هر چند دریافت واکسیناسیون و پروبیلاکسی در بیماران بالا بود، اما در نهایت، مننژیت از سرگروپ B در آن‌ها رخ داد که این امر، نشان دهنده‌ی عدم کفایت واکسیناسیون و پروبیلاکسی در بیماران می‌باشد.

در بین سال‌های ۲۰۰۸-۲۰۱۰، ۱۳ مورد مننژیت ناشی از منگوکوک در دانشگاه Ohio به وقوع پیوست که ۱۰ مورد آن ناشی

تشکر و قدردانی

این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه دکتری حرفه‌ای پزشکی عمومی به شماره‌ی ۳۹۶۵۳۸ است که با حمایت‌های معنوی و مادی حوزه‌ی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شده است. بدین وسیله، از زحمات این عزیزان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

بوده است. از این رو، با توجه به بروز مننژیت در بیماران تحت اقدامات پیش‌گیرانه و همچنین، شناخت مقاومت دارویی در درمان این بیماری، پیشنهاد می‌شود اقدامات پیش‌گیرانه نظیر استفاده از واکسیناسیون‌ها و پروفیلاکسی‌های مؤثر بر سرورگروپ B مورد اهتمام مسؤولین و متولیان امر در کشور قرار گیرد تا سبب کاهش خطر بروز طغیان‌های مننژیت در کانون‌های جمعی شود.

References

1. Archer BN, Chiu CK, Jayasinghe SH, Richmond PC, McVernon J, Lahra MM, et al. Epidemiology of invasive meningococcal B disease in Australia, 1999-2015: Priority populations for vaccination. *Med J Aust* 2017; 207(9): 382-7.
2. Apicella MA. Meningococcal infection. In: Goldman L, Ausiello DA, editors. *Cecil textbook of medicine*. Philadelphia, PA: Saunders; 2004. p. 1818-23.
3. Yameogo TM, Kyelem CG, Poda GEA, Sombie I, Ouedraogo MS, Millogo A. Meningitis epidemic: Assessment of surveillance and treatment of cases in the health centers of a Burkina Faso district. *Bull SocPathol Exot* 2011; 104(1): 68-73.
4. World Health Organization. Situation update on meningitis C epidemic risk [Online]. [cited 2017 Dec 21]; Available from: URL: <http://www.who.int/csr/disease/meningococcal/meningitis-c-epidemic-risk/en/>
5. Greenberg R, Daniels S, Flanders W, Eley J, Boring J. *Medical epidemiology*. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2012.
6. Greenwood B M. Acute bacterial meningitis. In: Hunter GW, Strickland GT, editors. *Hunter's tropical medicine and emerging infectious diseases*. 8th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2000. p. 372-8.
7. Houri H, Pormohammad A, Riahi SM, Nasiri MJ, Fallah F, Dabiri H, et al. Acute bacterial meningitis in Iran: Systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2017; 12(2): e0169617.
8. World Health Organization. Meningococcal disease – Niger (update) [Online]. [cited 2015 Jul 23]. Available from: URL: <http://www.who.int/csr/don/23-july-2015-niger/en/>
9. Burki T. Meningitis outbreak in Niger is an urgent warning. *Lancet Infect Dis* 2015; 15(9): 1011.
10. Heydari B, Khalili H, Karimzadeh I, Emadi-Kochak H. Clinical, paraclinical, and antimicrobial resistance features of community-acquired acute bacterial meningitis at a large infectious diseases ward in Tehran, Iran. *J Pharm Res* 2016; 15(1): 347-54.
11. Mandal S, Wu HM, MacNeil JR, Machesky K, Garcia J, Plikaytis BD, et al. Prolonged university outbreak of meningococcal disease associated with a serogroup B strain rarely seen in the United States. *Clin Infect Dis* 2013; 57(3): 344-8.
12. Infectious Diseases Society of America. Notice to Healthcare Providers: Recognizing and Reporting Serogroup B Meningococcal Disease Associated with Outbreaks at Princeton University and the University of California at Santa Barbara [Online]. [cited 2018]; Available from: URL: http://www.idsociety.org/Princeton_UCSantaBarbara/
13. Biswas HH, Han GS, Wendorf K, Winter K, Zipprich J, Perti T, et al. Notes from the Field: Outbreak of Serogroup B Meningococcal Disease at a University - California, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016; 65(20): 520-1.
14. Sridhar S, Greenwood B, Head C, Plotkin SA, Safadi MA, Saha S, et al. Global incidence of serogroup B invasive meningococcal disease: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2015; 15(11): 1334-46.
15. Cohn AC, MacNeil JR, Clark TA, Ortega-Sanchez IR, Briere EZ, Meissner HC, et al. Prevention and control of meningococcal disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2013; 62(RR-2): 1-28.
16. World Health Organization. Meningococcal meningitis [Online]. [cited 2018 Jan]; Available from: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs141/en/>

Microbiological and Serological Evaluation of the Meningitis Outbreak in a Community Center in Isfahan Province, Iran, during the Years 2016-2017

Reza Khadivi¹, Reza Fadaei², Mohammad Kanani³, Fazlollah Fatehi⁴

Original Article

Abstract

Background: Meningococcal meningitis is a major health problem in tropical regions, including Iran. Identification of the type of serogroup involved in screening programs is essential. Therefore, the aim of this study was to investigate the microbiological and serological characteristics of meningitis outbreaks in a camp in Isfahan Province, during the years 2016-2017.

Methods: This cross-sectional study performed on 51 patients with meningococcal meningitis. After recording the demographic data, various variables including history of vaccination and prophylaxis, lumbar puncture (LP) result, blood culture, and antibiotic resistance were recorded. The obtained statistics were reported as abundance and average.

Findings: 31.4% of the subjects were vaccinated, and 76.5% had received a prophylaxis. In cerebrospinal fluid (CSF) culture, 80.48% of cases were negative, only 4.87% were streptococcus viridans, and 14.53% were Neisseria meningitides. In evaluating blood culture, 74.50% of cases were negative, 23.50% of cases were Neisseria meningitides, and 2.00% of cases were Staphylococcus epidermidis. All the serogroups were serogroup B.

Conclusion: In our study, it was found that the incidence of meningitis was high even in patients who received standard prophylaxis and meningococcal vaccine. On the other hand, all of them had serogroup B; therefore preventive measures including the use of vaccines and prophylaxis affecting serogroup B should be performed more serious.

Keywords: Meningococcal meningitis, Outbreaks, Serogroup B meningococcal meningitis

Citation: Khadivi R, Fadaei R, Kanani M, Fatehi F. **Microbiological and Serological Evaluation of the Meningitis Outbreak in a Community Center in Isfahan Province, Iran, during the Years 2016-2017.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(465): 28-34.

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

2- Infectious Disease Specialist, Center for Disease Control, Isfahan Province Health Center, Isfahan, Iran

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

4- General Practitioner, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mohammad Kanani, Email: sepehr.kanani.1990@gmail.com

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada; khosrow.adeli@sickkids.ca
2. **Ali Akhavan** MD, Assistant Professor of Radiation Oncology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
ali52akhavan@yahoo.com
3. **Mohammadreza Akhlaghi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
akhlaghi@med.mui.ac.ir
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran; aminr@sums.ac.ir
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran amra@med.mui.ac.ir
6. **Saeed A. Jortani** PhD, Professor of Pathology, University of Louisville, Louisville, KY, USA; sajort01@louisville.edu
7. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
bagherian@med.mui.ac.ir
8. **Majid Barekatin** MD, Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran barekatin@med.mui.ac.ir
9. **Ken Bassett** MD, PhD, Professor of Therapeutics Initiative, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada;
bassett@chspr.ubc.ca
10. **Ahmad Chitsaz** MD, Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; chitsaz@med.mui.ac.ir
11. **Afsoon Emami-Naini** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
af_emami@med.mui.ac.ir
12. **Shahin Emami** Department of Biochemistry, Saint Antoine Hospital, Paris, France; shahin.emami@cgc.edu
13. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
esfandiari@med.mui.ac.ir
14. **Ahmad Esmailzadeh** PhD, Professor of Nutrition, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;
esmaillzadeh@hlth.mui.ac.ir
15. **Ziba Farajzadegan** MD, Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
farajzadegan@med.mui.ac.ir
16. **Aziz Gahari** MD, Professor Plastic Surgery, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada; aziz.ghahary@ubc.ca
17. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
golshahi@med.mui.ac.ir
18. **Mostafa Hashemi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
mostafahashemi60@gmail.com
19. **Saied Morteza Heidari** MD, Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
m_heidari@med.mui.ac.ir
20. **Ali Hekmatnia** MD, Professor of Radiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; hekmatnia@med.mui.ac.ir
21. **Fariba Iraj** MD, Professor of Dermatology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; iraji@med.mui.ac.ir
22. **Faramarz Ismail-Beigi** MD, PhD, Professor of Endocrinology, University Hospitals Cleveland Medical Center, Cleveland, OH, USA; faramarz.ismail-beigi@case.edu
23. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; kelishadi@med.mui.ac.ir
24. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics and Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
khani@med.mui.ac.ir
25. **Majid Kheirollahi** PhD, Associate Professor of Genetics and Molecular Biology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
mkheirollahi@med.mui.ac.ir
26. **Parvin Mahzouni** MD, Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mahzouni@med.mui.ac.ir
27. **Marjan Mansourian** PhD, Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
j_mansourian@hlth.mui.ac.ir
28. **Mohammad Mardani** MD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mardani@med.mui.ac.ir
29. **Mehdi Modarres-Zadeh** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;
mmodarres51@yahoo.com
30. **Etie Moghisi** MD, Associate Professor of Endocrinology, Marina Diabetes and Endocrinology Center, Marina del Rey, CA, USA;
emoghissi@gmail.com
31. **Mohammadreza Nourbakhsh** PhD, Professor of Physiotherapy, North Georgia College, Dahlonega, GA, USA;
reza.nourbakhsh@ung.edu
32. **Farzin Pourfarzad** PhD, Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands;
f.pourfarzad@erasmusmc.nl
33. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
m_pourmoghadas@med.mui.ac.ir
34. **Maryam Radahmadi** PhD, Assistant Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
m_radahmadi@med.mui.ac.ir
35. **Hassan Razmj** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; razmj@med.mui.ac.ir
36. **Reza Rouzbahani** MD, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
rouzbahani@med.mui.ac.ir
37. **Masih Saboori** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; saboori@edc.mui.ac.ir
38. **Mohammad Reza Safavi** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
safavi@med.mui.ac.ir
39. **Rasoul Salehi** PhD, Assistant Professor of Genetics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; r_salehi@med.mui.ac.ir
40. **Mansour Sholevar** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; sholevar@med.mui.ac.ir
41. **Mohammadreza Sharifi** MD, PhD, Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;
sharifi@med.mui.ac.ir
42. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran;
masoud_soheilian@yahoo.com



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 36, No. 465, 1st Week April 2018

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

Associate Editor: **Maryam Radahmadi PhD**

Owner:

Isfahan University of Medical Sciences
Email: publications@mui.ac.ir

Office:

P.O. Box 81744-176, Isfahan, Iran
Tel/fax: +98 31 37922291
Email: jims@med.mui.ac.ir
Website: <http://jims.mui.ac.ir>

Executive Manager: Ali Moradi, Office Secretary: Golnaz Rajabi

Publisher:

Vesnu Publications

Email: farapublications@gmail.com
<http://farapub.com>

Tel/fax: +98 31 32224382
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.