



مقاله های پژوهشی

- ۳۱۶ بررسی تأثیر متیل فنیدات بر اثر ضد دردی متادون در موش صحرایی
 بابک زنجانی، دکتر محمد رمان مولودی، دکتر اسماعیل ایزدپناه، دکتر کامبیز حسن زاده
- ۳۳۶ بررسی اثر ضد میکروبی عصاره ی الکلی گل محمدی بر استرپتوکوک های عامل پوسیدگی دندان در شرایط آزمایشگاه
 اعظم علی اصغری، دکتر محمد ربانی، دکتر مریم خروشی، حمید امامی
- ۳۳۶ طراحی الگوریتم جایگاه لاپاراسکوپی در جراحی توده های تخمدانی بر مبنای نمره ی احتمال بدخیمی
 دکتر ملیحه عرب، دکتر زهرا هنرور، دکتر ندا کاظمی، دکتر مهدی یاسری
- ۳۴۶ بیان پروانسولین انسانی در گیاه با استفاده از ناقل pVUT (Plasmid Viral University of Tehran)
 مهناز خیرالهی، دکتر علی اکبر شاه نجات بوشهری، دکتر مجید خیرالهی، فریبا ابویی مهریزی، دکتر هوشنگ علیزاده

مقاله مروری

- ۳۵۵ اساس ژنتیک سندرم متابولیک
 هاجر میرانزاده مهابادی، سیده غزاله فاطمی، دکتر پروانه نیک پور، دکتر مجتبی عمادی بایگی، دکتر رویا کلیشادی

Original Articles

- Effect of Methylphenidate on Methadone-Induced Analgesia in Rat 325
 Babak Zanjani, Mohammad Raman Moloudi PhD, Esmael Izadpanah PhD, Kambiz Hassanzadeh PhD
- In-Vitro Effect of Alcoholic Extract of Rosa Damascene Extract on Cariogenic Streptococci 335
 Azam Aliasghari, Mohammad Rabbani PhD, Maryam Khoroushi DDS, Hamid Emami MSc
- Algorithm of Laparoscopy Choice in Ovarian Mass Surgery According to Malignancy Probability Score 345
 Maliheh Arab MD, Zahra Honarvar MD, Neda Kazemi MD, Mehdi Yaseri PhD
- Plant Expression of Human Proinsulin Using the Plasmid Viral University of Tehran (pVUT) Vector 354
 Mahnaz Kheirollahi, Ali Akbar Shahnejat-Bushehri PhD, Majid Kheirollahi PhD, Fariba Abooei-Mehrizi MSc, Hooshang Alizadeh PhD

Review Article

- Genetic Basis of the Metabolic Syndrome 367
 Hajar Miranzadeh-Mahabadi MSc, Sayedeh Ghazaleh Fatemi MSc, Parvaneh Nikpour PhD, Modjtaba Emadi-Baygi PhD, Roya Kelishadi MD



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و سوم، شماره (۲۲۷)، بهمنه سوم اردیبهشت ۱۳۹۴

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

ناشر:
انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
E-mail: publications@mui.ac.ir
دفتر مجله: دانشکده پزشکی
صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶
مسؤول دفتر: گلناز رجبی
دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱
تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
وب سایت مجله: <http://www.journals.mui.ac.ir/jims>

امور نشر:
(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)
شرکت فرزانتگان راداندیش
اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵
تلفن و دورنگار: ۰۳۱-۳۶۶۸۶۳۰۲
f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

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

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

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

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

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

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

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

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

- ۳۱۶..... بررسی تأثیر متیل فنیدات بر اثر ضد دردی متادون در موش صحرایی
بابک زنجانی، دکتر محمد رامن مولودی، دکتر اسماعیل ایزدپناه، دکتر کامبیز حسن زاده
- ۳۲۶..... بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر استرپتوکوک‌های عامل پوسیدگی دندان در شرایط آزمایشگاه
اعظم علی اصغری، دکتر محمد ربانی، دکتر مریم خروشی، حمید امامی
- ۳۳۶..... طراحی الگوریتم جایگاه لاپاراسکوپی در جراحی توده‌های نخمدانی بر مبنای نمره‌ی احتمال بدخیمی
دکتر ملیحه عرب، دکتر زهرا هنرور، دکتر ندا کاظمی، دکتر مهدی یاسری
- ۳۴۶..... بیان پروانسولین انسانی در گیاه با استفاده از ناقل pVUT (Plasmid Viral University of Tehran)
مهناز خیرالهی، دکتر علی‌اکبر شاه نجات بوشهری، دکتر مجید خیراللهی، فریبا ابوئی مهریزی، دکتر هوشنگ علیزاده

مقاله مروری

- ۳۵۵..... اساس ژنتیک سندرم متابولیک
هاجر میران‌زاده مهابادی، سیده غزاله فاطمی، دکتر پروانه نیک‌پور، دکتر مجتبی عمادی بایگی، دکتر رویا کلیشادی

بررسی تأثیر متیل فنیدات بر اثر ضد دردی متادون در موش صحرائی

بابک زنجانی^۱، دکتر محمد رامان مولودی^۲، دکتر اسماعیل ایزدپناه^۳، دکتر کامبیز حسن زاده^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: از مشکلات استفاده از اپیوئیدها، تحمل به اثرات ضد دردی است. یکی از راه‌های کاهش دوز مصرفی و در نتیجه، تحمل و وابستگی به اپیوئیدها اضافه نمودن عوامل غیر اپیوئیدی به رژیم دارویی است. از طرفی، مطالعات نشان داده است که استفاده مکرر از داروی متیل فنیدات، که از دسته آمفتامین‌ها است، سبب افزایش بیان گیرنده‌های اپیوئیدی مو و کاهش درد می‌شود. بنابراین، در این مطالعه به بررسی اثر متیل فنیدات بر اثر ضد دردی متادون پرداخته شد.

روش‌ها: در این مطالعه، از ۹ گروه ۸ تایی موش صحرائی نر نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی 20 ± 270 گرم استفاده شد. گروه‌ها شامل گروه شاهد (دریافت کننده‌ی نرمال سالین)، سه گروه دریافت کننده‌ی متیل فنیدات (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، سه گروه دریافت کننده‌ی متادون (۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دو گروه ترکیبی متادون (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با متیل فنیدات (۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود. تأخیر در احساس درد با استفاده از دستگاه درد حرارتی (آزمون پلانتر) بررسی شد.

یافته‌ها: مصرف متیل فنیدات به صورت خوراکی فقط در دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای اثر ضد دردی بود. همچنین، ترکیب دوزهای غیر مؤثر متیل فنیدات به همراه ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم متادون، اثرات ضد دردی متادون را در دقیقه‌ی ۶۰ پس از مصرف خوراکی به طور معنی‌داری افزایش داد.

نتیجه‌گیری: به طور کلی، متیل فنیدات اثر ضد دردی متادون در مدل حیوانی را افزایش داد.

واژگان کلیدی: درد، متادون، متیل فنیدات، تست پلانتر

ارجاع: زنجانی بابک، مولودی محمد رامان، ایزدپناه اسماعیل، حسن زاده کامبیز. بررسی تأثیر متیل فنیدات بر اثر ضد دردی متادون در

موش صحرائی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۷): ۳۱۶-۳۲۵

می‌باشد (۱). دسته‌های مختلفی از داروهای کاهنده‌ی درد در بازار دارویی وجود دارد که شامل اپیوئیدها، داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی، ضد افسردگی‌ها و ضد تشنج‌ها است. اگرچه این داروها درد را کم می‌کنند، اما در مجموع اثراتشان ناکامل و همراه با عوارض جانبی و یا ایجاد تحمل می‌باشد (۲). از مشکلات و عوامل محدود کننده‌ی مصرف این

مقدمه

درد به عنوان مجموعه‌ی پیچیده‌ای از تجارب ناخوشایند حسی، عاطفی و شناختی ناشی از آسیب بافتی و تظاهرات واکنش‌های اتونومیک، سایکولوژیک و رفتاری تعریف شده است. درد به طور معمول حاصل فشارها و دماهای شدید و یا ناشی از مواد سمی و آزاد شدن واسطه‌های التهابی

۱- دانشجوی پزشکی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۲- استادیار، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر کامبیز حسن زاده

(۶). یکی از روش‌های کاهش تحمل و وابستگی به اپیوئیدها، کاهش دوز مصرفی می‌باشد که البته این کار برای داشتن اثرات ضد دردی مطلوب، یک عامل محدود کننده محسوب می‌شود. از سوی دیگر، اضافه نمودن عوامل غیر اپیوئیدی به رژیم درمانی بیماران مبتلا به دردهای حاد و مزمن، می‌تواند در پیشگیری از بروز تحمل و کاهش عوارض افزایش دوز مؤثر باشد. افزودن متیل فنیدات به رژیم اپیوئیدی، شاید بتواند میزان حساسیت به اثر ضد دردی این داروها را افزایش دهد و به کاهش دوز به منظور پیشگیری از بروز تحمل کمک کند. بنابراین در این مطالعه با در نظر گرفتن مطالب فوق، تأثیر متیل فنیدات بر اثر ضد دردی متادون در موش‌های صحرایی بررسی شد.

روش‌ها

در مطالعه‌ی حاضر از ۹ گروه ۸ تایی موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (تهیه شده از مؤسسه‌ی رازی، کرج) در محدوده‌ی وزنی 20 ± 270 گرم استفاده شد. حیوانات در اتاقی تحت سیکل روشنایی / تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی ساعت ۸ صبح) با دمای 23 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد در قفس‌هایی از جنس پلی‌پروپیلن (در هر قفس ۴ سر موش) نگهداری شدند. حیوانات در طول دوره‌ی نگهداری و قبل از شروع آزمایش، به آب و غذا دسترسی آزادانه داشتند. تمام آزمایش‌ها در عصر و مطابق با راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (۸). گروه‌های آزمایش شامل گروه شاهد (دریافت کننده‌ی ۱ میلی‌لیتر نرمال سالین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، سه گروه دریافت کننده‌ی متیل فنیدات (دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم

داروها در بیماران مبتلا به دردهای حاد و مزمن، تحمل به اثرات ضد دردی و وابستگی به اپیوئیدها است. تحمل (Tolerance) حالتی است که در آن به دنبال مصرف چندین بار یک دارو، اثرات دارو در مصارف بعدی با مقادیر ثابت و یکسان کاهش می‌یابد (۳). بنابراین، یافتن داروهای ضد درد با مکانیسم‌های عمل متفاوت و عوارض کم، امری ضروری به نظر می‌رسد. مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از داروهای محرک اعصاب مانند متیل فنیدات در روزهای ابتدایی زندگی حیوانات، تحمل به اثرات ضد دردی مورفین را در دوران پس از بلوغ کاهش می‌دهد (۴). متیل فنیدات از دسته‌ی آفتماین‌ها بوده، آزادسازی انتقال دهنده‌های عصبی مهم از جمله نوراپی‌نفرین و سروتونین را افزایش می‌دهد و به منظور کاهش علائم اختلال بیش‌فعالی همراه با فقدان تمرکز به کار برده می‌شود. از طرف دیگر، مطالعات نشان داده‌اند داروها و عواملی که بتوانند بازجذب سروتونین و نوراپی‌نفرین را کاهش دهند، در کاهش درد مؤثر هستند (۵).

برخی تحقیقات گزارش کرده‌اند که متیل فنیدات سبب افزایش غلظت دوپامین در سیناپس و در نتیجه بالا بردن سطح خلق می‌شود (۶). همچنین، در مطالعه‌ای مشخص شد که استفاده‌ی مکرر از داروهای محرک اعصاب مانند متیل فنیدات، باعث افزایش بیان گیرنده‌های اپیوئیدی مو می‌گردد (۷). متادون به عنوان یک آگونیست قوی گیرنده‌ی مو، اغلب در کاهش دردهای حاد و مزمن به خصوص در بیماران مبتلا به سرطان استفاده می‌شود. همان‌گونه که بیان شد، تحمل به اثرات ضد دردی اپیوئیدها از موانع و مشکلات مصرف آن‌ها در این گروه از بیماران است

گرفتن در معرض منبع حرارتی ۲۰ ثانیه بود و بعد از این زمان، منبع حرارت به صورت خودکار قطع می‌شد. در هر گروه بعد از ثبت مدت زمان تأخیر پایه، تزریق داروها برای هر حیوان انجام می‌گرفت. ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق داروها، مدت زمان تأخیر به صورت درصد حداکثر اثر ممکن (Maximum permissible effect یا MPE) ثبت گردید (۱۰).

$$\%MPE = \frac{\left[\text{مدت زمان تأخیر پایه (ثانیه)} - \text{مدت زمان تأخیر بعد از تجویز دارو (ثانیه)} \right]}{\left[\text{مدت زمان تأخیر پایه (ثانیه)} - \text{حداکثر زمان قطع منبع حرارت (ثانیه)} \right]} \times 100$$

برای ارزیابی اثرات کلی تسکین درد، سطح زیر منحنی (Area under curve یا AUC) نمودار MPE در مقابل زمان در تمام گروه‌ها محاسبه گردید. به منظور محاسبه‌ی AUC، از قانون ذوزنقه استفاده شد. نتایج به صورت میانگین درصد MPE و خطای استاندارد برای ۸ موش در هر گروه بیان شد. به منظور مقایسه‌ی MPE و AUC بین گروه‌های تیمار در هر روز، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) استفاده شد و به دنبال آن آزمون تعقیبی Tukey برای تحلیل آماری در مقایسه‌های چندگانه مورد استفاده قرار گرفت. $P < 0/05$ در همه‌ی تحلیل‌ها معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

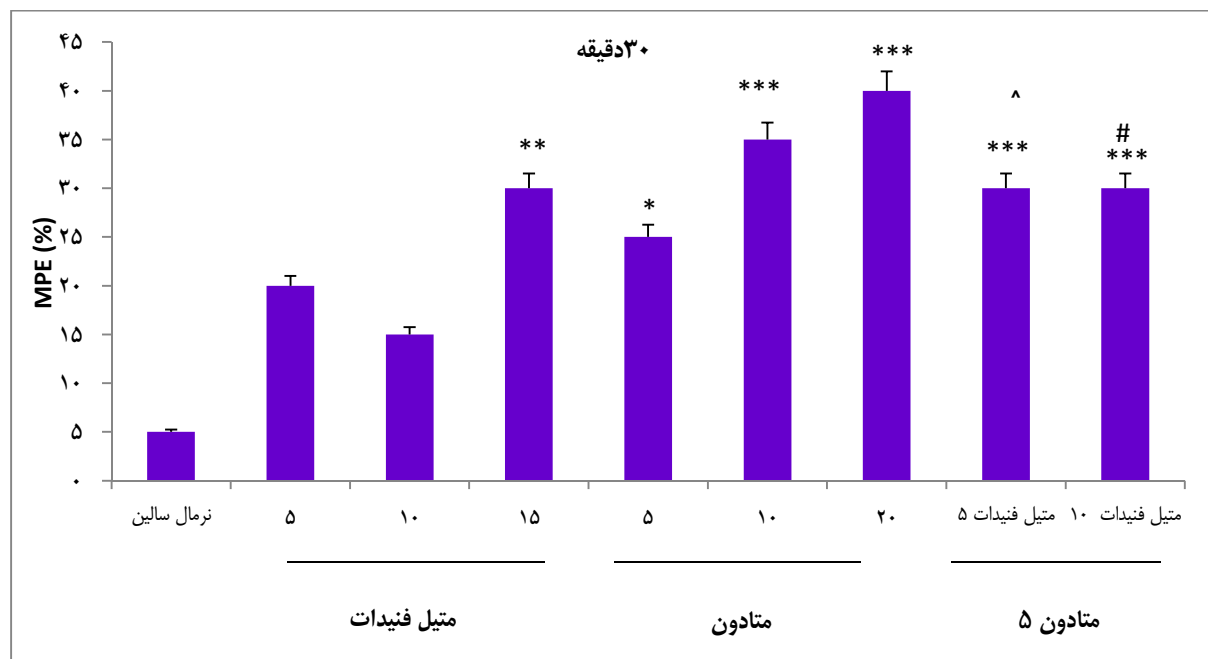
شکل ۱ اثر ضد دردی دوزهای مختلف متیل فنیدات (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، متادون (۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گاوژ هم‌زمان متادون (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و متیل فنیدات (۵ و ۱۰

وزن بدن)، سه گروه دریافت‌کننده‌ی متادون (دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و دو گروه دریافت‌کننده‌ی ترکیب متیل فنیدات (دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به همراه متادون (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بود. قرص متیل فنیدات (متیل فنیدات هیدروکلراید) ۱۰ میلی‌گرم محصول شرکت Novartis فرانسه تبدیل به پودر شده، در نرمال سالین حل گردید و مورد گاوژ قرار گرفت. شربت متادون ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محصول شرکت داروپخش - ایران نیز به صورت گاوژ به حیوان داده شد.

درد با استفاده از دستگاه درد حرارتی (به روش Hargreaves)، مورد بررسی قرار گرفت. در این فرایند قبل از شروع آزمون رفتاری، حیوان به مدت ۳۰ دقیقه در دمای کنترل شده‌ی 23 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد به منظور تطابق، در محفظه‌ی شفاف دستگاه پلانتر قرار داده شد و منبع حرارتی که قابلیت جابه‌جایی و تحرک داشت، به طور مستقیم در زیر سطح کف پای عقبی حیوان قرار داده شد. زمانی که منبع حرارتی فعال می‌شد، دستگاه یک محرک مداوم حرارتی به کف پای عقبی حیوان اعمال می‌نمود و این محرک بعد از مدت زمان کوتاهی باعث ایجاد درد و عکس‌العمل واضح دور کردن پا می‌شد. مدت زمان بین اعمال محرک حرارتی به کف پای عقبی حیوان و عکس‌العمل دور کردن پا به عنوان زمان تأخیر در نظر گرفته شد (۹). مدت زمان تأخیر پایه برای هر حیوان (میانگین سه بار اندازه‌گیری) محاسبه گردید. همچنین، شدت نور طوری تنظیم شده بود که مدت زمان تأخیر پایه، ۱۰-۸ ثانیه باشد. به منظور جلوگیری از آسیب بافت، حداکثر زمان قرار

گاوآژ، متیل فنیدات فقط در دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم سبب کاهش درد در مقایسه با گروه نرمال سالیین شد ($P < 0/010$). در گروه‌های دریافت کننده‌ی متادون در دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم، اثر ضد دردی مشاهده گردید. در گروه‌های دریافت کننده‌ی هم‌زمان متادون و متیل فنیدات، احساس درد در مقایسه با گروه نرمال سالیین تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < 0/010$). از سوی دیگر، بر اساس یافته‌ها اثر ضد دردی ترکیب متادون و متیل فنیدات در مقایسه با گروه دریافت کننده‌ی متیل فنیدات به تنهایی، به طور معنی داری بیشتر بود ($P < 0/050$). همچنین، در این زمان اثر ضد دردی ترکیب این دو دارو بیشتر از متادون به تنهایی مشاهده شد ($P < 0/050$) (شکل ۲).

میلی گرم بر کیلوگرم) را ۳۰ دقیقه بعد از گاوآژ نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، متیل فنیدات فقط در دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم سبب کاهش درد در مقایسه با گروه نرمال سالیین شد ($P < 0/010$). اثر ضد دردی در گروه‌های دریافت کننده‌ی متادون در تمام دوزها مشاهده گردید. همچنین، یافته‌ها کاهش معنی دار درد در گروه‌های دریافت کننده‌ی هم‌زمان متادون و متیل فنیدات در مقایسه با گروه نرمال سالیین را نشان داد ($P < 0/001$). از طرف دیگر، اثر ضد دردی ترکیب متادون و متیل فنیدات به طور معنی داری بیشتر از گروه دریافت کننده‌ی متیل فنیدات به تنهایی بود ($P < 0/050$)، اما اثر ضد دردی این ترکیب بیشتر از متادون به تنهایی نبود. در خصوص ارزیابی در زمان ۶۰ دقیقه پس از



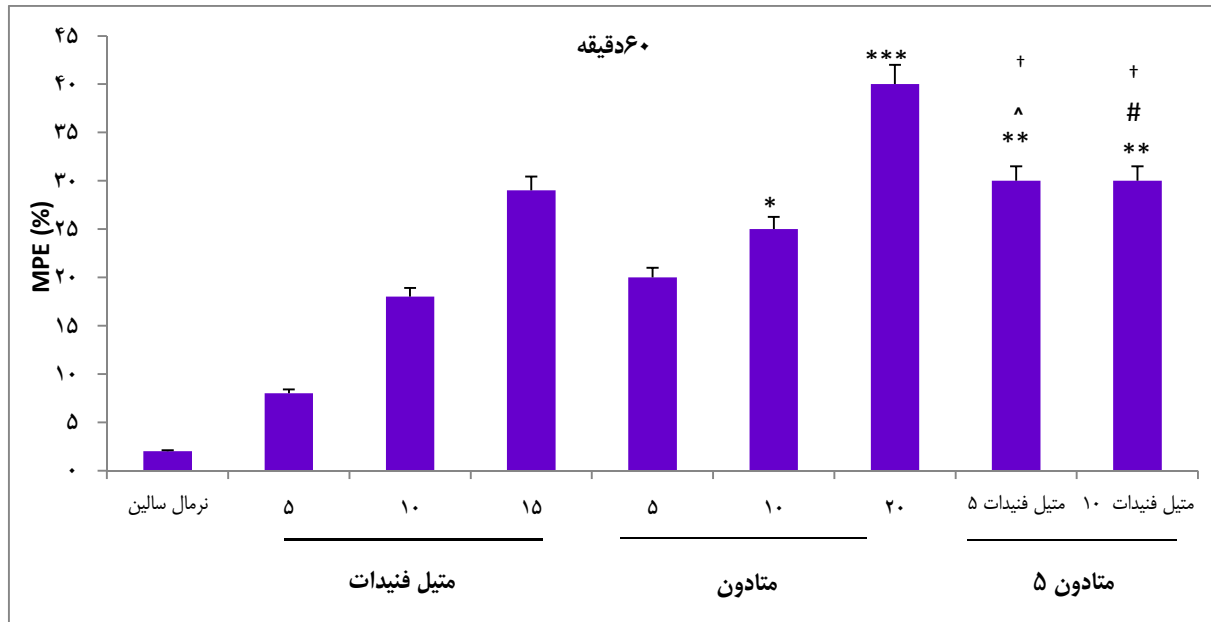
شکل ۱. مقایسه‌ی اثر ضد دردی گاوآژ دوزهای مختلف متیل فنیدات، متادون و تجویز هم‌زمان متادون و متیل فنیدات ۳۰ دقیقه بعد از گاوآژ

هر ستون بیانگر میانگین MPE و انحراف معیار برای ۸ سر موش صحرائی می‌باشد.

* $P < 0/050$, ** $P < 0/010$, *** $P < 0/001$ تفاوت معنی دار با گروه نرمال سالیین؛ # $P < 0/050$ تفاوت معنی دار با گروه متیل فنیدات ۵ میلی گرم

بر کیلوگرم؛ # $P < 0/050$ تفاوت معنی دار با گروه متیل فنیدات ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم

Met: Methadone; MPE: Maximum permissible effect



شکل ۲. مقایسه‌ی اثر ضد دردی گاوآژ دوزهای مختلف متیل فنیدات، متادون و تجویز هم‌زمان متادون و متیل فنیدات ۶۰ دقیقه بعد از گاوآژ هر ستون بیانگر میانگین MPE و انحراف معیار برای ۸ سر موش صحرایی می‌باشد.

$P < 0/050^*$, $P < 0/010^{**}$ و $P < 0/001^{***}$ تفاوت معنی‌دار با گروه نرمال سالین؛ $P < 0/050^{\wedge}$ تفاوت معنی‌دار با گروه متیل فنیدات ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم؛ $P < 0/050^{\#}$ تفاوت معنی‌دار با گروه متیل فنیدات ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم؛ $P < 0/050^{\dagger}$ تفاوت معنی‌دار با گروه متادون ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم
Met: Methadone; MPE: Maximum permissible effect

۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، متادون ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گاوآژ هم‌زمان متادون ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و متیل فنیدات ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در طول دوره‌ی زمانی ۱۲۰ دقیقه بعد از گاوآژ نشان می‌دهد. ترکیب متادون و متیل فنیدات در مجموع زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از گاوآژ، اثر ضد دردی بیشتری از متادون و متیل فنیدات به تنهایی داشت.

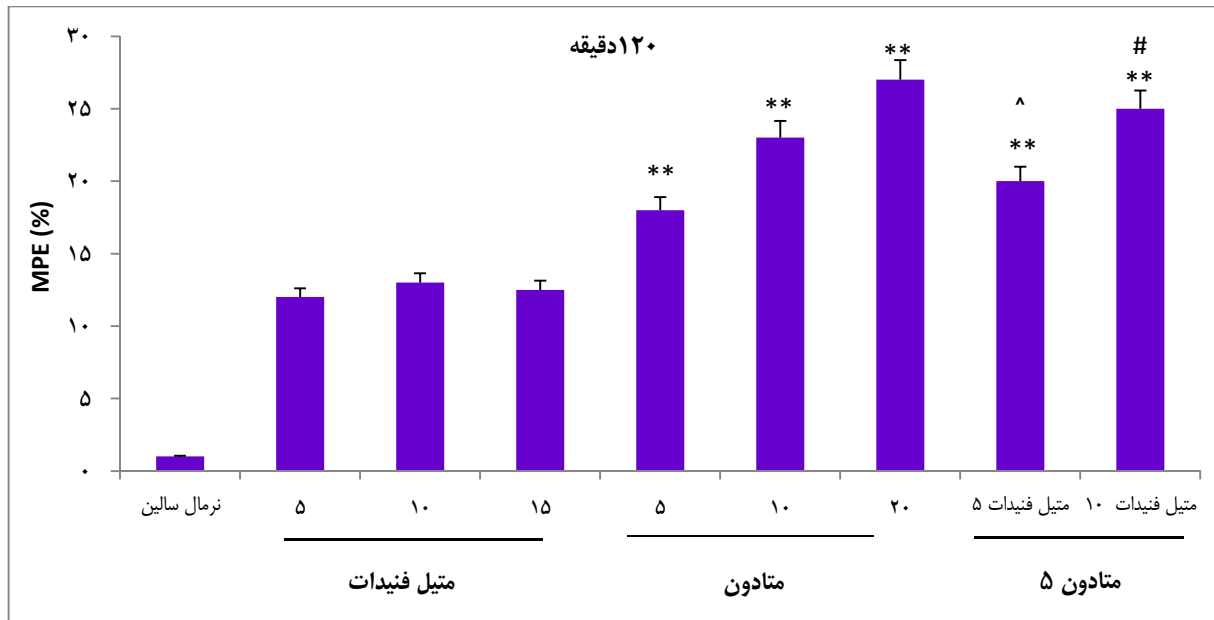
بر اساس داده‌های جدول ۱، سطح زیر منحنی (AUC) نمودار MPE در مقابل زمان برای هر گروه در دوره‌ی زمانی ۱۲۰ دقیقه بعد از گاوآژ محاسبه شد. یافته‌های این بخش حاکی از آن است که متیل فنیدات در دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و متادون در تمام دوزهای به کار رفته در مطالعه‌ی حاضر، اثر ضد دردی داشت. همچنین، متیل فنیدات در دوزهای ۵ و

یافته‌ها نشان داد که ۱۲۰ دقیقه بعد از گاوآژ، متیل فنیدات در هیچ کدام از دوزها سبب کاهش درد در مقایسه با گروه نرمال سالین نشد؛ در حالی که در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی متادون، اثر ضد دردی در همه‌ی دوزها مشاهده گردید. علاوه بر این، کاهش درد در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی هم‌زمان متادون و متیل فنیدات دارای تفاوت معنی‌داری با گروه نرمال سالین بود ($P < 0/010$). از طرف دیگر، اثر ضد دردی ترکیب متادون و متیل فنیدات در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی متیل فنیدات به تنهایی، به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0/050$)، اما اثر ضد دردی این ترکیب بیشتر از متادون به تنهایی نبود (شکل ۳).

شکل ۴ مقایسه‌ی اثر ضد دردی متیل فنیدات

کیلوگرم، اثرات ضد دردی متادون به گونه‌ای افزایش یافت که اثر آن با اثر ضد دردی متادون ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری نداشت.

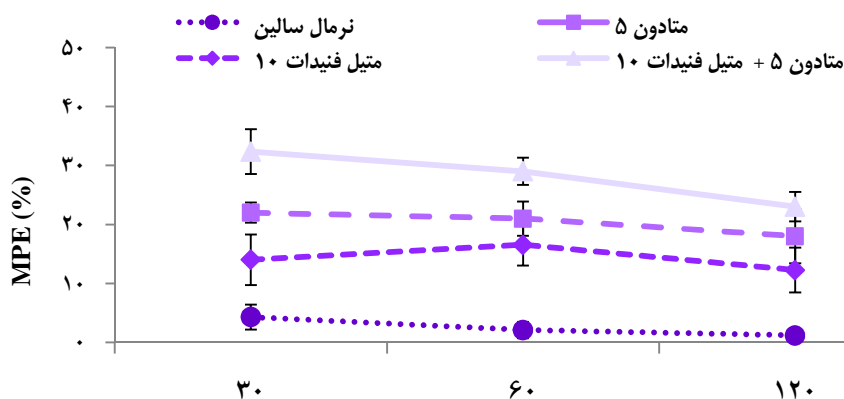
۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، اثر ضد دردی متادون را افزایش داد. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که با اضافه نمودن متیل فنیدات به متادون ۵ میلی‌گرم بر



شکل ۳. مقایسه‌ی اثر ضد دردی گاوآژ دوزهای مختلف متیل فنیدات، متادون و تجویز هم‌زمان متادون و متیل فنیدات ۱۲۰ دقیقه بعد از گاوآژ هر ستون بیانگر میانگین MPE و انحراف معیار برای ۸ سر موش صحرایی می‌باشد.

** $P < 0/01$ تفاوت معنی‌دار با گروه سالی‌ن؛ $P < 0/05$ تفاوت معنی‌دار با گروه متیل فنیدات ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم؛ # $P < 0/05$ تفاوت معنی‌دار با گروه متیل فنیدات ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

Met: Methadone; MPE: Maximum permissible effect



شکل ۴. مقایسه‌ی اثر ضد دردی گاوآژ متیل فنیدات ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، متادون ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تجویز هم‌زمان متادون ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و متیل فنیدات ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در طی دوره‌ی زمانی ۱۲۰ دقیقه بعد از گاوآژ هر نقطه بیانگر میانگین MPE و انحراف معیار برای ۸ سر موش صحرایی می‌باشد.

Met: Methadone; MPE: Maximum permissible effect

جدول ۱. مقادیر سطح زیر منحنی نمودار MPE (Maximum permissible effect) در گروه‌های مختلف

گروه‌ها	AUC	SEM
نرمال سالین	۲۰۵/۸۳	۹۲
متیل فنیدات ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۷۵۰/۴۳	۲۲۷
متیل فنیدات ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۸۹۰/۸۵	۲۰۰
متیل فنیدات ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم	*۱۴۹۵/۲۸	۱۳۸
متادون ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم	**۱۳۱۷/۱۸	۱۴۲
متادون ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم	*۱۶۵۸/۳۷	۲۷۲
متادون ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم	*۲۱۹۹/۳۴	۲۳۴
متادون ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم + متیل فنیدات ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم	*۱۶۳۸/۴۵	۱۵۲
متادون ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم + متیل فنیدات ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم	*۱۷۰۱/۱۲	۱۵۵

برای محاسبه AUC از قاعده‌ی دوزنقه استفاده گردید و $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

* $P < ۰/۰۱۰$ ** $P < ۰/۰۰۱$ نشان دهنده‌ی وجود اختلاف آماری معنی‌دار نسبت به گروه شاهد (نرمال سالین)

AUC: Area under curve; SEM: Standard error of the mean

متعاقب تجویز یک اپیوئید مانند مورفین می‌شود (۴-۵) که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر در این زمینه همخوانی داشت. در یک مطالعه‌ی بالینی تصادفی دوسو کور که به منظور ارزیابی توانایی متیل فنیدات در تقویت اثر ضد دردی و کاهش سداسیون نارکوتیک‌ها طراحی شده بود، ۳۲ بیمار با درد مزمن به علت سرطان پیشرفته به مدت سه روز تحت درمان با متیل فنیدات (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم صبح و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ظهر) قرار گرفتند. محققین به این نتیجه رسیدند که متیل فنیدات باعث افزایش اثر ضد دردی و کاهش سداسیون نارکوتیک‌ها در بیماران مبتلا به سرطان می‌گردد (۱۱). بخش دیگری از مطالعه‌ی بالینی مذکور، به بررسی اثر ضد دردی متادون پرداخت و نتایج آن نشان داد که متادون اثر ضد دردی معنی‌داری در دوزهای به کار رفته داشت. هرچند این بررسی در دوزهای محدودی به انجام رسید، اما به نظر می‌رسد این اثر وابسته به دوز باشد (۱۱). در این راستا، یافته‌های مطالعه‌ی حاضر حاکی

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که متیل فنیدات در دوز ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، اثر ضد دردی مناسبی ایجاد نمود؛ به طوری که ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از گاوآژ، اثر ضد دردی معنی‌داری در مقایسه با گروه دریافت کننده‌ی نرمال سالین داشت. به نظر می‌رسد که عدم وجود اثر ضد دردی متیل فنیدات در زمان ۱۲۰ دقیقه، به علت طول اثر کوتاه مدت متیل فنیدات باشد. یکی از مکانیسم‌های احتمالی بروز اثر ضد دردی متیل فنیدات را می‌توان به افزایش آزادسازی انتقال دهنده‌های عصبی نوراپی نفرین و سروتونین نسبت داد؛ چرا که اثر ضد دردی داروهای ضد افسردگی از جمله ضد افسردگی‌های سه حلقوی نیز از این طریق انجام می‌گیرد (۶).

نتایج مطالعات قبلی نشان داد که تجویز مزمن متیل فنیدات در موش‌های صحرائی قبل از شیر گرفتن آنان، باعث تقویت اثرات پاداش و ضد دردی

از طول اثر زیاد متادون بود؛ چرا که اثر ضد دردی آن پس از ۱۲۰ دقیقه از زمان گاوژ، هنوز ماندگار و نسبت به گروه نرمال سالیین معنی‌دار بود ($P < 0/001$).

مطالعات زیادی در رابطه با اثر ضد دردی متادون صورت گرفته است و همان‌گونه که پیش‌تر نیز بیان شد، این دارو به عنوان یکی از بهترین انتخاب‌ها برای کاهش دردهای بیماران مبتلا به سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین، این دارو به علت اثر طولانی مدت، در ترک اپیوئیدها نیز به کار می‌رود (۶). ویژگی‌های مناسب متادون که شامل اثر طولانی مدت و وابستگی کم می‌باشد، به کارگیری این ماده را با استقبال بیشتری روبه‌رو نموده است.

یافته‌های حاصل از مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تجویز هم‌زمان متیل فنیدات و متادون، سبب افزایش اثر ضد دردی متادون می‌شود؛ به طوری که اثر ضد دردی در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی متیل فنیدات به همراه متادون ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه دریافت‌کننده‌ی متادون ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به تنهایی، تفاوت معنی‌داری نداشت. این نتیجه نشان می‌دهد که متیل فنیدات از افزایش دوز متادون جلوگیری می‌نماید و به نظر می‌رسد که از این اثر می‌توان در مطالعات بالینی بهره برد؛ بدین ترتیب که به منظور پیشگیری از افزایش دوز و تحمل به دارو در بیماران نیازمند به متادون و پیشگیری از اثرات خواب‌آوری متادون، می‌توان متیل فنیدات را به رژیم دارویی آن‌ها اضافه نمود.

بررسی‌های پیشین در رابطه با به کارگیری متیل فنیدات به همراه اپیوئیدها، حاکی از آن است که به کارگیری متیل فنیدات خواب‌آلودگی به اپیوئیدها را

کاهش می‌دهد. زمانی که مصرف اپیوئیدها شروع می‌گردد یا دوز آن‌ها زیاد می‌شود، خواب‌آلودگی شایع و اغلب موقتی ایجاد می‌گردد. در این موارد، داروهای محرک CNS (Central nervous system) برای خواب‌آلودگی مرتبط با اپیوئید مورد استفاده قرار می‌گیرند. این داروها سبب تقویت عملکرد روانی-حرکتی شده، اجازه‌ی افزایش دوز اپیوئیدها را به مقدار بیشتر می‌دهد (۱۲). نتایج مطالعه‌ی Weiss و Laties نشان داد که مشتقات آمفتامین سبب معکوس شدن خواب‌آلودگی در بیماران مبتلا به سرطان دریافت‌کننده‌ی مخدر می‌شود (۱۳). همچنین، گزارش شده است که این ترکیبات سبب افزایش تحریک‌پذیری (۱۴) و معکوس شدن احساسات و نقایص شناختی القا شده با نارکوئیک‌ها شده‌اند (۱۵). Dalal و Melzack در تحقیق خود نشان دادند که دکستروآمفتامین و متیل فنیدات می‌توانند اثر ضد دردی مورفین را در آزمایش فرمالین تقویت کنند (۱۶) و این نتیجه با این‌که از مدل درد التهابی به دست آمد، تأیید‌کننده‌ی یافته‌های مطالعه‌ی حاضر بود.

برخی مطالعات بر این باورند که تأثیر پیش‌درمانی با متیل فنیدات بر فعالیت ضد دردی اپیوئیدها، به سن وابسته است. در این رابطه Cyr و Morgan نشان دادند که پیش‌درمانی با متیل فنیدات، تحمل به اثرات ضد دردی مورفین را در بزرگسالی تقویت می‌کند. این گروه از محققین گزارش نمودند که تماس با متیل فنیدات و متامفتامین در طی بزرگسالی، اثر ضد دردی مورفین را کاهش می‌دهد و باعث افزایش تحمل به اثرات ضد دردی مورفین می‌گردد؛ در حالی که در موش‌هایی با سنین ماقبل از شیرگیری که به طور

دارو، انجام مطالعات بالینی بیشتر پیشنهاد می‌گردد.

مزمن با متیل فنیدات پیش‌درمانی شده بودند، اثرات ضد دردی القا شده توسط مورفین تقویت شده بود (۴) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مشابهت نداشت.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بدین‌وسیله تشکر و سپاس خود را از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان جهت حمایت‌های مالی اعلام می‌دارند. در ضمن نتایج این مطالعه از پایان‌نامه‌ی دانشجویی مقطع دکترای عمومی پزشکی به شماره ۹۲/۵۵ استخراج گردیده است.

نتیجه‌گیری

نتایج کلی مطالعه‌ی حاضر نشان داد که متیل فنیدات در بالاترین دوز به کار رفته، اثر ضد دردی داشت. همچنین، اضافه نمودن دوزهای پایین متیل فنیدات به متادون، سبب افزایش اثر ضد دردی در حیوانات شد. بنابراین با توجه به اثرات قابل توجه ترکیب دوز

References

- Hassanzadeh K, Izadpanah E. Neuroprotection and pain management. In: Raczy GB, Noe CE, editors. Pain management-current issues and opinions. Rijeka, Croatia: In Tech; 2011. p. 81-100.
- Finnerup NB, Otto M, McQuay HJ, Jensen TS, Sindrup SH. Algorithm for neuropathic pain treatment: an evidence based proposal. Pain 2005; 118(3): 289-305.
- Nestler EJ, Hyman SE, Malenka R. Molecular Neuropharmacology. 4th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2001. p. 355-80.
- Cyr MC, Morgan MM. Early methylphenidate exposure enhances morphine antinociception and tolerance in adult rats. Neuropharmacology 2009; 57(7-8): 673-7.
- Halladay LR, Iniguez SD, Furqan F, Previte MC, Chisum AM, Crawford CA. Methylphenidate potentiates morphine-induced antinociception, hyperthermia, and locomotor activity in young adult rats. Pharmacol Biochem Behav 2009; 92(1): 190-6.
- Basic and Clinical Pharmacology. 11th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2009. p. 141-2.
- Zhu J, Spencer TJ, Liu-Chen LY, Biederman J, Bhide PG. Methylphenidate and mu opioid receptor interactions: a pharmacological target for prevention of stimulant abuse. Neuropharmacology 2011; 61(1-2): 283-92.
- Yaghoutpoor E, Kiasalari Z, Khalili M, Vahidi S. Combination effect of methadone and haloperidol on morphine withdrawal-induced anxiety in male mice. J Babol Univ Med Sci 2014; 16(3): 41-8. [In Persian].
- Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. Pain 1988; 32(1): 77-88.
- Amini Y, Moloudi R, Izadpanah E, Hassanzadeh K. N-acetylcysteine provides analgesic effect in rats. J Isfahan Med Sch 2013; 31(257): 1682-9. [In Persian].
- Bruera E, Chadwick S, Brenneis C, Hanson J, MacDonald RN. Methylphenidate associated with narcotics for the treatment of cancer pain. Cancer Treat Rep 1987; 71(1): 67-70.
- Howard P, Shuster J, Twycross R, Mihalyo M, Wilcock A. Psychostimulants. J Pain Symptom Manage 2010; 40(5): 789-95.
- Weiss B, Laties VG. Enhancement of human performance by caffeine and the amphetamines. Pharmacol Rev 1962; 14: 1-36.
- Forrest WH, Jr., Brown BW, Jr., Brown CR, Defalque R, Gold M, Gordon HE, et al. Dextroamphetamine with morphine for the treatment of postoperative pain. N Engl J Med 1977; 296(13): 712-5.
- Arner S, Meyerson BA. Lack of analgesic effect of opioids on neuropathic and idiopathic forms of pain. Pain 1988; 33(1): 11-23.
- Dalal S, Melzack R. Potentiation of opioid analgesia by psychostimulant drugs: a review. J Pain Symptom Manage 1998; 16(4): 245-53.

Effect of Methylphenidate on Methadone-Induced Analgesia in Rat

Babak Zanjani¹, Mohammad Raman Moloudi PhD², Esmael Izadpanah PhD³,
Kambiz Hassanzadeh PhD³

Original Article

Abstract

Background: A known problem of chronic administration of opioid is tolerance to its analgesic effect. Co-administration of a non-opioid analgesic may help reducing the opiate dose and consequently tolerance and dependency. It is reported that repeated use of methylphenidate, one of amphetamines, increased the expression of μ opioid receptor and had antinociception. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of methylphenidate on methadone-induced analgesia.

Methods: Nine groups of 8 male rats weighting 270 ± 20 g were randomly selected; control group received 1 ml/kg oral normal saline, methylphenidate groups received 5, 10 and 15 mg/kg oral methylphenidate, methadone groups received 5, 10, 20 mg/kg oral methadone, and combined groups received 5 mg/kg methadone +5 or 15 mg/kg methylphenidate orally. Pain was measured using plantar test apparatus.

Findings: Only, 15 mg/kg methylphenidate produced significant analgesic effect. In addition, co-administration of non-effective doses of methylphenidate and 5 mg/kg methadone significantly increased the analgesic effects of methadone at 60 minutes after gavage.

Conclusion: We found that methylphenidate potentiate the analgesic effects of methadone in rats.

Keywords: Pain, Methadone, Methylphenidate, Plantar test

Citation: Zanjani B, Moloudi MR, Izadpanah E, Hassanzadeh K. **Effect of Methylphenidate on Methadone-Induced Analgesia in Rat.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(327): 316-25

1- Student of Medicine, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

2- Assistant Professor, Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

3- Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

Corresponding Author: Kambiz Hassanzadeh PhD, Email: kambizhassanzadeh@gmail.com

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر استرپتوکوک‌های عامل پوسیدگی دندان در شرایط آزمایشگاه

اعظم علی اصغری^۱، دکتر محمد ربانی^۲، دکتر مریم خروشی^۳، حمید امامی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: پوسیدگی دندان از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی می‌باشد که تمامی اقشار، سنین و طبقات جامعه را درگیر می‌کند. درمان پوسیدگی‌های دندانی متخارج سنگینی را در همه‌ی کشورها تحمیل می‌کند. با توجه به این که گیاهان از منابع طبیعی فراوان و سالم می‌باشند، همیشه به عنوان یکی از منابع مهم دارویی مطرح بوده‌اند. این مطالعه، با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر روی استرپتوکوک‌های عامل پوسیدگی دندان انجام گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه، اثر ضد میکروبی عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر روی مهم‌ترین استرپتوکوک‌های عامل پوسیدگی دندان شامل استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سوبرینوس، استرپتوکوکوس سالیواریوس و استرپتوکوکوس سنگوئیس به روش میکروتیتر پلیت برای تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد (Minimum inhibitory concentration یا MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) یا (Minimum bactericidal concentration) انجام گرفت. همچنین، تأثیر این عصاره روی اتصال این باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه، تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: میزان حداقل غلظت ممانعت از رشد برای استرپتوکوک‌های موتانس، سوبرینوس، سالیواریوس و سنگوئیس به ترتیب ۷/۵، ۷/۵، ۱۵/۰ و ۱۵/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی برای این باکتری‌ها به ترتیب ۱۵/۰، ۷/۵، ۱۵/۰ و ۳۰/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. همچنین، نشان داده شد که رقت‌های مختلف این عصاره، باعث کاهش ۴۳ تا ۹۳ درصدی تشکیل بیوفیلم در این باکتری‌ها می‌شود.

نتیجه‌گیری: با توجه به تأثیر ضد باکتریایی عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر روی هر چهار سویه‌ی باکتری عامل پوسیدگی دندان، این عصاره می‌تواند در پیشگیری و کنترل پوسیدگی دندان مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: پوسیدگی دندان، استرپتوکوک‌های دهانی، گل محمدی، اثر ضد میکروبی

ارجاع: علی اصغری اعظم، ربانی محمد، خروشی مریم، امامی حمید. بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر استرپتوکوک‌های عامل پوسیدگی دندان در شرایط آزمایشگاه. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۷): ۳۳۵-۳۲۶

پلاک دندان است. یکی از راهکارهای اولیه برای پیشگیری از پوسیدگی دندان، حذف باکتری‌های عامل پوسیدگی از حفره‌ی دهان با استفاده از عوامل

مقدمه

پوسیدگی دندان از بیماری‌های رایج دهان و دندان و در ارتباط با میکروارگانیسم‌های موجود در سطح

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

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

۳- استاد، مرکز تحقیقات مواد دندانی و گروه دندان‌پزشکی ترمیمی، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- مربی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

است، بنابراین پتانسیل زیادی برای کشف ترکیبات زیست فعال جدید وجود دارد (۴).

اعضای خانواده‌ی رزاسه (Rosaceae) و جنس رز به عنوان یکی از مشهورترین گیاهان به دلیل زیبایی و بوی خوش در نظر گرفته می‌شود. اگرچه بیش از ۱۰۰ گونه رز وجود دارد، اما گل محمدی (*Rosa damascena* Mill) به دلیل زیبایی، عطر خوب و استفاده در صنعت عطرسازی، به عنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌های این گیاه به شمار می‌رود (۵). گل محمدی گیاهی کوچک با گل‌های صورتی روشن و معطر است. مهم‌ترین محصولات به دست آمده از این گل، گلاب و روغن‌های اساسی است که از تقطیر گل‌های آن به دست می‌آید (۶). چندین ترکیب از گل‌ها، گلبرگ و نهج این گیاه جداسازی شده است که شامل ترپن‌ها، گلیکوزیدها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین می‌باشد. این گیاه حاوی کربوکسیلیک اسید، Myrcene، ویتامین C، کامفرول (Kaempferol) و کوئرستین (Quercetin) است (۷). با توجه به این‌که کشور ایران یکی از کشورهای تولیدکننده‌ی اصلی گل محمدی در جهان می‌باشد و همچنین با توجه به شیوع پوسیدگی دندان در کشور، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی بیشتر تأثیر ضد میکروبی این گیاه علیه باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان، به خصوص سنجش اثر عصاره‌ی آن بر تشکیل بیوفیلم استرپتوکوک‌های دخیل در پوسیدگی دندان انجام شد. این مطالعه می‌تواند اولین پژوهش منتشر شده درباره این موضوع باشد و در صورت دستیابی به نتایج مطلوب، می‌توان از این گیاه برای کنترل پوسیدگی دندان به نحو مطلوب استفاده نمود.

ضد میکروبی است (۱). بیوفیلم‌ها اجتماعاتی از میکروارگانیسم‌ها هستند که به همدیگر و یا به سطوح متصل شده، در مواد پلیمری خارج سلولی (Extracellular polysaccharide یا EPS) که توسط خودشان تولید می‌شود، احاطه می‌شوند. ترکیبات یک بیوفیلم بالغ شامل ۲۵-۵ درصد سلول‌های باکتریایی و ۷۵-۹۵ درصد ماتریکس گلیکوکالیکس می‌باشد. بین انواع مختلف بیوفیلم، بیوفیلم دهانی منحصر به فرد است و برای اتصال، به گلیکوپروتئین‌های بزاق میزبان نیاز دارد (۲). مهار اتصال باکتری‌ها به بافت‌های دهانی می‌تواند رویکرد نویدبخشی در پیشگیری از کلونیزاسیون آن‌ها و پیشرفت بیماری باشد (۳).

از آنجایی که تحقیقات نشان داده‌اند عوامل ضد باکتریایی مانند ستیل پیرییدینیوم کلراید (Cetylpyridinium chloride)، کلروهگزیدین، آمین فلوراید‌ها و محصولات از این قبیل که برای پیشگیری و درمان بیماری‌های دهان استفاده می‌شوند، دارای عوارضی همچون سمیت و تغییر رنگ دندان‌ها می‌باشند و الکل موجود در دهان‌شویه‌ها با ایجاد سرطان دهان ارتباط دارد، تحقیقات در مورد جایگزینی این ترکیبات با گیاهان و مواد فیتوشیمیایی طبیعی جدا شده از گیاهان که در طب سنتی استفاده می‌شود، به عنوان جایگزین خوبی برای مواد شیمیایی سنتتیک افزایش یافته است. محصولات طبیعی مشتق از گیاهان دارویی منبع بزرگی از ترکیبات فعال از نظر بیولوژیک هستند و پایه‌ای برای ارتقای مواد شیمیایی جدید در داروسازی محسوب می‌شوند. حدود ۵۰۰ هزار گونه‌ی گیاهی در سراسر جهان وجود دارد که تنها ۱ درصد مواد فیتوشیمیایی آن‌ها بررسی شده

روش‌ها

چهار سویه‌ی استاندارد استرپتوکوکوس موتانس (ATCC 35668)، استرپتوکوکوس سوبرینوس (ATCC 27607)، استرپتوکوکوس سالیواریوس (PTCC 1448) و استرپتوکوکوس سنگوئیس (PTCC 1449) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه خریداری شد. برای تأیید این سویه‌ها، چند آزمایش تأییدی مانند رنگ‌آمیزی گرم، کشت در محیط Mitis salivarius agar، کاتالاز، همولیز، تخمیر قند و... انجام گرفت.

برای تحقیق حاضر، گلبُرگ‌های خشک شده‌ی گل محمدی از شهرستان قمصر کاشان واقع در استان اصفهان تهیه شد. عصاره‌گیری به روش ماسراسیون (Maceration) انجام گرفت. بدین صورت که ۱۰ گرم از گل محمدی توسط ترازوی دیجیتالی توزین و پودر شد و درون ارلن قرار گرفت و روی هر نمونه، حلال اتانول ۵۰ درصد ریخته شد تا پودر به طور کامل پوشیده شود. بعد از پوشاندن سر ارلن‌ها با ورقه‌ی آلومینیومی، به مدت ۴۸-۷۲ ساعت و سرعت ۹۰ دور دقیقه روی دستگاه لرزاننده قرار گرفت. پس از همگن شدن حلال و گیاه، محلول توسط کاغذ صافی صاف شد. سپس عصاره در دستگاه روتاری (Rotary) (شرکت Heidolph آلمان) قرار داده شد تا حلال از عصاره جدا گردد. عصاره‌ی خالص به دست آمده جهت انجام آزمایش‌های میکروبی در ویال‌های استریل درون یخچال نگهداری شد (۸).

جهت تعیین وزن خشک عصاره، ابتدا وزن یک لوله‌ی آزمایش تعیین گردید و پس از آن ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌ی الکلی گل محمدی در آن ریخته شد.

سپس محتوای لوله در دمای اتاق خشک گردید. بعد از خشک شدن عصاره، وزن لوله‌ی آزمایش دوباره تعیین شد. اختلاف وزن لوله، معادل با وزن ۱ میلی‌لیتر از عصاره است. میانگین سه بار تکرار، به عنوان وزن خشک عصاره محاسبه شد (۹).

تعیین (Minimum inhibitor concentration) MIC و (Minimum bactericidal concentration) MBC: از کشت تازه‌ی استرپتوکوک‌ها در محیط Broth media کدورتی معادل McFarland ۰/۵ تهیه و به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق شد تا کدورتی معادل $10^6 \times 1$ به دست آید. از عصاره‌ی گل محمدی استریل شده با فیلتر سر سرنگی قطر منفذ ۰/۴۵، رقت‌های مختلف (Serial dilutions) در محیط براث تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از این رقت‌ها که حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری بود، در پلیت ۹۶ خانه‌ای پلی استایرن ریخته شد (۱). چاهک‌هایی حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط براث به عنوان کنترل منفی، چاهک‌هایی حاوی محیط کشت و باکتری به عنوان کنترل مثبت و چاهک‌هایی نیز به عنوان شاهد کدورت، حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط و ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت در نظر گرفته شد. برای هر باکتری سه بار تکرار انجام گرفت. سپس سطح پلیت‌ها پوشیده شد و در انکوباتور دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و درون جار بی‌هوای انکوبه گردید. در نهایت، کدورت در طول موج ۶۳۰ نانومتر توسط Elisa reader (Awareness Technology Inc, Stat Fax 2100) خوانده شد. برای تعیین MBC قبل از خواندن جذب در Elisa reader از چاهک‌هایی که رشد در آن‌ها مشاهده نمی‌شد، یک لوپ برداشته و در محیط دارای

شاهد و طبق فرمول زیر محاسبه شد که در آن C میانگین جذب نوری چاهک‌های کنترل، B میانگین جذب نوری چاهک‌های شاهد و T میانگین جذب نوری چاهک‌های تیمار شده می‌باشد.

$$100 \times [(C-B) - (T-B)] / (C-B) = \text{درصد کاهش}$$

اتصال

داده‌ها به وسیله‌ی آزمون‌های One Way ANOVA (One way analysis of variance)، Dunnett و Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نمودارها در نرم‌افزار Graphpad Prism 5 رسم گردید. $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر میزان رشد چهار سویه‌ی استرپتوکوک رایج در پوسیدگی دندان ارزیابی شد و میزان MIC و MBC آن‌ها تعیین گردید. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، غلظت‌های مختلف عصاره‌ی الکلی گل محمدی باعث کاهش معنی‌دار رشد سویه‌های مورد آزمایش شد. میزان MIC برای استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سوبرینوس ۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای استرپتوکوکوس سنگوئیس و استرپتوکوکوس سالیواریوس ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. این میزان در دو باکتری استرپتوکوکوس سوبرینوس و استرپتوکوکوس موتانس به‌طور معنی‌داری از دو باکتری دیگر کمتر بود ($P < 0/05$). مقدار MBC برای این عصاره در استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سالیواریوس ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در استرپتوکوکوس سوبرینوس و استرپتوکوکوس

اگر کشت داده شد و آخرین رقتی که قادر به رشد در این محیط نبود، به عنوان MBC در نظر گرفته شد. بررسی تأثیر عصاره‌ی گل محمدی روی بیوفیلم باکتری‌های مورد استفاده: به منظور بررسی تأثیر عصاره‌ی گل محمدی بر روی استرپتوکوک‌های مورد بررسی، از روش استفاده شده توسط Kai-Larsen و همکاران (۱۰) و با برخی تغییرات استفاده شد. چند کلنی تک از استرپتوکوک‌های ۱۸ تا ۲۴ ساعته در سرم فیزیولوژی حل شد و در سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. جذب مایع رویی در طول موج ۶۳۰ نانومتر بین ۰/۱۲ تا ۰/۱۲۵ تنظیم و این سوسپانسیون به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق گردید. سپس به هر ۱ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون باکتری، ۱۰ میکرولیتر عصاره‌ی گل محمدی تهیه شده در رقت‌های مختلف (Serial dilution) و به یکی از لوله‌ها ۱۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی به عنوان کنترل مثبت اضافه شد. ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای پلی‌استایرن ریخته شد. برای هر رقت از ماده‌ی ضد میکروبی، سه بار تکرار انجام گرفت و در نهایت در جاربی‌هوایی و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد.

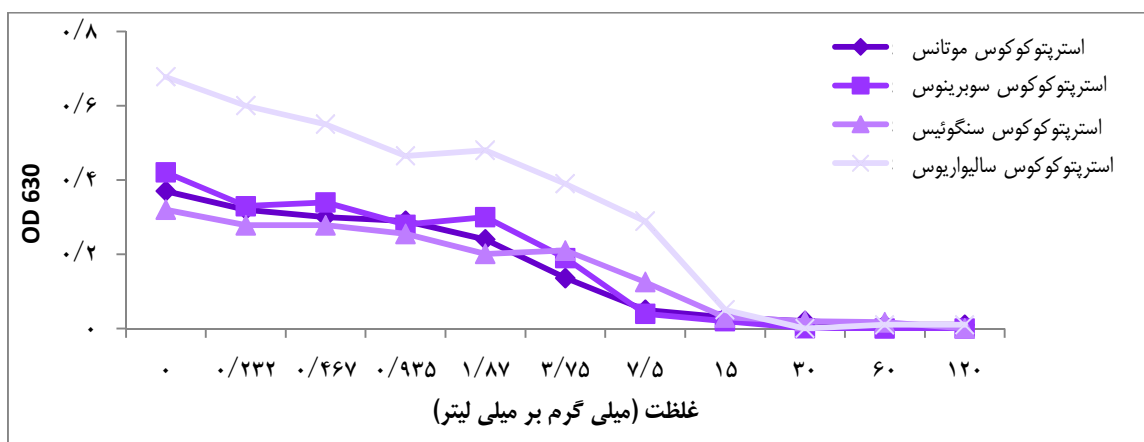
چاهک‌ها بعد از ۲۴ ساعت با ۲۰۰ میکرولیتر PBS (Phosphate buffered saline) و یا سرم فیزیولوژی برای خارج شدن سلول‌های غیر متصل، شستشو داده شد و به مدت ۵ دقیقه با کریستال ویوله ۲ درصد رنگ‌آمیزی گردید. بعد از شستشو با آب شهری، به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک ۳۳ درصد، اضافه و پس از گذشت ۱۵ دقیقه، جذب در طول موج ۴۹۲ نانومتر در دستگاه Elisa reader خوانده شد. درصد حذف بیوفیلم در مقایسه با گروه

استرپتوکوکوس سنگوئیس و استرپتوکوکوس سالیواریوس شد. با کاهش غلظت تا ۸/۷۵ میلی گرم بر میلی لیتر، درصد کاهش اتصال به طور معنی داری کاهش یافت ($P < ۰/۰۵۰$) (جدول ۱).

درصد کاهش اتصال استرپتوکوکوس موتانس در غلظت های مختلف عصاره‌ی الکلی گل محمدی به طور معنی داری نسبت به استرپتوکوکوس سوپرینوس، استرپتوکوکوس سنگوئیس و استرپتوکوکوس سالیواریوس بیشتر بود. همچنین، درصد کاهش اتصال استرپتوکوکوس سوپرینوس نسبت به استرپتوکوکوس سنگوئیس و استرپتوکوکوس سالیواریوس افزایش معنی داری داشت. استرپتوکوکوس سنگوئیس نسبت به استرپتوکوکوس سالیواریوس درصد کاهش اتصال بیشتری را نشان داد ($P < ۰/۰۵۰$) (شکل ۲).

سنگوئیس به ترتیب ۷/۵ و ۳۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود. کاهش معنی داری در میزان MBC سویه‌ی استرپتوکوکوس سوپرینوس نسبت به سه باکتری دیگر مشاهده شد ($P < ۰/۰۵۰$).

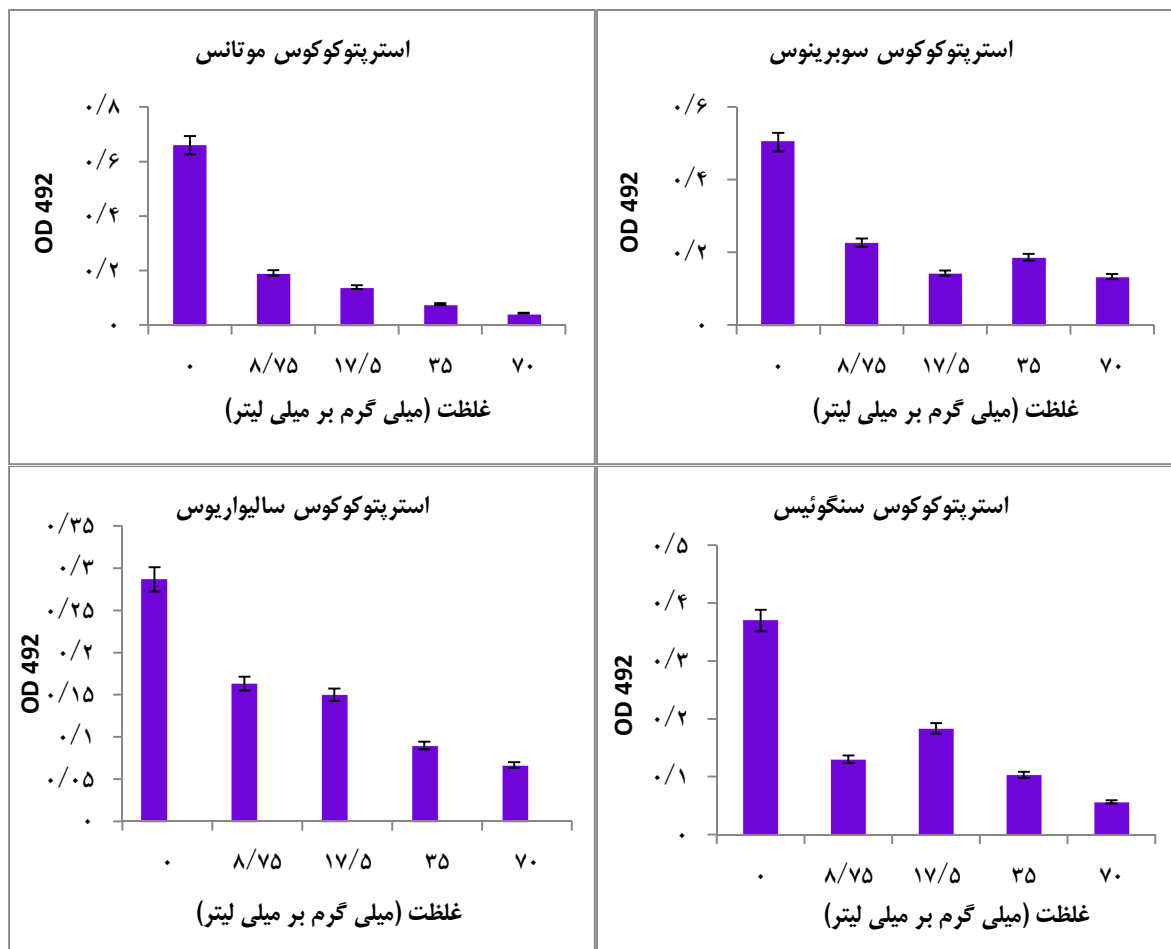
تأثیر رقت‌های مختلف عصاره‌ی گل محمدی بر تشکیل بیوفیلم باکتری‌های مورد بررسی: سنجش تأثیر عصاره‌ی گل محمدی بر تشکیل بیوفیلم استرپتوکوک‌های مورد آزمایش حاکی از کاهش معنی دار تشکیل بیوفیلم نسبت به گروه شاهد (فاقد عصاره) در رقت‌های مختلف این عصاره بود ($P < ۰/۰۵۰$). عصاره‌ی گل محمدی در غلظت ۷۰ میلی گرم بر میلی لیتر باعث کاهش ۹۳/۹۳، ۷۴/۹۰، ۸۴/۵۹ و ۷۹/۰۹ درصدی اتصال به ترتیب در استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سوپرینوس،



شکل ۱. تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر رشد استرپتوکوک‌های دهانی

جدول ۱. میزان کاهش اتصال استرپتوکوک‌ها در غلظت‌های مختلف عصاره‌ی گل محمدی

کاهش اتصال (درصد)				غلظت‌های مختلف (میلی گرم بر میلی لیتر)
استرپتوکوکوس سالیواریوس	استرپتوکوکوس سنگوئیس	استرپتوکوکوس سوپرینوس	استرپتوکوکوس موتانس	
۷۹/۰۹	۸۴/۵۹	۷۴/۹۰	۹۳/۹۳	۷۰
۶۸/۶۴	۷۲/۹۷	۶۴/۷۱	۸۹/۳۹	۳۵
۴۷/۷۳	۵۰/۵۴	۷۳/۰۱	۷۸/۹۳	۱۷/۵
۴۳/۲۰	۶۴/۸۶	۵۷/۱۶	۷۱/۰۶	۸/۷۵



شکل ۲. روند کاهش تشکیل بیوفیلم در غلظت‌های مختلف عصاره‌ی گل محمدی

سنگوئیس، استرپتوکوکوس اینترمدیوس و استرپتوکوکوس کانستلاتوس می باشد (۱۲). عفونت هم‌زمان استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سوبرینوس موجب افزایش شیوع پوسیدگی دندان می‌شود (۱۳).

با وجود این‌که مواد ضد میکروبی زیادی مانند آمپی‌سیلین، کلرهگزیدین، مترونیدازول و مواد ضد عفونی کننده‌ی آمونیوم چهار ظرفیتی و فنولی در پیشگیری از پوسیدگی دندان بسیار مؤثر هستند، اما در اثر مصرف این مواد، اثرات جانبی مختلفی مانند تغییر رنگ دندان‌ها، تغییر فلور دهان و روده و اسهال گزارش شده است (۱۴). بنابراین، در عرصه‌ی

بحث

پوسیدگی دندان یک بیماری میکروبی غیر قابل برگشت بافت‌های کلسیفیه دندان است که منجر به دمنرالیزاسیون بخش غیر آلی و تخریب مواد آلی دندان و در نهایت تشکیل حفره می‌گردد. این بیماری یک فرایند پیچیده و دینامیک دارد که عوامل زیادی روی آن تأثیر می‌گذارد و باعث پیشرفت بیماری می‌شود (۱۱). باکتری‌های اولیه‌ی مقاوم به اسید مرتبط با پلاک‌دندانی شامل استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس آنزینوسوس، استرپتوکوکوس گوردونی، استرپتوکوکوس اورالیس، استرپتوکوکوس میتیس، استرپتوکوکوس سالیواریوس، استرپتوکوکوس

دندان پزشکی نیز تمایل به استفاده از محصولات مشتق از گیاهان افزایش یافته است. شواهد نشان می‌دهد، جمعیت‌هایی که به طور منظم غذاها یا نوشیدنی‌های حاوی مواد فیتوشیمیایی در رژیم خود دارند، دارای سلامت دهانی بهتری هستند (۱۵).

گل محمدی در طب سنتی برای درمان درد سینه و شکم، مشکلات گوارشی، افسردگی، استرس‌های عصبی، مشکلات پوستی و سردرد توصیه شده است (۵). رخشنده و همکاران با بررسی اثرات ضد درد و ضد التهابی گل محمدی در موش و رت نشان دادند که عصاره‌ی الکلی، زمان تحمل درد را به میزان معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش می‌دهد که قابل مقایسه با مرفین (۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم) می‌باشد ($P < 0/001$). همچنین، عصاره‌ی الکلی اثر ضد التهابی قابل توجهی را (در حد دیکلوفناک سدیم) نشان داده است ($P < 0/001$) (۱۶).

حسین‌پور و همکاران در مطالعه‌ی خود به ارزیابی اثر بالینی دهان‌شویه‌ی گل محمدی در درمان آفت عودکننده پرداختند و به این نتیجه رسیدند که این دهان‌شویه بیشتر از داروهای مسکن در درمان آفت دهان عودکننده مؤثر است (۱۷). شکوهی‌نژاد و همکاران با بررسی تأثیر عصاره‌ی الکلی ۲ درصد گل محمدی در مقایسه با ۵/۲۵ درصد سدیم هیپوکلریت (NaOCl) و ۲ درصد کلرهگزیدین روی باکتری‌های عامل اندودونتیت شامل انتروکوکوس فکالیس، کاندیدا آلبیکنس، پورفیروموناس جینجیوالیس، اکتینومایسس نیوزلندی و فوزوباکتریوم نوکلئاتوم نشان دادند که هر سه‌ی این مواد اثر ضد میکروبی علیه میکروارگانیسم‌های ذکر شده دارند و بعد از ۱ دقیقه قادر به کشتن این میکروارگانیسم‌ها هستند (۱۸).

Ozkan و همکاران با بررسی تأثیر عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر ۱۵ نوع باکتری (باسیلوس سرئوس، انتروکوکوس فکالیس، میکوباکتریوم سمگماتیس، اشرشیاکلی، اشرشیاکلی O157:H7، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس ولگاریس، یرسینیا انتروکولیتیکا، انتروباکتر ائروژنز، سودوموناس آئروژنوزا، سالمونلا تیفی موریوم، سالمونلا انتریتیدیس، سودوموناس فلورسنس، آئروموناس هیدروفیلا و استافیلوکوکوس اورئوس) نشان دادند که عصاره‌ی این گیاه به جز اشرشیاکلی سایر عوامل بیماری‌زای فوق‌را مهار می‌کند (۱۹). تحقیق Shohayeb و همکاران به بررسی تأثیر عصاره‌ی مختلف گل محمدی بر روی سه قارچ پنی‌سیلیوم نوتاتوم، آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس و همچنین، باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، استرپتوکوکوس پیوژنز، آسینتوباکتر بومانی، کلبسیلا پنومونیه و میکوباکتریوم فلئی پرداخت. نتایج حاکی از آن بود که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساس‌تر هستند و میزان MIC و MBC آن‌ها به ترتیب ۲-۰/۱۲۵ و ۲-۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (۵).

Tsai و همکاران در مطالعه‌ی خود با بررسی تأثیر ضد میکروبی عصاره‌ی متانولی ۱۲ گیاه مختلف بر روی سویه‌های استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سوربینوس و استرپتوکوکوس سنگوئیس، میزان MIC عصاره‌ی متانولی گل محمدی را در مورد هر سه سویه بیشتر از ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند (۱). در تحقیق حاضر اثر ضد میکروبی عصاره‌ی گل محمدی بر چهار سویه‌ی استرپتوکوک عامل پوسیدگی دندان به روش

جستجوی انجام شده، گزارشی در مورد تأثیر گل محمدی بر روی قدرت اتصال استرپتوکوک‌های عامل پوسیدگی یافت نشد. با توجه به تأثیر مثبت این گیاه بر روی مهم‌ترین باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان، این ترکیب می‌تواند در فرمولاسیون دارویی مختلف برای پیشگیری و کنترل پوسیدگی دندان مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در گروه زیست‌شناسی دانشکده‌ی علوم و با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه اصفهان انجام گردید. بدین‌وسیله از این معاونت تشکر و قدردانی می‌نمایم.

Broth Microdilution بررسی گردید و نتایج نشان داد که عصاره‌ی این گیاه دارای اثر بازدارندگی رشد (در حداقل غلظت ۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداکثر غلظت ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر روی هر چهار سویه‌ی باکتری مورد مطالعه می‌باشد. این یافته‌ها با پژوهش Tsai و همکاران (۱) مطابقت دارد و اولین گزارش در مورد سویه‌ی استرپتوکوکوس سالیواریوس است. همچنین مشخص شد، عصاره‌ی گل محمدی تأثیر باکتری‌سیدال بر استرپتوکوک‌های عامل پوسیدگی دندان دارد که مطالعه‌ی مشابهی در این مورد یافت نشد.

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، غلظت‌های مختلف عصاره‌ی گل محمدی باعث کاهش تشکیل بیوفیلم برخی سویه‌های باکتری می‌شود. طبق

References

1. Tsai TH, Tsai TH, Chien YC, Lee CW, Tsai PJ. In vitro antimicrobial activities against cariogenic streptococci and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs. *Food Chem* 2008; 110(4): 859-64.
2. Huang R, Li M, Gregory RL. Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence* 2011; 2(5): 435-44.
3. Sano H, Shibasaki K, Matsukubo T, Takaesu Y. Effect of chitosan rinsing on reduction of dental plaque formation. *Bull Tokyo Dent Coll* 2003; 44(1): 9-16.
4. Palombo EA. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment of Oral Diseases. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 2011: 680354.
5. Shohayeb M, Abdel-Hameed ES, Bazaid ShA, Maghrabi I. Antibacterial and antifungal activity of *Rosa damascena* MILL. essential oil, different extracts of rose petals. *Global Journal of Pharmacology* 2014; 8(1): 1-7.
6. Jafari M, Zarban A, Pham S, Wang T. *Rosa damascena* decreased mortality in adult *Drosophila*. *J Med Food* 2008; 11(1): 9-13.
7. Boskabady MH, Shafei MN, Saberi Z, Amini S. Pharmacological effects of *Rosa damascena*. *Iran J Basic Med Sci* 2011; 14(4): 295-307.
8. Kermanshah H, Hashemi Kamangar S, Arami S, Mirsalehian A, Kamalinejad M, Karimi M, et al. In vitro evaluation of antibacterial activity of hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* and *Pimpinella anisum* against cariogenic bacteria. *J Dent Med* 2009; 22(2): 149-54. [In Persian].
9. Sattari M, Shahbazi N, Najar Peeryeh Sh. An assessment of antibacterial effect of alcoholic and aquatic extracts of *Eucalyptus* leaves on *Pseudomonas aeruginosa*. *Modares J Med Sci Pathol* 2006; 8(1): 19-23. [In Persian].
10. Kai-Larsen Y, Luthje P, Chromek M, Peters V, Wang X, Holm A, et al. Uropathogenic *Escherichia coli* modulates immune responses and its curli fimbriae interact with the antimicrobial peptide LL-37. *PLoS Pathog* 2010; 6(7): e1001010.
11. Gawri Sh, Shukla P, Chandrakar A. A survey of micro flora present in dental caries and it's relation to environmental factors. *Recent Research in Science and Technology* 2012; 4(3): 9-12.

12. Islam B, Khan SN, Khan AU. Dental caries: from infection to prevention. *Med Sci Monit* 2007; 13(11): RA196-RA203.
13. Cura F, Palmieri A, Girardi A, Martinelli M, Scapoli L, Carinci F. Lab-Test((R)) 4: Dental caries and bacteriological analysis. *Dent Res J (Isfahan)* 2012; 9(Suppl 2): S139-S141.
14. Bernardes WA, Lucarini R, Tozatti MG, Souza MG, Silva ML, Filho AA, et al. Antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* against oral pathogens: relevance of carnosic acid and carnosol. *Chem Biodivers* 2010; 7(7): 1835-40.
15. Gupta DA, Bhaskar DJ, Gupta RK, Karim B, Jain A, Dalai DR. Green tea: A review on its natural anti-oxidant therapy and cariostatic benefits. *Issues Biol Sci Pharm Res* 2014; 2(1): 8-12.
16. Rakhshandeh H, Doulati K, Hosseini M, Ismailzadeh, M. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory effects of *Rosa damascena* in mice and rats. *Iran J Basic Med Sci* 2004; 7(3): 151-6. [In Persian].
17. Hoseinpour H, Peel SA, Rakhshandeh H, Forouzanfar A, Taheri M, Rajabi O, et al. Evaluation of *Rosa damascena* mouthwash in the treatment of recurrent aphthous stomatitis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Quintessence Int* 2011; 42(6): 483-91.
18. Shokouhinejad N, Emaneini M, Aligholi M, Jabalameli F. Antimicrobial effect of *Rosa damascena* extract on selected endodontic pathogens. *J Calif Dent Assoc* 2010; 38(2): 123-6.
19. Ozkan G, Sagdic O, Baydar NG, Baydar H. Note: antioxidant and antibacterial activities of *Rosa damascena* flower extracts. *Food Science and Technology International* 2004; 10(4): 277-81.

In-Vitro Effect of Alcoholic Extract of Rosa Damascene Extract on Cariogenic Streptococci

Azam Aliasghari¹, Mohammad Rabbani PhD², Maryam Khoroushi DDS³,
Hamid Emami MSc⁴

Original Article

Abstract

Background: Tooth decay is the most common infectious disease that involves all groups, ages and classes of the society. Treatment of dental caries imposes high costs in all countries. Since the plants are safe and abundant natural resources, they have always been one of the major sources of pharmaceuticals. This study aimed to evaluate the antibacterial effect of alcoholic extract of Damask rose on cariogenic streptococci.

Methods: In this study, the antimicrobial effect of ethanol extract of Rosa damascena on the cariogenic streptococci, including Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, Streptococcus salivarius and Streptococcus sanguis was assessed via microtitre plate method for minimum inhibitor concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). The effect of the extract on attachment of these bacteria was surveyed. Results were analyzed using one-way analysis of variances.

Findings: The minimum inhibitor concentrations for the Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, Streptococcus salivarius and Streptococcus sanguis were 7.5, 7.5, 15.0, and 15.0 mg/ml, respectively; and minimum bactericidal concentration for these bacteria were 15.0, 7.5, 15.0, 30.0 mg/ml, respectively. In addition, it was shown that different dilutions of Rosa damascena extract decreased the biofilm formation in these bacteria between 43 to 93 percent.

Conclusion: Due to the antibacterial effect of Rosa damascena on all four strains of cariogenic bacteria, the extract can be used for prevention and control of dental caries.

Keywords: Dental caries, Oral streptococci, Rosa damascena, Antimicrobial effect

Citation: Aliasghari A, Rabbani M, Khoroushi M, Emami H. **In-Vitro Effect of Alcoholic Extract of Rosa Damascene Extract on Cariogenic Streptococci.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(327): 326-35

1- MSc Student, Department of Biology, School of Biology, University of Isfahan, Isfahan, Iran

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

3- Professor, Dental Material Research Center AND Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Lecture, Department of Biology, School of Biology, University of Isfahan, Isfahan, Iran

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

طراحی الگوریتم جایگاه لاپاراسکوپی در جراحی توده‌های تخمدانی بر مبنای نمره‌ی احتمال بدخیمی

دکتر ملیحه عرب^۱، دکتر زهرا هنرور^۲، دکتر ندا کاظمی^۳، دکتر مهدی یاسری^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کاربرد لاپاراسکوپی در جراحی‌های زنان و از جمله توده‌های تخمدانی، در سال‌های اخیر وسعت یافته است. در این مطالعه، جایگاه لاپاراسکوپی در جراحی توده‌های تخمدانی مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: ابتدا با استفاده از مدل OMPS1 (Ovarian malignancy prediction score)، بر مبنای یافته‌های مربوط به سن و سونوگرافی که حساسیت بالا دارد و سپس، با استفاده از مدل اختصاصی تر OMPS2، الگوریتم کاربرد و جایگاه لاپاراسکوپی در توده‌های تخمدانی طراحی شد.

یافته‌ها: در صورتی که جراح از مهارت سطح ۳ لاپاراسکوپی برخوردار باشد، بیماران با OMPS1 کمتر از ۲/۳ (رد بدخیمی) می‌توانند تحت لاپاراسکوپی قرار گیرند. در بقیه‌ی موارد، به شرط دسترسی به Frozen section، جراحی با لاپاراسکوپی شروع شود و در صورتی که جراح مهارت سطح چهارم لاپاراسکوپی را داشته باشد، تا در صورت نیاز به مرحله‌بندی کامل (با توجه به جواب پاتولوژی Frozen section) بتواند لاپاراسکوپی را ادامه دهد، تا انتهای جراحی رویکرد لاپاراسکوپی ادامه یابد.

نتیجه‌گیری: در جراحی توده‌های آدنکس، نحوه‌ی اداره‌ی بیمار با توجه به Frozen section و بر مبنای راهنمای بالینی تعیین می‌شود و بسته به وجود مهارت لاپاراسکوپی، می‌توان از این رویکرد استفاده کرد.

واژگان کلیدی: لاپاراسکوپی، توده‌های تخمدانی، جراحی

ارجاع: عرب ملیحه، هنرور زهرا، کاظمی ندا، یاسری مهدی. طراحی الگوریتم جایگاه لاپاراسکوپی در جراحی توده‌های تخمدانی بر

مبنای نمره‌ی احتمال بدخیمی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۷): ۳۳۶-۳۳۴

مقدمه

اولین بار Phillip Bozzini در سال ۱۸۰۵ تلاش کرد تا از روش آندوسکوپی در پزشکی استفاده کند. لاپاراسکوپی حدود ۱۰۰ سال بعد (در سال ۱۹۱۰) برای اولین بار توسط Jacobs از سوئد وارد حیطه‌ی پزشکی شد. این تکنیک در ابتدا تنها جهت تشخیص

حاملگی خارج از رحم، علت شکم حاد و یا اعمال جراحی بسیار ساده مانند بستن لوله‌های فالوپ استفاده می‌شد. تکنیک‌های لاپاراسکوپی در طی دهه‌ی گذشته پیشرفت خیره‌کننده‌ای داشته است (۱). لاپاراسکوپی نسبت به روش‌های سنتی مانند لاپاراتومی، مزیت‌هایی همچون اندازه‌ی کوچک‌تر

۱- استاد، گروه زنان، مرکز تحقیقات پیش‌گیری بیماری‌های زنان، بیمارستان امام حسین (ع)، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- دستیار فلوشیپ، گروه زنان، مرکز تحقیقات پیش‌گیری بیماری‌های زنان، بیمارستان امام حسین (ع)، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- دستیار، گروه زنان، مرکز تحقیقات پیش‌گیری بیماری‌های زنان، بیمارستان امام حسین (ع)، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

شکاف (Incision) در جراحی (۲)، دید بهتر داخل شکم و لگن (۳)، کاهش خونریزی حین عمل (۴)، بهبود سریع‌تر بیمار و بازگشت زودتر وی به محل کار (۵)، کاهش زمان بستری در بیمارستان، کاهش احتمال تب و یا عفونت، کاهش درد بعد از عمل، کاهش هزینه‌ها و عوارض بعد از عمل را داراست (۶). علاوه بر این، مدت زمان عمل جراحی لاپاراسکوپی از لاپاراتومی طولانی‌تر و وسایل به کار رفته جهت لاپاراسکوپی گرانتر از وسایل لاپاراتومی و اغلب یک‌بار مصرف می‌باشد (۷). برخی مطالعات، هزینه‌ی لاپاراسکوپی را بیش از لاپاراتومی گزارش کرده‌اند (۸، ۵). چندین مطالعه با در نظر گرفتن کل هزینه‌ی عمل و بستری بعد از عمل (که در لاپاراتومی طولانی‌تر از لاپاراسکوپی است)، به این نتیجه رسیده‌اند که هزینه‌ی کلی در لاپاراسکوپی از لاپاراتومی کمتر است (۹-۱۰).

محدودیت‌هایی مانند وجود فردی با مهارت کافی جهت انجام لاپاراسکوپی و وسایل و تکنولوژی مورد نیاز جراحی جهت انجام لاپاراسکوپی وجود دارد. در لاپاراسکوپی چهار سطح مهارت تعریف شده است که افزایش سطح مهارت از ۱ به ۴، جراحی‌های پیچیده‌تری را به همراه دارد (۱). در سال‌های اخیر لاپاراسکوپی به عنوان روش استاندارد چه در تشخیص و چه در درمان توده‌های آدنکس معرفی شده است (۱۱). بیشتر این توده‌ها به طور تصادفی در سونوگرافی تشخیص داده می‌شوند و بیشتر این بیماران نیز توسط متخصصین زنان تحت درمان نگهدارنده و یا جراحی قرار می‌گیرند. تشخیص افتراقی شامل طیف وسیعی از حالات خوش‌خیم و بدخیم بیماری است.

محور اصلی تصمیم‌گیری در مورد نوع جراحی (لاپاراتومی یا لاپاراسکوپی)، پیش‌بینی احتمال بدخیمی است. با اطلاع از احتمال بدخیمی، تصمیمات صحیحی در مورد محل عمل جراحی بیمار (بیمارستان منطقه ای یا سطح سوم)، نوع تخصص جراح (متخصص زنان، ژنیکوانکولوژیست و یا لاپاراسکوپیست)، نوع انسزیون و رویکرد جراحی (لاپاراتومی یا لاپاراسکوپی) گرفته می‌شود. در مطالعه‌ای توصیه شد موارد خوش‌خیم که در حال حاضر توسط متخصص زنان جراحی می‌شوند، با لاپاراسکوپی انجام گیرد (۱۲). احتمال بدخیمی یک توده‌ی آدنکس در مطالعات مختلف تفاوت دارد و بین ۱۸-۳۰ درصد تخمین زده می‌شود و با جمعیت مورد بررسی نیز ارتباط دارد (۲۵-۱۳).

اغلب توده‌های آدنکس که خوش‌خیم به نظر می‌رسند، توسط متخصصین عمومی زنان و بدون بررسی‌های کافی اداره می‌شوند. بسیاری از متخصصین زنان در مراکز جراحی می‌کنند که در صورت لزوم، امکان مشاوره با ژنیکوانکولوژیست وجود ندارد و در صورت نیاز به ادامه‌ی کار، لازم است با همکاری ژنیکوانکولوژیست نوبت دیگر و جراحی مجددی انجام دهند. بنابراین به یک روش منطقی جهت تفکیک توده‌های خوش‌خیم از توده‌های بدخیم لگنی قبل از جراحی نیاز است. امروزه آزمایش CA-۱۲۵ مفیدترین ابزار پیش‌بینی بدخیمی تخمدان قبل از جراحی به شمار می‌رود (۲۶). مقادیر CA-۱۲۵ در ۸۰ درصد زنان مبتلا به سرطان پیشرفته‌ی تخمدان افزایش می‌یابد، اما این افزایش تنها در ۶۰-۵۰ درصد بیماران در مرحله‌ی اولیه‌ی بیماری بروز می‌کند (۲۷).

۳۳۰۳ مورد جراحی توده‌ی تخمدان طراحی شده است و به وسیله‌ی فرمول زیر محاسبه می‌شود (۳۱).

$$\text{OMPS1} = \text{سن} \times 0.062 + \text{اندازه‌ی تومور (سانتی‌متر)} \times 0.12 + \text{(در توده‌ی توپر)} + 1/289 \text{ (در حضور آسیت)} + 0.758 \text{ (در توده‌ی دو طرفه)}$$

اگر نمره‌ی ۳/۶۵ از OMPS1 معیار قرار گیرد، حساسیت و اختصاصیت پیش‌بینی به ترتیب ۷۷/۹ و ۷۲/۹ درصد می‌باشد. OMPS1 تحت بازنگری قرار گرفته و OMPS2 به صورت زیر تعریف شده است (۳۲).

$$\text{OMPS2} = \text{OMPS1} + 1/444 \text{ (اگر } 200 < \text{CA-125)}$$

راهنماهای انجمن فوق تخصصی سرطان‌های زنان (Society of Gynecologic Oncology یا SGO) و کالج آمریکایی متخصصین زنان (ACOG یا American College of Gynecologists) در برخورد با توده‌های لگنی قبل از یائسگی (کمتر از ۵۰ سال) به ترتیب شامل مقدار CA-125 بیش از ۲۰۰، آسیت، شواهد متاستاز شکمی یا دوردست (در معاینه یا تصویربرداری) و تاریخچه‌ی فامیلی سرطان پستان یا تخمدان در منسوب درجه‌ی اول می‌باشد. معیارهای برخورد با توده‌های لگنی بعد از یائسگی (بیشتر یا مساوی ۵۰ سال) نیز شامل مقدار CA-125 بیش از ۳۵، آسیت، توده‌ی لگنی ثابت شده یا ندولار، شواهد متاستاز شکمی یا دوردست (در معاینه یا تصویر برداری) و تاریخچه‌ی فامیلی سرطان پستان یا تخمدان در منسوب درجه‌ی اول است (۳۳).

بررسی Dearking و همکاران در یک مطالعه‌ی چند مرکزی نشان داد که با استفاده از معیارهای

آزمایش CA-125 می‌تواند در تعدادی از حالات خوش خیم به خصوص در سنین قبل از یائسگی افزایش یابد (۲۹-۲۸). این آزمایش به تنهایی حساسیت و اختصاصیت کافی را برای تعیین تکلیف دقیق زنانی که دارای توده‌ی لگنی هستند، دارا نمی‌باشد و این مسأله به خصوص در موارد قبل از یائسگی مصداق دارد (۲۸). بعضی از راهنماهای بالینی، سطح CA-125 را با سایر مشخصات تلفیق می‌کنند تا ارجاع صحیح بدخیمی‌ها به فوق تخصص ژنیکوانکولوژی را به حداکثر و ارجاع موارد خوش خیم را به حداقل برسانند (۳۰).

شاخص ساده‌ای تحت عنوان شاخص خطر بدخیمی (Risk of malignancy index یا RMI) توسط Jacobs و همکاران، گزارش و سپس با اختلاف کمی در RMI2 نهایی شد (۳۰) که حساسیت ۸۵/۴ درصد و اختصاصیت ۹۶/۹ درصد را نشان داد. در این شاخص، آزمایش CA-125 سرمی، وضعیت یائسگی و نمای سونوگرافی تلفیق می‌شوند. پنج یافته‌ی سونوگرافی پیشنهاد دهنده‌ی بدخیمی شامل مولتی لوکوله بودن، بخش‌های توپر یا توده‌ای (Solid)، دو طرفه بودن، وجود آسیت یا شواهدی از متاستاز، نمره‌ی سونوگرافی (U) را تشکیل می‌دهند. ارجاع در همه‌ی زنانی که RMI بیش از ۲۰۰ دارند، توصیه می‌شود.

$$\text{شاخص خطر بدخیمی (RMI)} = \text{نمره‌ی سونوگرافی (U)} \times \text{وضعیت یائسگی (M)} \times \text{مقدار CA-125 سرم}$$

نمره‌ی احتمال بدخیمی تخمدان (Ovarian malignancy probability score یا OMPS1) بر مبنای مطالعه‌ی چند مرکزی روی

نمره‌ی OMPS1 توده‌ی آدنکس آنان بین ۲/۳-۳/۶۵ بود، حساسیت و اختصاصیت پیش‌بینی بدخیمی در هر نمره‌ی OMPS2 محاسبه شد (جدول ۱). در مطالعه‌ی حاضر نمره‌ی ۳/۸۲ از OMPS2 در گروه بیماران با خطر متوسط بر مبنای OMPS1 (۲/۳-۳/۶۵) به دست آمد و به ترتیب حساسیت و اختصاصیت ۶۴/۰ و ۷۶/۹ درصد بود (جدول ۱). سپس با استفاده از این نتایج، طراحی الگوریتم صورت گرفت. در نهایت داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها

بر مبنای OMPS1، نمره‌ی کمتر از ۲/۳ با حساسیت ۱۰۰ درصد، می‌تواند به عنوان قدم اول در پیش‌بینی بدخیمی به کار رود. بنابراین، بیماران با نمره‌ی کمتر از ۲/۳ را می‌توان در بیمارستان‌های محلی در منطقه‌ی سکونت خودشان لاپاراتومی و در صورت داشتن مهارت سطح سوم و بالاتر، لاپاراسکوپی کرد. در مقابل بیماران دارای نمره‌ی OMPS1 بیش از ۳/۶۵، از نظر بدخیمی با اختصاصیت ۷۲/۹ درصد پرخطر هستند و باید به مراکز درمانی سطح سوم ارجاع شوند که دسترسی به Frozen section و فوق تخصص ژنیکوانکولوژی میسر باشد.

در گروه بیماران با خطر متوسط (نمره‌ی OMPS1 بین ۲/۳-۳/۶۵)، با استفاده از مدل OMPS2 به عنوان مدل اختصاصی‌تر که در آن CA-۱۲۵ اضافه شده است، می‌توان در مورد نحوه‌ی شروع عمل تصمیم‌گیری کرد. نمره‌ی OMPS2 در این بیماران

ارجاع ACOG برای تشخیص بدخیمی و ارجاع افراد پر خطر از نظر سرطان تخمدان، ارزش پیش‌بینی مثبت در افراد قبل از یائسگی ۳۳/۸ درصد و بعد از یائسگی ۵۹/۵ درصد می‌باشد (۳۴). بیشتر موارد راهنماهای بالینی پیش‌بینی و ارجاع توده‌ی آدنکس، درجاتی از خطا را دارند.

در سال‌های اخیر استفاده از روش لاپاراسکوپی در جراحی بدخیمی تخمدان به خصوص در مراحل اولیه مطرح شده است (۸، ۶، ۱) و مهارت کافی جراح در انجام عمل لاپاراسکوپی و همچنین، وجود وسایل لازم جهت مرحله‌بندی کامل تومورهای تخمدان برای اقدام به لاپاراسکوپی ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به این موضوع، هدف از مطالعه‌ی حاضر طراحی الگوریتم رویکرد صحیح جراحی در توده‌های آدنکس بود.

روش‌ها

در این مطالعه، الگوریتم بر مبنای نمره‌ی OMPS1 که حساسیت بالایی (۱۰۰ درصد) دارد، جهت رد کردن بدخیمی پایه‌ریزی گردید (۳۴). در مرحله‌ی بعدی اختصاصیت بالا برای پیش‌بینی دقیق بدخیمی به کار گرفته شد. OMPS1 و OMPS2 بر اساس فرمول‌های پیش‌گفته محاسبه شد.

در مطالعه‌ی حاضر ۴۳۰ بیمار دارای توده‌ی آدنکس که تحت جراحی قرار گرفته بودند، وارد مطالعه شدند. مواردی که نمره‌ی OMPS1 بین ۲/۳-۳/۶۵ داشتند، جدا شدند و حساسیت و اختصاصیت این گروه برای پیش‌بینی بدخیمی در هر نمره محاسبه گردید. در ۱۸۰ نفر از جمعیت کل که

جدول ۱. حساسیت و اختصاصیت به ازای هر نمره OMPS2 (Ovarian malignancy prediction score) در بیماران با نمره OMPS1 بین ۲/۳-۳/۶۵

۳/۸۲) تقسیم کند. همان‌گونه که در جدول ۱ نشان داده شده است، اختصاصیت پیش‌بینی بدخیمی در نمره OMPS2 بیش از ۳/۸۲، حدود ۷۶/۹ درصد است و این افراد مانند کسانی که نمره OMPS1 بیش از ۳/۶۵ دارند، اداره می‌شوند. دو مسیر برای مدیریت افراد دارای نمره کمتر از ۳/۸۲ از OMPS2 وجود دارد؛ می‌توان مثل گروه قبل آن‌ها را در شرایط دسترسی به همه‌ی امکانات فوق تخصصی جراحی کرد و یا این‌که جراحی لاپاراتومی یا لاپاراسکوپی توسط متخصص زنان در مرکزی که در صورت لزوم دسترسی به فوق تخصص ژنیکوانکولوژی و Frozen section وجود داشته باشد، شروع شود.

در صورتی که Frozen section بدخیمی نشان دهد، عمل جراحی با همکاری فوق تخصص ژنیکوانکولوژی و متخصص زنان تکمیل می‌گردد. چنانچه عمل با لاپاراسکوپی شروع شود و جواب Frozen section بدخیم باشد، اگر سرطان در مراحل اولیه است و جراح مهارت سطح چهارم لاپاراسکوپی را داشته باشد، مرحله‌بندی را با لاپاراسکوپی و با کمک ژنیکوانکولوژیست کامل می‌کند و اگر هیچ‌یک از جراحان مهارت کافی را جهت لاپاراسکوپی نداشتند، لاپاراسکوپی به لاپاراتومی تبدیل شده، عمل جراحی با کمک ژنیکوانکولوژیست کامل می‌شود (الگوریتم) (شکل ۱).

حساسیت (درصد)	اختصاصیت (درصد)	نمره OMPS2
۱۰۰	۰/۰	۲/۳
۹۴/۱	۴/۴	۲/۴
۹۴/۱	۱۰/۶	۲/۵
۹۴/۱	۱۳/۸	۲/۶
۹۴/۱	۱۶/۹	۲/۶۳
۸۸/۲	۲۰/۰	۲/۷
۸۸/۲	۲۶/۳	۲/۸
۸۸/۲	۳۵/۶	۲/۹
۸۲/۴	۴۳/۱	۳/۰
۷۰/۶	۴۹/۴	۳/۱
۷۰/۶	۵۷/۵	۳/۲
۷۰/۶	۶۱/۳	۳/۳
۷۰/۶	۶۸/۱	۳/۴
۶۴/۷	۷۱/۳	۳/۵۱
۶۴/۷	۷۵	۳/۶۷
۶۴/۷	۷۵/۶	۳/۷۷
۶۴/۷	۷۶/۹	۳/۸۲
۵۸/۸	۷۶/۹	۳/۹
۵۸/۸	۷۸/۱	۴/۰
۵۸/۸	۷۹/۴	۴/۱
۵۸/۸	۸۲/۵	۴/۲
۵۸/۸	۸۶/۳	۴/۳
۴۷/۱	۸۸/۸	۴/۴۳
۴۱/۲	۹۱/۳	۴/۵۲
۴۱/۲	۹۴/۴	۴/۶۲
۳۵/۳	۹۵/۰	۴/۷
۲۹/۴	۹۶/۹	۴/۸
۲۹/۴	۹۸/۱	۵/۵۹
۱۱/۸	۹۸/۱	۶/۵

OMPS: Ovarian malignancy prediction score

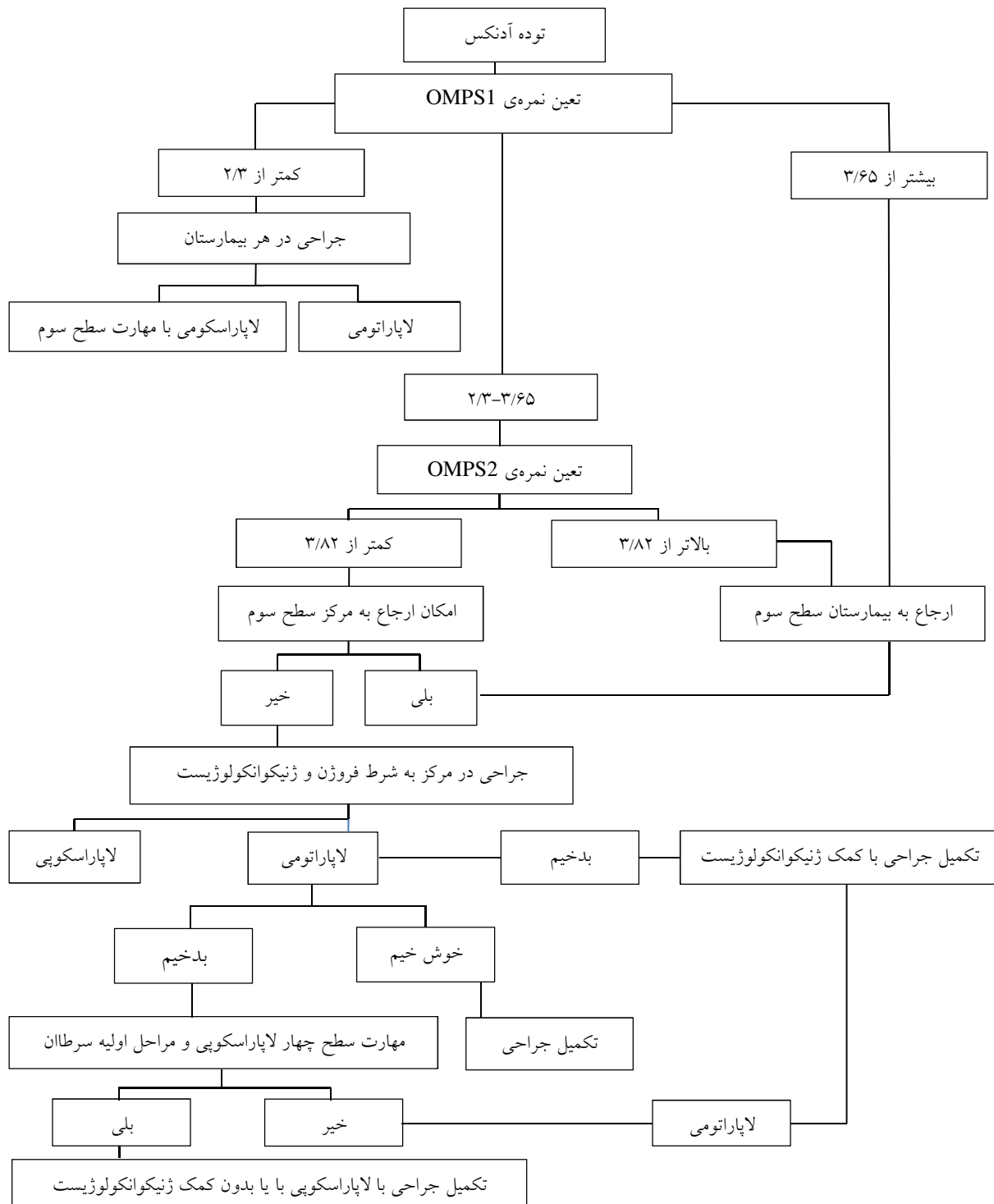
می‌تواند آنان را به دو گروه نزدیک به پرخطر (نمره‌ی بیشتر از ۳/۸۲) و با خطر متوسط (نمره‌ی کمتر از

بحث

در صورت مهیا بودن همه‌ی شرایط، می‌توان بیماران را ابتدا تحت لاپاراسکوپی قرار داد و پس از دسترسی به پاسخ Frozen section، به ادامه‌ی جراحی با

وجود ندارد. بنابراین می‌توان با توجه به درجه‌ی احتمال بدخیمی، بیماران را به روش‌های مختلف و در شرایط و امکانات مختلف تحت درمان قرار داد.

لاپاراسکوپی (بسته به مهارت جراح در لاپاراسکوپی) و یا تبدیل آن به لاپاراتومی تصمیم گرفت. در بسیاری از موارد، دسترسی به تمام امکانات ذکر شده



شکل ۱. الگوریتم انتخاب رویکرد جراحی
OMPS: Ovarian malignancy prediction score

داشت. بعضی از یافته‌های قابل توجه سونوگرافی مانند توده‌ی توپر، توده‌ی دو طرفه و اندازه‌ی توده که در موارد سرطان پیشرفته‌ی تخمدان مثبت می‌شوند، در RMI در نظر گرفته نشده است. راهنمای ارجاع SGO و ACOG در مورد توده‌های آدنکس که به تازگی تشخیص داده شده‌اند، می‌تواند ۷۰ درصد سرطان‌های تخمدان را قبل از یائسگی و ۹۴ درصد را بعد از یائسگی تشخیص دهد. ارزش پیش‌بینی مثبت (Positive predictive value یا PPV) قبل و بعد از یائسگی به ترتیب ۳۳/۸ و ۵۹/۵ درصد می‌باشد؛ در حالی که ارزش پیش‌بینی منفی (Negative predictive value یا NPV) در هر دو گروه بیش از ۹۰ درصد است. محدودیت‌هایی که برای RMI و راهنماهای SGO و ACOG وجود دارند، در مدل OMPS وجود ندارد.

نتیجه‌گیری

پیشنهاد می‌شود که در ابتدا بیماران با مدل OMPS1 تفکیک شوند و با داشتن نمره‌ی بیش از ۳/۶۵، ارجاع و با نمره‌ی کمتر از ۲/۳ در بیمارستان محلی فقط در صورت داشتن مهارت سطح سوم، لاپاراسکوپی شوند. در نمره‌ی بین ۲/۳-۳/۶۵، از مدل OMPS2 استفاده گردد. ارجاع در موارد نمره‌ی OMPS2 بیشتر از ۳/۸۲ ضروری به نظر می‌رسد و در نمره‌ی کمتر از آن می‌توان ارجاع کرد یا به شرط دسترسی به Frozen section و در صورت لزوم ژنیکوانکولوژیست، جراحی توسط متخصص زنان انجام گیرد. شروع جراحی با لاپاراسکوپی در این موارد در صورتی مجاز است که مهارت لاپاراسکوپی سطح چهار وجود داشته باشد؛ به طوری که در

برخی محدودیت‌ها در مدل RMI (به عنوان یک روش پیش‌بینی احتمال بدخیمی) وجود دارد که در ادامه به آن اشاره شده است.

این مدل کیفی است. برای مثال، همه‌ی بیماران یائسه صرف‌نظر از سن دقیق، نمره‌ی یکسانی می‌گیرند (۳۵).

هر پنج یافته‌ی سونوگرافی یکسان تلقی می‌شود؛ در حالی که یافته‌ی سونوگرافی منطقه‌ی توده‌ای در مقایسه با بقیه‌ی یافته‌ها، پیش‌بینی کننده‌ی قوی‌تری برای بدخیمی است.

اندازه‌ی تومور در مدل در نظر گرفته نشده است. سونوگرافی به عنوان یک روش حساس (۳۰) و اندازه‌گیری CA-۱۲۵ سرمی به عنوان روشی اختصاصی (۳۰) در پیش‌بینی بدخیمی ترکیب می‌شوند؛ در حالی که در ارجاع، تست حساس در قدم اول و تست اختصاصی در قدم بعدی لازم است.

محدودیت‌های مذکور در مدل OMPS1 مشاهده نمی‌شوند. به علت این که مبنای تست آنالیز رگرسیون است، وزن هر عامل مانند هر سال افزایش سن یا هر سانتی‌متر اندازه یا ارزش هر یافته‌ی سونوگرافی، به طور دقیق محاسبه می‌شود. در مدل OMPS2، اندازه‌گیری CA-۱۲۵ سرمی (۳۰) به OMPS1 اضافه می‌گردد.

راهنماهای ارجاع SGO و ACOG در مورد احتمال بدخیمی در توده‌ی آدنکس بر مبنای عواملی همچون میزان CA-۱۲۵ (بیشتر از ۲۰۰ قبل از یائسگی و بیش از ۳۵ در افراد یائسه)، آسیت، شواهد متاستاز شکمی و تاریخچه‌ی فامیلی است (۳۵). در مطالعه‌ی حاضر، وضعیت یائسگی به جای سن در نظر گرفته شد. این محدودیت در RMI نیز وجود

برای بیماران به کار برد.

صورت گزارش بدخیمی در Frozen section، بتوان جراحی را با لاپاراسکوپی ادامه داد. لازم به ذکر است که در موارد بدخیمی‌های پیشرفته، تبدیل لاپاراسکوپی به لاپاراتومی ضروری می‌باشد. به این ترتیب و با استفاده از الگوریتم معرفی شده، می‌توان ارجاع و لاپاراسکوپی- لاپاراتومی را به طور مناسب

تشکر و قدردانی

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

References

1. Rock JA, Jones HW. Te Linde's operative gynecology. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2008.
2. Gad MS, El Khouly NI, Soto E, Brodman M, Chuang L, Nezhat FR, et al. Differences in perioperative outcomes after laparoscopic management of benign and malignant adnexal masses. *J Gynecol Oncol* 2011; 22(1): 18-24.
3. Medeiros LR, Rosa DD, Bozzetti MC, Fachel JM, Furness S, Garry R, et al. Laparoscopy versus laparotomy for benign ovarian tumour. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; (2): CD004751.
4. Medeiros LR, Stein AT, Fachel J, Garry R, Furness S. Laparoscopy versus laparotomy for benign ovarian tumor: a systematic review and meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2008; 18(3): 387-99.
5. Galaal K, Bryant A, Fisher AD, Al-Khaduri M, Kew F, Lopes AD. Laparoscopy versus laparotomy for the management of early stage endometrial cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 9: CD006655.
6. Demir RH, Marchand GJ. Adnexal masses suspected to be benign treated with laparoscopy. *JSLs* 2012; 16(1): 71-84.
7. Liu CS, Nagarsheth NP, Nezhat FR. Laparoscopy and ovarian cancer: a paradigm change in the management of ovarian cancer? *J Minim Invasive Gynecol* 2009; 16(3): 250-62.
8. Covens AL, Dodge JE, Lacchetti C, Elit LM, Le T, Devries-Aboud M, et al. Surgical management of a suspicious adnexal mass: a systematic review. *Gynecol Oncol* 2012; 126(1): 149-56.
9. Panici PB, Muzii L, Palaia I, Mancini N, Bellati F, Plotti F, et al. Minilaparotomy versus laparoscopy in the treatment of benign adnexal cysts: a randomized clinical study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007; 133(2): 218-22.
10. Carley ME, Klingele CJ, Gebhart JB, Webb MJ, Wilson TO. Laparoscopy versus laparotomy in the management of benign unilateral adnexal masses. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2002; 9(3): 321-6.
11. Berek JS. Berek and Novak's gynecology. 15th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2011.
12. Colomer AT, Jimenez AM, Bover Barcelo MI. Laparoscopic treatment and staging of early ovarian cancer. *J Minim Invasive Gynecol* 2008; 15(4): 414-9.
13. Mage G, Canis M, Manhes H, Pouly JL, Wattiez A, Bruhat MA. Laparoscopic management of adnexal cystic masses. *J Gynecol Surg* 1990; 6(2): 71-9.
14. Mecke H, Lehmann-Willenbrock E, Ibrahim M, Semm K. Pelviscopic treatment of ovarian cysts in premenopausal women. *Gynecol Obstet Invest* 1992; 34(1): 36-42.
15. Nezhat F, Nezhat C, Welander CE, Benigno B. Four ovarian cancers diagnosed during laparoscopic management of 1011 women with adnexal masses. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167(3): 790-6.
16. Hulka JF, Parker WH, Surrey MW, Phillips JM. Management of ovarian masses. AAGL 1990 survey. *J Reprod Med* 1992; 37(7): 599-602.
17. Canis M, Mage G, Pouly JL, Wattiez A, Manhes H, Bruhat MA. Laparoscopic diagnosis of adnexal cystic masses: a 12-year experience with long-term follow-up. *Obstet Gynecol* 1994; 83(5 Pt 1): 707-12.
18. Marana R, Vittori G, Campo S, Fanfani R, Montanino G, Casa A. Operative Laparoscopy for Adnexal Cystic Masses in Patients Under 40 Years of Age. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1994; 1(4, Part 2): S20.
19. Wenzl R, Lehner R, Husslein P, Sevelde P. Laparoscopic surgery in cases of ovarian malignancies: an Austria-wide survey. *Gynecol Oncol* 1996; 63(1): 57-61.
20. Childers JM, Nasser A, Surwit EA. Laparoscopic management of suspicious

- adnexal masses. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175(6): 1451-7.
21. Canis M, Pouly JL, Wattiez A, Mage G, Manhes H, Bruhat MA. Laparoscopic management of adnexal masses suspicious at ultrasound. *Obstet Gynecol* 1997; 89(5 Pt 1): 679-83.
 22. Hidlebaugh DA, Vulgaropulos S, Orr RK. Treating adnexal masses. Operative laparoscopy vs. laparotomy. *J Reprod Med* 1997; 42(9): 551-8.
 23. Malik E, Bohm W, Stoz F, Nitsch CD, Rossmannith WG. Laparoscopic management of ovarian tumors. *Surg Endosc* 1998; 12(11): 1326-33.
 24. Mettler L. The cystic adnexal mass: patient selection, surgical techniques and long-term follow-up. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2001; 13(4): 389-97.
 25. Valentin L, Ameye L, Testa A, Lecuru F, Bernard JP, Paladini D, et al. Ultrasound characteristics of different types of adnexal malignancies. *Gynecol Oncol* 2006; 102(1): 41-8.
 26. Gadducci A, Ferdeghini M, Prontera C, Moretti L, Mariani G, Bianchi R, et al. The concomitant determination of different tumor markers in patients with epithelial ovarian cancer and benign ovarian masses: relevance for differential diagnosis. *Gynecol Oncol* 1992; 44(2): 147-54.
 27. Posadas EM, Davidson B, Kohn EC. Proteomics and ovarian cancer: implications for diagnosis and treatment: a critical review of the recent literature. *Curr Opin Oncol* 2004; 16(5): 478-84.
 28. Moss EL, Hollingworth J, Reynolds TM. The role of CA125 in clinical practice. *J Clin Pathol* 2005; 58(3): 308-12.
 29. Lewandrowski K. Managing utilization of new diagnostic tests. *Clin Leadersh Manag Rev* 2003; 17(6): 318-24.
 30. Jacobs I, Oram D, Fairbanks J, Turner J, Frost C, Grudzinskas JG. A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound and menopausal status for the accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer. *Br J Obstet Gynaecol* 1990; 97(10): 922-9.
 31. Arab M, Yaseri M, Farzaneh M, Moridi A, Tehranian A, Sheibani K. The construction and validation of a new ovarian malignancy probability score (OMPS) for prediction of ovarian malignancy. *Iran J Cancer Prev* 2010; 3(3): 132-8.
 32. Arab M, Yaseri M, Ashrafganjoi T, Maktabi M, Noghabae G, Sheibani K. Comparison of two ovarian malignancy prediction models based on age sonographic findings and serum CA125 measurement. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13(8): 4199-202.
 33. Im SS, Gordon AN, Buttin BM, Leath CA, III, Gostout BS, Shah C, et al. Validation of referral guidelines for women with pelvic masses. *Obstet Gynecol* 2005; 105(1): 35-41.
 34. Dearing AC, Aletti GD, McGree ME, Weaver AL, Sommerfield MK, Cliby WA. How relevant are ACOG and SGO guidelines for referral of adnexal mass? *Obstet Gynecol* 2007; 110(4): 841-8.
 35. Le T, Giede C, Salem S, Lefebvre G, Rosen B, Bentley J, et al. Initial evaluation and referral guidelines for management of pelvic/ovarian masses. *J Obstet Gynaecol Can* 2009; 31(7): 668-80.

Algorithm of Laparoscopy Choice in Ovarian Mass Surgery According to Malignancy Probability Score

Maliheh Arab MD¹, Zahra Honarvar MD², Neda Kazemi MD³, Mehdi Yaseri PhD⁴

Original Article

Abstract

Background: Use of laparoscopy in gynecologic surgeries, including adnexal masses, has increased in recent years. The present research intended to study the role of laparoscopy in adnexal masses surgery.

Methods: The algorithm for the use and role of laparoscopy in adnexal masses surgery was designed via using first, the model of Ovarian Malignancy Prediction Score (OMPS1) according to findings related to age and ultrasound with high sensitivity and then, the model of OMPS2 (a more specific model).

Findings: In case, the surgeon possesses the skill for the level three of laparoscopy, the patients with OMPS1 of less than 2.3 (rule out of malignancy) may undergo laparoscopy. As concerns other cases, provided that frozen section is available, surgery starts with laparoscopy and shall continue up to the end with complete staging, in case the surgeon possesses the skill for the level four of laparoscopy.

Conclusion: In adnexal masses surgery, management of the patients is determined via using frozen section and on the basis of the clinical guideline and this method may be used depending on the skill the surgeon possesses for laparoscopy.

Keywords: Laparoscopy, Adnexal masses, Surgery

Citation: Arab M, Honarvar Z, Kazemi N, Yaseri M. Algorithm of Laparoscopy Choice in Ovarian Mass Surgery According to Malignancy Probability Score. J Isfahan Med Sch 2015; 33(327): 336-45

1- Professor, Department of Gyneco-oncology, Preventative Gynecology Research Center (PGRC), Imam Hossein Medical Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Fellowship Resident, Department of Gyneco-oncology, Preventative Gynecology Research Center (PGRC), Imam Hossein Medical Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Resident, Department of Gyneco-oncology, Preventative Gynecology Research Center (PGRC), Imam Hossein Medical Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Department of Statistics and Epidemiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Maliheh Arab MD, Email: drmarab@yahoo.com

بیان پروانسولین انسانی در گیاه با استفاده از ناقل pVUT (Plasmid Viral University of Tehran)

مهناز خیراللهی^۱، دکتر علی اکبر شاه نجات بوشهری^۲، دکتر مجید خیراللهی^۳،
فریبا ابوئی مهریزی^۴، دکتر هوشنگ علیزاده^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: انسولین هورمون پروتئینی است که توسط سلول‌های بتای پانکراس ترشح می‌شود. به علت معایب تولید پروتئین‌های نوترکیب در میکروارگانسیم‌ها، هزینه به نسبت بالا، امکان آلودگی با پروتئین‌های سمی و مراحل هزینه‌بر خالص‌سازی، تولید پروتئین‌های نوترکیب در گیاهان امری قابل بررسی است. توسعه سیستم بیان گذرا بر پایه‌ی نوع حذف شده‌ی RNA-2 ویروس موزائیک لوبیا چشم بلبلی (CPMV-HT) یا (Cowpea Mosaic Virus-Hyper Translatable)، امکان تولید سریع و سطوح بالای پروتئین‌ها را بدون استفاده از همانندسازی ویروسی فراهم کرده است.

روش‌ها: در این مطالعه، سازه‌های pBI121-Proinsulin-Zera (pBI-ProZ) در بر دارنده‌ی توالی ژن پروانسولین انسانی و Zera (دومین انتهایی N غنی از پرولین گاما- زئین ذرت) و pCAMBIA1304-Proinsulin-Extensin (pCAMBIA-ProE) در بر دارنده‌ی سیستم بیانی CPMV-HT، به منظور بهبود ترجمه‌ی ژن پروانسولین انسانی و توالی سیگنال پپتید اکستنسین هویج ساخته شد. این دو سازه، به واسطه‌ی باکتری *Agrobacterium tumefaciens* pv. C58، به صورت بیان گذرا به گیاهان کاهو و یونجه انتقال داده شدند. تحلیل آماری این پژوهش بر پایه‌ی آزمایش فاکتوریل، در قالب طرح به‌کلی تصادفی بر روی غلظت پروانسولین تولیدی در هر گرم برگ تراریخت صورت گرفت. بیان ژن پروانسولین در بافت گیاهی تراریخت در سطح رونویسی، با استفاده از واکنش Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) و در سطح ترجمه، با استفاده از آزمون لکه‌گذاری نقطه‌ای و Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) مورد تأیید قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان پروانسولین فعال تولیدی با سازه‌های pCAMBIA-ProE و pBI-ProZ، در برگ‌های یونجه تراریخت، به ترتیب ۶/۸۲ و ۴/۳۲ نانوگرم در هر گرم برگ تر و در برگ‌های کاهوی تراریخت، به ترتیب ۶/۶ و ۳/۸ نانوگرم در هر گرم برگ تر بود.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق، میزان بیان پروتئین پروانسولین در سازه‌ی pCAMBIA-ProE در بر دارنده‌ی خصوصیات سیستم بیانی CPMV-HT، بیشتر از سازه‌ی pBI-ProZ بود.

واژگان کلیدی: ژن پروانسولین انسانی، بیان گذرا، سیستم بیانی Cow Pea Mosaic Virus-Hyper Translatable (CPMV-HT)، بافت گیاهی تراریخت

ارجاع: خیراللهی مهناز، شاه نجات بوشهری علی اکبر، خیراللهی مجید، ابوئی مهریزی فریبا، علیزاده هوشنگ. بیان پروانسولین انسانی در گیاه با استفاده از ناقل pVUT (Plasmid Viral University of Tehran). مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۷): ۳۴۶-۳۴۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و پژوهشکده‌ی پیش‌گیری اولیه از بیماری‌های غیرواگیر و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۵- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

Email: halizade@ut.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: دکتر هوشنگ علیزاده

مقدمه

انسولین، هورمونی پروتئینی است که توسط سلول‌های بتای پانکراس ترشح می‌شود و در کنترل بیماری دیابت بسیار حائز اهمیت می‌باشد. انسولین، پپتیدی با ۵۱ آمینواسید و دارای وزن مولکولی ۵/۸ کیلودالتون است که از پیش‌ماده‌ی خود، یعنی پروانسولین، مشتق می‌شود. پروانسولین به صورت یک پپتید ۱۱۰ آمینواسیدی در پانکراس تولید می‌شود که شامل یک توالی راهنما با ۲۴ و مولکول پروانسولین با ۸۶ آمینواسید است. مولکول پروانسولین شامل زنجیره‌ی B با ۳۰، زنجیره‌ی C با ۳۴ و زنجیره‌ی A با ۲۱ آمینواسید است. در طول سنتز انسولین در پانکراس، زنجیره‌ی C توسط فعالیت پروهورمون کانورتازهای ۲ و ۳ به ترتیب در اتصال‌های بین زنجیره‌های B/C و A/C شکسته می‌شود و انسولین با ۵۱ آمینواسید از طریق پیوندهای دی‌سولفیدی بین زنجیره‌های A و B شکل می‌گیرد (۱).

گیاهان، از نظر اقتصاد و سلامت محصول تولیدی، در مقایسه با سیستم‌های تولید باکتریایی، مخمر و سلول‌های حیوانی، دارای مزایای زیادی نظیر تولید در مقیاس وسیع، توانایی تولید پروتئین‌های پیچیده و فعال از نظر بیولوژیک و عدم حضور پاتوژن‌های حیوانی آلوده‌کننده هستند (۲). همچنین، بیان پروتئین‌های نوترکیب در گیاهان به ۱۰-۲ درصد از هزینه‌ی سیستم‌های میکروبی نیاز دارد (۳).

بیان گذرا، روشی رایج جهت ارزیابی ظرفیت سلول‌های گیاهی در تولید یک پروتئین خاص یا سنجنش سازه‌های بیانی مختلف است که با استفاده از آگرواینفیلتریشن انجام می‌شود. در این روش، به جای الحاق و وارد کردن ژن به داخل ژنوم گیاه، ژن

خارجی به داخل هسته‌ی گیاه تحویل داده می‌شود و در آن جا، به سرعت به تولید موقت پروتئین هدف هدایت می‌گردد. این روش دارای مزایایی شامل سطوح بسیار بالای تجمع، به همراه تولید سریع‌تر پروتئین است (۴). به طور کلی، بیان موقت محدود به بافتی می‌شود که با سوسپانسیون آگروباکتریوم نفوذپذیر شده است و به ناچار، تعداد بافت‌های موجود را محدود و در نتیجه بر روی حداکثر سطوح بیان پروتئین تأثیر می‌گذارد (۵-۶).

یک راه دستیابی به حداکثر سطوح بیان پروتئین شامل استفاده از ناقل‌های ویروسی بر پایه‌ی همانندسازی مانند ویروس دوبخشی موزائیک لوبیا چشم بلبلی است؛ این سیستم‌ها دارای معایبی نظیر محدودیت اندازه و طبیعت توالی‌های ورودی، تجمع موتاسیون‌ها در داخل توالی مورد نظر و مشکلات آلودگی زیستی هستند (۷، ۵).

به عنوان یک روش جایگزین، استفاده از سیستم‌های بیانی قابل همانندسازی، به تازگی سیستم بیان گذرا بر پایه‌ی نوع حذف شده‌ی RNA-2 ویروس موزائیک لوبیا چشم بلبلی (CPMV-HT یا Cow Pea Mosaic Virus- Hyper Translatable) توسعه پیدا کرده است که امکان تولید سریع و سطوح بالای پروتئین‌ها را بدون استفاده از همانندسازی ویروسی فراهم می‌کند. در این سیستم، با قرار دادن ژن مورد نظر بین ناحیه‌ی 5'UTR تغییر یافته و 3'UTR از ژنوم RNA-2 ویروس موزائیک لوبیا چشم بلبلی، بیان تقویت و mRNA، به علت وجود سرکوبگر خاموشی P19 از ویروس کوتولگی انبوه گوجه فرنگی، پایدار می‌شود. در واقع، مشخص شده است که حذف کدون AUG در موقعیت ۱۶۱ (از

همچنین، از ناقل pVUT در بر دارنده‌ی نواحی 5'UTR تغییر یافته و 3'UTR ژنوم RNA-2 ویروس موزائیک لوبیا چشم بلبلی به عنوان ناقل حد واسط جهت الحاق ژن پروانسولین بین نواحی مورد نظر و از ناقل‌های pCAMBIA 1304 و pBI121 به عنوان ناقل‌های دو گانه‌ی حاوی ژن *GUS* (ژن گزارشگر)، ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک کانامایسین (ژن نشانگر) و راه‌انداز ویروسی 35SCaMV استفاده شد.

آغازگرها

آغازگرهای پیشرو و برگشتی بر اساس توالی ژن پروانسولین موجود در ناقل pGH-X2759E به گونه‌ای طراحی شد که حاوی مکان آنزیم‌های برشی BamHI و XhoI به منظور تسهیل کلون کردن ژن در ناقل‌های هدف باشد. توالی نوکلئوتیدی پرایمرها به صورت زیر بود:

5'CTGGGATCCTTTGTACATCAACATT
TGTGTGG 3' Forward Primer
5'GGTACCCTCGAGACGTTGAATTTT
AATCCAAAATTG3' Reverse Primer

انتقال سازه‌ها به آگروباکتریوم

سازه‌های به دست آمده پس از تأیید توالی، به روش ذوب و انجماد به باکتری *A. tumefaciens* سویه‌ی C58 انتقال یافت و بر روی محیط کشت LB جامد حاوی آنتی‌بیوتیک‌های کانامایسین با غلظت ۲۵ µg/ml و ریفامپسین با غلظت ۱۰۰ µg/ml رشد داده شد.

انتقال گذرای سازه‌ها به گیاهان کاهو و یونجه

کلونی‌های آگروباکتریوم حاوی سازه‌های ساخته شده در ۱۵ میلی‌لیتر محیط YEB حاوی ۱۰۰ µg/ml کانامایسین و ۲۵ µg/ml ریفامپسین به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد رشد کرد.

طریق جایگزینی باز C به جای باز U در موقعیت (۱۶۲)، بالادست سایت اصلی شروع ترجمه در موقعیت ۵۱۲، باعث تقویت سطوح ترجمه‌ی ژن وارد شده در مقایسه با 5'UTR تغییر نیافته می‌شود (۸).

هدف از این تحقیق، تولید پروتئین پروانسولین در گیاه با استفاده از ناقل pVUT (Plasmid Viral University of Tehran) بود که در بر دارنده‌ی خصوصیات سیستم بیانی CPMV-HT بود و در آزمایشگاه مهندسی ژنتیک دانشگاه تهران آماده شد.

روش‌ها

برگ‌های یونجه (رقم بمی) و کاهو پس از شست و شو با آب مقطر، به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد و سپس، برای آگرواینفیلتریشن مورد استفاده قرار گرفت. در کلیه‌ی مراحل این پژوهش، برای کشت باکتری‌های *Escherichia coli* (E. coli) و *Agrobacterium tumefaciens* (A. tumefaciens) از محیط کشت Lysogeny Broth (LB)، و برای انتقال آگروباکتریوم به داخل گیاه از محیط کشت Yeast Extract Broth (YEB) و از آنتی‌بیوتیک‌های کانامایسین، ریفامپسین و آمپی‌سیلین به عنوان انتخابگر استفاده شد.

باکتری‌ها و ناقل‌های مورد استفاده

در این تحقیق از باکتری‌های *E. coli* سویه‌ی DH5α به عنوان میزبان برای مراحل مختلف همسانه‌سازی و از باکتری *A. tumefaciens* سویه‌ی C58 به عنوان ناقل ژن به گیاه استفاده شد. ناقل pTG19-T شرکت ویوانتیس برای سهولت هم‌سانه‌سازی ژن پروانسولین انسانی در سایر ناقل‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

بر اساس دستورالعمل abCAM و با استفاده از کیت Monobind Inc. و آزمون ELISA، جهت بررسی میزان بیان پروتئین پروانسولین در برگ‌های تراریخت، با استفاده از کیت Monobind Inc. انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تحلیل آماری این پژوهش بر پایه‌ی آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بر روی غلظت پروانسولین تولیدی در هر گرم برگ کاهو و یونجه‌ی تراریخت با دو سازه‌ی ساخته شده صورت گرفت. تجزیه‌ی واریانس با استفاده از برنامه‌ی SAS نسخه‌ی ۹.۲ (SAS Institute, Cary, North Carolina) و مقایسه‌ی میانگین‌های اثر متقابل گیاه و ناقل با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای Duncan و برنامه‌ی MSTATC (Michigan State University, East Lansing, MI) انجام شد.

یافته‌ها

ژن پروانسولین انسانی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و واکنش PCR از روی ناقل pGH-X2759E در بر دارنده‌ی ژن پروانسولین انسانی به وسیله‌ی آنزیم Pfu تکثیر و در ناقل pTG19 کلون شد. سپس، با استفاده از آنزیم‌های برشی BamHI و XhoI مورد تأیید قرار گرفت (شکل ۱-الف).

ناقل‌های pVUT و pBI121-GUS نیز با دو آنزیم مذکور برش داده شد و قطعه‌ی ۳۳۷ جفت بازی پروانسولین به دو ناقل برش یافته الحاق گردید. در ادامه، ناقل حد واسط pVUT-ProE و ناقل pCAMBIA1304 با استفاده از آنزیم‌های BcuI و BstEII برش داده شد (شکل ۱-ب) و قطعه‌ی ۱۷۰۰ جفت بازی در بر دارنده‌ی ژن پروانسولین

سپس، ۲ میلی لیتر از محیط کشت آگروباکتریوم در ۲۰۰ میلی لیتر محیط YEB حاوی $25 \mu\text{g/ml}$ ریفامپسین و $200 \mu\text{g/ml}$ کانامایسین و ۲۰۰ میکرولیتر استوسیرینگون $0/02$ مولار رقیق‌سازی شد و به مدت ۲۴ ساعت در همان شرایط نگهداری شد تا به $OD = 2$ (Optical density) در طول موج ۶۰۰ نانومتر برسد. پس از گذشت یک روز، ۲ میلی لیتر استوسیرینگون $0/02$ مولار به همراه ۱۱ گرم شکر به محیط اضافه شد و به مدت ۲ ساعت در همان شرایط رشد ادامه یافت. محیط به دست آمده، از طریق آگرواینفیلتریشن تحت شرایط خلأ و فشار ۲۵ میلی بار به گیاهان کاهو و یونجه انتقال یافت و سپس، به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد در شرایط رطوبت بالا نگهداری شد.

آنالیز گیاهان تراریخت در سطح رونویسی

استخراج RNA از برگ‌های تراریخت و ساخت cDNA به ترتیب با استفاده از دستورالعمل کیت شرکت TOPAZ GENE و کیت فرمتاز انجام شد. سپس، به منظور بررسی بیان ژن پروانسولین در برگ‌های تراریخت، با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن پروانسولین، آزمون Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) صورت گرفت.

استخراج پروتئین

استخراج پروتئین از برگ‌های تراریخت با استفاده از بافر فسفات $0/1$ مولار انجام شد.

لکه‌گذاری نقطه‌ای و آزمون Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

آزمون لکه‌گذاری نقطه‌ای، به منظور نشان دادن حضور پروتئین پروانسولین در بافت‌های تراریخت،

آب مقطر و در دیگری از cDNA گیاه شاهد استفاده شده بود، هیچ گونه بانندی مشاهده نشد (شکل ۳).

تجزیه و تحلیل بافت‌های تراریخت در سطح پروتئین با استفاده از آزمون لکه‌گذاری نقطه‌ای و

ELISA

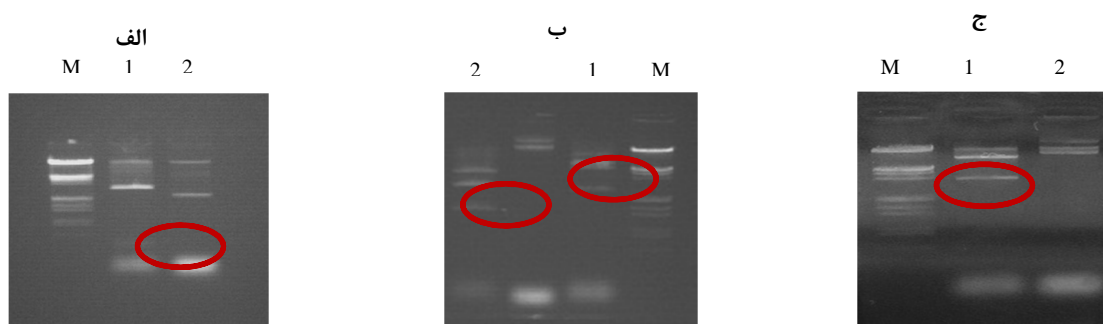
با استفاده از آنتی‌بادی، انسولین موجود در کیت تشخیصی Monobind و به روش لکه‌گذاری نقطه‌ای، حضور یا عدم حضور پروتئین پروانسولین در پروتئین‌های استخراج شده از برگ گیاهان تراریخت با سازه‌ی pCAMBIA ProE مورد سنجش قرار گرفت. با افزودن سوبسترای آنزیم، تغییر رنگ از بی‌رنگ به رنگ آبی تنها در عصاره‌های دارای پروتئین پروانسولین مشاهده شد؛ در حالی که، در گیاهان شاهد هیچ تغییر رنگی مشاهده نشد (شکل ۴).

حاصل از هضم سازه‌ی pVUT-ProE در ناقل pCAMBIA1304 قرار گرفت. با استفاده از آنزیم SacI، کلون‌های به دست آمده مورد تأیید قرار گرفت (شکل ۱-ج).

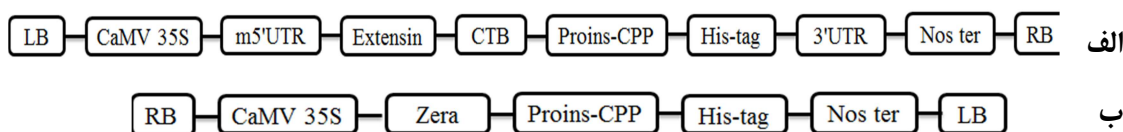
ساختار نهایی T-DNA سازه‌های pCAMBIA-ProE و pBI-ProZ ساخته شده در این تحقیق، در شکل ۲ نشان داده شده است. در نهایت، دو سازه جهت تأیید بیشتر از طریق شرکت پیشگام توالی‌یابی و سپس، به باکتری *A. tumefaciens* انتقال یافت.

بررسی گیاهان تراریخت در سطح RNA با استفاده از روش RT-PCR

نتیجه‌ی RT-PCR وجود RNA ۳۳۷ جفت بازی را در بافت‌های تراریخت نشان داد؛ در حالی که، در کنترل‌های منفی که در یکی از آن‌ها به جای الگو از



شکل ۱. مراحل ساخت سازه‌های pBI-ProZ و pCAMBIA-ProE در این تحقیق؛ الف: ستون ۱، برش ناقل pTG19 با آنزیم‌های BamHI و XhoI جهت تأیید حضور قطعه‌ی ۳۳۷ جفت بازی پروانسولین (ناقل pTPro) و ستون ۲، پلاسمید برش نخورده، ب: برش ناقل pCAMBIA1304 و pVUT-ProE با استفاده از آنزیم‌های BstEII و BcuI. ستون ۱ جدا شدن ژن GUS به طول ۲۵۰۰ جفت باز از ناقل pCAMBIA1304 و ستون ۲، جدا شدن قطعه‌ی ۱۷۰۰ جفت بازی در بر دارنده‌ی ژن پروانسولین از ناقل pVUT-ProE. ج: برش ناقل pCAMBIA-ProE با آنزیم SacI به منظور تأیید حضور سازه‌ی حد واسط pVUT. ستون ۱ جدا شدن قطعه‌ی حدود ۳۰۰۰ جفت بازی در بر دارنده ژن پروانسولین و ستون ۲، پلاسمید برش نخورده، M، نشانگر Lambda DNA/EcoRI+HindIII

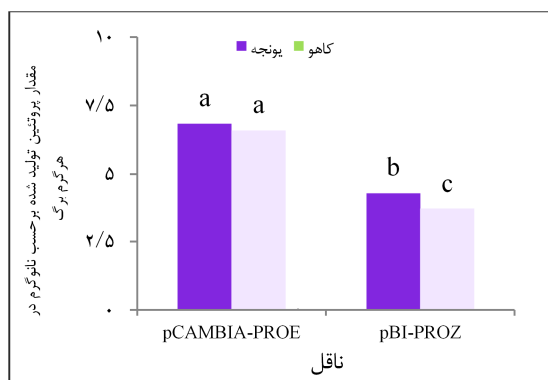


شکل ۲. طرح شماتیک از سازه‌های ساخته شده. الف- سازه‌ی pCAMBIA-ProE و ب- سازه‌ی pBI-ProZ

نتیجه‌ی تجزیه و تحلیل آماری مقادیر پروانسولین

تولید شده در گیاهان تراریخت

مقادیر پروانسولین تولید شده در کاهو و یونجه‌های تراریخت شده با دو سازه، با استفاده از آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس تجزیه‌ی واریانس، اثر ناقل، گیاه و اثر متقابل ناقل در گیاه در سطح ۱ درصد معنی دار شد که با توجه به معنی دار بودن اثر متقابل ناقل در گیاه، اثرات ساده‌ی ناقل و گیاه قابل استناد نبود. بنابراین، میانگین‌های به دست آمده از اثر متقابل ناقل در گیاه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای Duncan در سطح ۱ درصد مورد مقایسه قرار گرفت (نمودار ۱). با توجه به نمودار به دست آمده، میزان بیان پروتئین در ناقل pCAMBIA-ProE بیشتر از ناقل pBI-ProZ برای هر دو گیاه بود. از سوی دیگر، میزان بیان در گیاه کاهو کمتر از گیاه یونجه بود که این تفاوت در میزان بیان، در مورد ناقل pCAMBIA-ProE به لحاظ آماری معنی دار نبود.

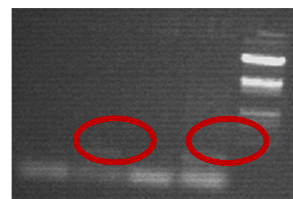


نمودار ۱. مقایسه‌ی میانگین‌های اثر متقابل ناقل در گیاه با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای Duncan در سطح ۱ درصد

بحث

طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق، میزان بیان

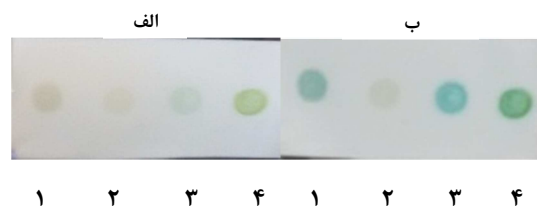
1 2 3 4 M



شکل ۳. واکنش Reverse transcription polymerase chain reaction

(RT-PCR) مربوط به گیاهان تراریخت کاهو و یونجه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن پروانسولین. ستون ۱ کنترل منفی (آب)، ستون ۲ و ۴، قطعه ۳۳۷ جفت بازی محصول RT-PCR گیاهان تراریخت و ستون ۳، چاهک مربوط به گیاه شاهد، M، نشانگر Lambda DNA/EcoRI+HindIII

همچنین، نتیجه‌ی آزمون ELISA، حضور پروتئین پروانسولین انسانی را در برگ‌های یونجه و کاهو آگرواینفیلتره شده با دو سازه‌ی ساخته شده‌ی pCAMBIA-ProE و pBI-ProZ نشان داد. بر اساس معادله‌ی منحنی کالیبراسیون استاندارد کیت Monobind، متوسط مقدار پروتئین پروانسولین انسانی نو ترکیب در گیاهان یونجه و کاهوی تراریخت شده با سازه‌ی pBI-ProZ به ترتیب ۴/۳۲ و ۳/۸ و با سازه‌ی pCAMBIA-ProE به ترتیب ۶/۸۲ و ۶/۶ نانوگرم به ازای یک گرم برگ برآورد شد.



شکل ۴. نتایج حاصل از لکه‌گذاری نقطه‌ای پروتئین استخراج شده

از برگ‌های آگرواینفیلتره شده با استفاده از سازه‌ی pCAMBIA-ProE بر روی کاغذ نیتروسولوزی؛ به ترتیب، اعداد از ۱ تا ۴ عبارتند از کاهوی تراریخت، کاهوی شاهد، یونجه‌ی تراریخت و یونجه‌ی شاهد.

الف: لکه‌های پروتئینی قبل از تیمار با آنتی‌بادی و سوبسترا و

ب: لکه‌های پروتئینی بعد از تیمار با آنتی‌بادی و سوبسترا

AUG در موقعیت ۱۱۵ اتفاق می‌افتد و یک کنارگذاری کدون AUG در موقعیت ۱۶۱ به طور قابل توجهی امکان ترجمه‌ی کارآمد را از کدون AUG در موقعیت ۵۱۲ به دنبال شروع ترجمه مجدد فراهم می‌کند. این فرضیه از مشاهداتی به دست آمده است که نشان می‌دهد، کاهش بیان از کدون AUG در موقعیت ۵۱۲، زمانی که کدون AUG در موقعیت ۱۱۵ حذف و کدون AUG در موقعیت ۱۶۱ باقی بماند، اتفاق می‌افتد. بنا بر این، به نظر می‌رسد که حذف کدون AUG در موقعیت ۱۶۱ و به دنبال آن، حذف ممانعت از ترجمه به علت وجود این کدون شروع، باعث ترجمه‌ی آزاد می‌شود (۸).

در این پژوهش، در سازه‌ی سنتزی pVUT، توالی کزاک (ACCAUGG) در مجاورت کدون AUG در موقعیت ۵۱۲ به منظور جذب بیشتر ریبوزوم‌ها و بالا بردن کارایی ترجمه طراحی و درج شد. به نظر می‌رسد، عدم بیان بسیار بالای سازه‌ی pCAMBIA-ProE دارای ناحیه 5'UTR تغییر یافته، به علت وجود این توالی در کنار کدون AUG در موقعیت ۵۱۲ باشد که نیاز به بررسی و مطالعات بیشتری دارد. نوع برگ نیز می‌تواند در میزان تولید پروتئین و پروسه‌های پایین دست تأثیرگذار باشد.

سبزیجات برگی، مانند یونجه و کاهو، گزینه‌های مناسبی برای کشاورزی مولکولی هستند. یونجه دارای مهم‌ترین مزیت استفاده از نیتروژن اتمسفری است، عملکرد زیست توده‌ی خشک بالایی در هکتار دارد و تا ۹ بار در سال می‌توان آن را برداشت کرد. از گیاه یونجه، به منظور تولید محصولات مختلفی نظیر آنتی‌بادی مونوکلونال تشخیصی استفاده شده است (۹). کاهو نیز به عنوان یک میزبان تولیدی برای

پروتئین پروانسولین در سازه‌ی pCAMBIA-ProE بیشتر از سازه‌ی pBI-ProZ بود؛ اما، مقدار پروتئین تولید شده با استفاده از سیستم CPMV-HT بسیار کمتر از مقادیر گزارش شده توسط Sainsbury و همکاران (۸) بود. در مطالعاتی که Sainsbury و همکاران بر روی ناحیه‌ی 5'UTR ویروس موزائیک لوبیا چشم بلبلی انجام دادند، مشاهده شد که تغییر کدون AUG در موقعیت ۱۶۱ بالادست سایت اصلی شروع ترجمه در موقعیت ۵۱۲، باعث تقویت سطوح ترجمه ژن وارد شده در مقایسه با 5'UTR تغییر نیافته می‌شود. سؤالی که در این جا مطرح می‌شود، این است که چرا حذف کدون AUG در موقعیت ۱۶۱، بیان را از کدون شروع AUG در موقعیت ۵۱۲ تقویت می‌کند؟

اگر چه، در RNA-2 نوع وحشی ویروس CPMV، ترجمه از کدون AUG در موقعیت ۱۶۱ شروع می‌شود، افزایش شدید بیان در نتیجه‌ی حذف کدون AUG در موقعیت ۱۶۱ پیشنهاد می‌کند که حضور کدون AUG در موقعیت ۱۶۱، بازدارنده‌ی کل ترجمه است. مکانیسم ممکن برای توضیح این موضوع آن است که بسیاری از ریبوزوم‌هایی که ترجمه را از کدون AUG در موقعیت ۱۶۱ شروع نمی‌کنند، نمی‌توانند به کدون AUG در موقعیت ۵۱۲ پایین دست رهسپار شوند. این موضوع یک عملکرد ممکن را برای چارچوب قرائت باز کوتاه (ORF یا Open reading frame) پیشنهاد می‌کند، که از AUG در موقعیت ۱۱۵ شروع می‌شود و با کدون AUG در موقعیت ۱۶۱ هم‌پوشانی دارد و این کدون شروع را کنار می‌گذارد (۸).

مشخص شده است که شروع ترجمه از کدون

گیاه کاهو به علت عملکرد پایین این گیاه در تولید پروتئین را می‌توان با افزایش میزان برگ‌ها مدیریت کرد (۴).

تشکر و قدردانی

از کلیه‌ی کارکنان و مسئولان محترم آزمایشگاه‌های بیوتکنولوژی اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، که در طی انجام این پژوهش همکاری نمودند، صمیمانه تشکر می‌نماییم.

واکسن‌ها و پروتئین‌های نوترکیب خوراکی در سری آزمایشات کلینیکی برای واکسن علیه ویروس هپاتیت B (۱۰) و تولید انسولین فعال و عملکردی جهت تحویل دهانی (۱) به کار رفته است.

یکی از مهم‌ترین معایب سبزیجات برگ‌ی این است که پروتئین‌های نوترکیب در محیط‌های آبی ساخته می‌شوند و اغلب ناپایدار هستند که در نتیجه، باعث کاهش تولید پروتئین نوترکیب می‌شود (۲). میزان بسیار کم پروتئین پروانسولین تولید شده در

References

1. Boyhan D, Daniell H. Low-cost production of proinsulin in tobacco and lettuce chloroplasts for injectable or oral delivery of functional insulin and C-peptide. *Plant Biotechnol J* 2011; 9(5): 585-98.
2. Fischer R, Stoger E, Schillberg S, Christou P, Twyman RM. Plant-based production of biopharmaceuticals. *Curr Opin Plant Biol* 2004; 7(2): 152-8.
3. Twyman RM, Stoger E, Schillberg S, Christou P, Fischer R. Molecular farming in plants: host systems and expression technology. *Trends Biotechnol* 2003; 21(12): 570-8.
4. Chen Q, Lai H, Hurtado J, Stahnke J, Leuzinger K, Dent M. Agroinfiltration as an Effective and Scalable Strategy of Gene Delivery for Production of Pharmaceutical Proteins. *Adv Tech Biol Med* 2013; 1(1).
5. Canizares MC, Nicholson L, Lomonossoff GP. Use of viral vectors for vaccine production in plants. *Immunol Cell Biol* 2005; 83(3): 263-70.
6. Sainsbury F, Thuenemann EC, Lomonossoff GP. pEAQ: versatile expression vectors for easy and quick transient expression of heterologous proteins in plants. *Plant Biotechnol J* 2009; 7(7): 682-93.
7. Fischer R, Emans N. Molecular farming of pharmaceutical proteins. *Transgenic Res* 2000; 9(4-5): 279-99.
8. Sainsbury F, Lomonossoff GP. Extremely high-level and rapid transient protein production in plants without the use of viral replication. *Plant Physiol* 2008; 148(3): 1212-8.
9. Khoudi H, Laberge S, Ferullo JM, Bazin R, Darveau A, Castonguay Y, et al. Production of a diagnostic monoclonal antibody in perennial alfalfa plants. *Biotechnol Bioeng* 1999; 64(2): 135-43.
10. Kapusta J, Modelska A, Figlerowicz M, Pniewski T, Letellier M, Lisowa O, et al. A plant-derived edible vaccine against hepatitis B virus. *FASEB J* 1999; 13(13): 1796-9.

Plant Expression of Human Proinsulin Using the Plasmid Viral University of Tehran (pVUT) Vector

Mahnaz Kheirollahi¹, Ali Akbar Shahnejat-Bushehri PhD², Majid Kheirollahi PhD³,
Fariba Abooei-Mehrizi MSc⁴, Hooshang Alizadeh PhD⁵

Original Article

Abstract

Background: Insulin is a hormone exclusively produced by pancreatic beta cells. The production of recombinant proteins in microorganisms has some disadvantages such as high cost, the possibility of contamination with toxic proteins, and costly purification steps; so, the production of recombinant proteins in plants can be investigated. Development of transient expression system based on a deleted version of Cowpea mosaic virus RNA-2, Cowpea Mosaic Virus-Hyper Translatable (CPMV-HT), has provided the extremely high-level and rapid production of proteins without viral replication.

Methods: In this study, two constructions were prepared; pBI121-Proinsulin-Zera (pBI-ProZ) containing human proinsulin gene and Zera (N-terminal proline-rich domain of γ -zein) and pCAMBIA1304-Proinsulin-Extensin (pCAMBIA-ProE) containing CPMV-HT expression system for improvement of translation of human proinsulin gene and carrot extensin signal peptide. Both structures were transiently transferred in to lettuce and alfalfa leaves using *Agrobacterium tumefaciens* pv. C58. Statistical analysis of this study was conducted on the concentration of produced proinsulin per each gram of transgenic leaf using factorial arrangement of treatment in a complete randomized design. Gene expression was confirmed in transcription level using reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) method and in translation level using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and Dot blot assay.

Findings: Protein accumulation for pCAMBIA-ProE and pBI-ProZ constructs were 6.82 and 4.32 ng/g in recombinant alfalfa leaves and 6.6 and 3.8 ng/g in recombinant lettuce leaves, respectively.

Conclusion: Results showed that the expression of proinsulin in pCAMBIA-ProE contains CPMV-HT expression system was more than pBI-ProZ.

Keywords: Human proinsulin gene, Transient expression, Cowpea Mosaic Virus-Hyper Translatable (CPMV-HT) expression system, Transgenic plant tissue

Citation: Kheirollahi M, Shahnejat-Bushehri AA, Kheirollahi M, Abooei-Mehrizim F, Alizadeh H. **Plant Expression of Human Proinsulin Using the Plasmid Viral University of Tehran (pVUT) Vector.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(327): 346-54

1- MSc Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, School of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2- Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, School of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3- Assistant Professor, Pediatrics Inherited Diseases Research Center AND Research Institute for Primordial Prevention of Non-communicable Diseases AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- PhD Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, School of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

5- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, School of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Corresponding Author: Hooshang Alizadeh PhD, Email: halizade@ut.ac.ir

اساس ژنتیک سندرم متابولیک

هاجر میرانزاده مهابادی^۱، سیده غزاله فاطمی^۱، دکتر پروانه نیک‌پور^۲، دکتر مجتبی عمادی بایگی^۳،
دکتر رویا کلیشادی^۴

مقاله مروری

چکیده

سندرم متابولیک یکی از اختلالات رایج در کودکان است که با مجموعه‌ای از فاکتورهای خطر از قبیل چاقی، افزایش قند خون، تری‌گلیسرید و فشار خون و کاهش لیپوپروتئین با چگالی بالا (High-density lipoprotein یا HDL) همراه است. این اختلال چند عاملی به علت افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی - عروقی در بزرگسالی، یکی از علل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است. مطالعات اخیر نشان داده است که این سندرم، شیوع بالایی در کودکان و نوجوانان چاق دارد. اتیولوژی سندرم متابولیک پیچیده است و نتیجه‌ای از برهم‌کنش عوامل ژنتیک و محیطی است که در پیشرفت چاقی، مقاومت به انسولین و چندین فرایند التهابی تأثیر می‌گذارد. مطالعه روی جوانان ایرانی، شیوع نزدیک به ۲۳ درصد سندرم متابولیک را نشان می‌دهد. در این مقاله مروری، به تعریف سندرم متابولیک، شیوع، علل ابتلا و مهم‌ترین ژن‌های درگیر در این اختلال اشاره می‌شود.

واژگان کلیدی: سندرم متابولیک، مقاومت به انسولین، چاقی، ژنتیک

ارجاع: میرانزاده مهابادی هاجر، فاطمی سیده غزاله، نیک‌پور پروانه، عمادی بایگی مجتبی، کلیشادی رویا. **اساس ژنتیک سندرم متابولیک.** مجله

دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۷): ۳۶۷-۳۵۵

High-density lipoprotein cholesterol) یا

(HDL-C)، دیس‌گلیسمی (افزایش قند خون) و فشار خون بالا است. به طور کلی، علل ایجاد این سندرم پیچیده است و از برهم‌کنش بین ژنتیک و فاکتورهای محیطی و تأثیرشان در بروز چاقی، مقاومت به انسولین و فاکتورهای التهابی مختلف ایجاد می‌شود (۱). استعدادپذیری ژنتیکی این سندرم به طور کامل شناخته نشده است (۳). در مقاله مروری حاضر، به تعدادی از ژن‌های مستعد در بروز سندرم متابولیک اشاره شد.

مقدمه

سندرم متابولیک در طول سال‌های اخیر مورد توجه زیاد محققین قرار گرفته است. مطالعات کلینیکی سعی در تشخیص افراد با خطر دیابت نوع ۲، بیماری‌های قلبی - عروقی و یا هر دو را دارند (۱-۲). سندرم متابولیک به صورت مجموعه‌ای از چندین اختلال متابولیکی شامل چاقی شکمی، دیس‌لیپدمی [افزایش سرمی تری‌گلیسرید (Triglyceride یا TG) و کاهش لیپوپروتئین با چگالی بالا

۱- کارشناس ارشد، گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی و مرکز تحقیقات رشد و نمو کودکان و پژوهشکده‌ی پیشگیری اولیه از بیماری‌های غیرواگیر و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استادیار، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی علوم و پژوهشکده‌ی زیست فناوری، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴- استاد، مرکز تحقیقات رشد و نمو کودکان و پژوهشکده‌ی پیشگیری اولیه از بیماری‌های غیرواگیر و گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: pnikipour@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: دکتر پروانه نیک‌پور

سندرم متابولیک چیست؟

سندرم متابولیک ترکیبی از اختلالات متابولیکی است که اولین بار در سال ۱۹۲۳ توسط Alberti و همکاران به صورت مجموعه‌ای از اختلالات همچون نقرس، افزایش فشار خون و قند خون بیان شد (۴). در سال ۱۹۵۶، Avogaro و Crepaldi به فاکتورهایی مانند چاقی، افزایش فشار خون و قند خون بالا به عنوان اجزای سندرم متابولیک اشاره کردند (۵). Reaven در سال ۱۹۸۸ اصطلاح سندرم X به همراه افزایش خطر دیابت نوع ۲، بیماری‌های قلبی، مقاومت به انسولین، افزایش فشار خون، افزایش قند و چربی خون را به کار برد (۶). چهار بخشی کشنده (The deadly quartet) و مقاومت به انسولین از دیگر نام‌های این اختلال است (۷-۸). امروزه واژه سندرم متابولیک بهترین معرف برای این اختلال متابولیکی می‌باشد (۴).

تعاریف متعددی برای شرح دقیق سندرم متابولیک ارائه شده است (۴). از آن جمله مؤسسه بین‌المللی دیابت (International Diabetes Federation) با تقسیم جمعیت به سه گروه ۱۰-۱۶، ۱۶-۳۰ و بالای ۳۰ سال، تعریفی برای سندرم متابولیک ارائه کرد که در هر سه گروه، چاقی شکمی جزء اصلی اختلال عنوان شد. بر اساس این تعریف، امکان تشخیص قطعی سندرم متابولیک در گروه کودکان زیر ۱۰ سال وجود ندارد. در نوجوانان ۱۰ تا ۱۶ سال، علاوه بر چاقی شکمی حضور حداقل دو مورد از فاکتورهایی مانند TG بالای ۱۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، کلسترول HDL پایین‌تر از ۴۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، فشار خون بالای ۱۳۰/۸۵ میلی‌متر جیوه، گلوکز ناشتای بیشتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و دور کمر بیش از ۹۰ سانتی‌متر در تشخیص

سندرم متابولیک الزامی است (۹).

خصوصیات عمومی سندرم متابولیک

بر اساس مطالعات مختلف، توزیع چربی در بدن به صورت غیر طبیعی یکی از خصوصیات عمومی سندرم متابولیک همراه با خطر افزایش ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی است (۴). مقاومت به انسولین نیز در اغلب افراد مبتلا به سندرم متابولیک مشاهده می‌شود که ارتباط تنگاتنگی با سایر اجزای سندرم به جز فشار خون بالا دارد (۱۰). از دیگر خصوصیات سندرم متابولیک می‌توان به دیس‌لیپیدی اشاره کرد. ناهنجاری‌های لیپیدی در مبتلایان به سندرم متابولیک به صورت افزایش TG و کاهش HDL وجود دارد. آنالیزهای جزئی‌تری بیشتر، ناهنجاری‌های لیپوپروتئینی شامل افزایش آپولیپوپروتئین B و افزایش ذرات کوچک LDL را نشان می‌دهد (۴). افزایش فشار خون نیز در ارتباط با چاقی و عدم تحمل گلوکز است که اکثر در افراد مقاوم به انسولین وجود دارد. میزان این ارتباط در هر جمعیت با جمعیت‌های دیگر متفاوت است (۴). علاوه بر این، شرایط پیش‌تهابی با افزایش سطوح پروتئین فعال‌کننده C (C-reactive protein) یا CRP در مبتلایان به سندرم متابولیک مشاهده می‌شود (۱۱). آدیپوسیت‌ها (Adipocyte) و ماکروفاژها با ترشح سیتوکین‌های التهابی در بافت‌های چربی، باعث افزایش سطوح سرمی CRP و ایجاد مقاومت به انسولین می‌شوند (۴).

عوامل دخیل در ایجاد سندرم متابولیک

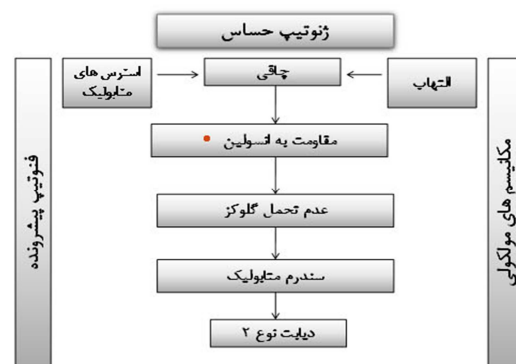
از جمله موارد درگیر در ایجاد سندرم متابولیک

عوامل ژنتیکی

مسیرهای ژنتیکی درگیر در سندرم متابولیک می‌توانند با سلول‌های بتای پانکراس، فعالیت انسولین، متابولیسم گلوکز، فشار خون، متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین در ارتباط باشند (۱۵). فعالیت ناقص انسولین و افزایش قند خون بر روی عملکرد اعضای محیطی از جمله بافت چربی، کبد و ماهیچه‌های اسکلتی تأثیر می‌گذارد (۱۶) و منجر به آغاز توسعه سایر اختلالات سندرم متابولیک مانند افزایش غلظت TG، کاهش HDL-C و هیپرگلیسمی می‌شود. ژن‌ها می‌توانند از هر طریقی در توسعه سندرم متابولیک تأثیرگذار باشند (۱۴). تمام اجزای اصلی این اختلال مانند چاقی، فشار خون، دیس‌لیپیدی و دیس‌گلیسمی، اساس ژنتیکی دارند که برای هر یک، ژن‌هایی شناخته شده‌اند. از جمله این ژن‌ها می‌توان به تنوع ژن ADIPOQ در ارتباط با چاقی شکمی (۱۷)، تنوع ژن AGT در ارتباط با فشار خون (کدکننده آنژیوتانسینوزن)، غلظت لیپید پلاسما در ارتباط با تنوع در ژن‌های APOE و APOC3 (کدکننده آپولیپوپروتئین‌های E و CIII) اشاره کرد (۱۸).

برخی محصولات ژنی می‌توانند با بروز اختلال در مسیرهای متابولیکی متفاوت، بر روی چندین جزء سندرم متابولیک اثرگذار باشند. به عنوان مثال ژن NR3C1 (کدکننده گیرنده گلوکوکورتیکوئید) با چاقی، فشار خون و مقاومت به انسولین و ژن ADIPOQ با دیابت، فشار خون و دیس‌لیپیدی ارتباط دارد (۲۰-۱۹). ژن GNB3 کدکننده زیرواحد $\beta 3$ پروتئین G، با چاقی و فشار خون در ارتباط است (۲۱-۲۲). تنوع در ژن‌های کدکننده فاکتورهای رونویسی همچون FOXC2 و SREBF-1، با

می‌توان به زمینه‌های ژنتیکی، عدم فعالیت فیزیکی، افزایش سن، حالت پیش‌تهابی و بی‌نظمی هورمونی اشاره کرد. به نظر می‌رسد که اثر این عوامل به قومیت نیز بستگی دارد (۴). به طور کلی چاقی شکمی و مقاومت به انسولین دو عامل مهم در ایجاد سندرم متابولیک هستند. چاقی شکمی یا چاقی سببی شکل به عنوان عامل اصلی و مهم شیوع سندرم متابولیک در جهان است و با بیماری‌های قلبی-عروقی، افزایش قند خون، فشار خون، TG سرمی و کاهش HDL-C ارتباط دارد (۱۲). کاهش حساسیت به انسولین در بافت‌های کبد، چربی و ماهیچه‌ی اسکلتی، منجر به بروز مقاومت به انسولین و در نهایت افزایش سطوح قند خون می‌شود. Bonora و همکاران با مطالعه‌ی میزان شیوع مقاومت به انسولین در افراد ۴۰ تا ۷۹ سال با استفاده از روش ارزیابی مدل Homeostasis model assessment (HOMA) یا HOMA، نشان دادند که میزان مقاومت به انسولین با تعدادی از ناهنجاری‌های متابولیکی همبستگی دارد (۱۳). ارتباط چاقی، مقاومت به انسولین، سندرم متابولیک و دیابت نوع ۲ در شکل ۱ نشان داده شده است (۱۴).



شکل ۱. ارتباط بین چاقی، مقاومت به انسولین، سندرم متابولیک و دیابت نوع ۲ (۱۴)

HDL-C، چاقی، مقاومت به انسولین و فاکتورهای التهابی، در بروز فاکتورهای اساسی سندرم متابولیک درگیر هستند (۳۳). از جمله ژن‌های مهم درگیر در بروز سندرم متابولیک می‌توان به موارد زیر اشاره کرد. APOA5: ژن آپولیپوپروتئین A5 بر روی

کروموزوم 11q23 و در نزدیکی خوشه‌ی ژنی APOA1/C3/A4/A5 قرار دارد (۳۴-۳۵). این ژن کد کننده‌ی پروتئین APOA5 است که نقش مهمی در کاهش سطوح تری‌گلیسرید پلاسما با تحریک هیدرولیز تری‌گلیسرید از طریق فعال‌سازی لیپوپروتئین لیپاز و مهار تولید VLDL (Very low-density lipoprotein) ایفا می‌کند (۳۶). از پلی‌مورفیسم‌های شایع این ژن می‌توان به rs3135506 و rs662799 اشاره کرد که بر اساس مطالعات متآنالیز، در بروز سندرم متابولیک نقش دارند (۳۷-۳۹، ۳۳). مطالعات مختلف نشان دهنده‌ی ارتباط آلل C پلی‌مورفیسم rs662799 با سطوح بالای TG و سطوح پایین HDL-C سرمی است (۴۰-۴۲، ۳۳).

APOC3: جایگاه کروموزومی ژن APOC3 در مکان 11q23 قرار دارد. پروتئین APOC3 کد شده توسط این ژن، باعث افزایش سطوح تری‌گلیسرید پلاسما از طریق مهار فعالیت لیپوپروتئین لیپاز و دخالت با تری‌گلیسریدهای وارد شده توسط APOE می‌شود (۴۳-۴۴). مطالعات متآنالیز انجام شده (۴۵-۴۷، ۴۳، ۳۳)، پلی‌مورفیسم شایع rs2854117 را در ارتباط با بروز سندرم متابولیک و مطالعه‌ی دیگری (۴۸) این پلی‌مورفیسم را در ارتباط با افزایش سطوح تری‌گلیسرید خون نشان داد.

APOE: ژن APOE در جایگاه کروموزومی

حساسیت انسولین و غلظت پلاسمایی تری‌گلیسرید مرتبط است (۲۴-۲۳). هر یک از این ژن‌ها می‌توانند گزینه‌ی مورد مطالعه برای فنوتیپ‌های سندرم متابولیک باشند.

توارث پذیری سندرم متابولیک

بر اساس مطالعات انجام شده، احتمال توارثی بودن سندرم متابولیک ۱۰ تا ۳۰ درصد تخمین زده شده است که نشان دهنده‌ی استعدادپذیری ژنتیکی (وراثتی بودن) سندرم متابولیک است (۲۶-۲۵). یافته‌های حاصل از مطالعات خانوادگی و بررسی دو قلوها، توارث‌پذیری فاکتورهای دخیل در ایجاد سندرم متابولیک را نشان می‌دهند (۳۲-۲۷). مطالعه‌ای در آمریکا با بررسی ۲۵۰۸ مرد دو قلو، مجموعه‌ای از عوامل شامل فشار خون بالا، دیابت و چاقی را در ۳۱ درصد از دو قلوهای تک تخمکی و ۶/۳ درصد از دو قلوهای دو تخمکی گزارش کرد (۲۷). یافته‌های مشابهی نیز از مطالعه‌ی زنان دو قلو حاصل شده است (۲۸). نتایج مطالعه بر روی ۴۳۲ فرد از ۶۸ خانواده‌ی ژاپنی-آمریکایی، اثر عوامل ژنتیک در اجزای سندرم متابولیک به ویژه دیس‌لیپیدمی را نشان داد (۲۹). شواهد به دست آمده از مطالعات ژنتیکی سندرم متابولیک، محققین را به مطالعه‌ی فرم‌های تک ژنی این سندرم و آنالیزهای پیوستگی و همراهی سوق می‌دهد (۳).

ژن‌های دخیل در ایجاد سندرم متابولیک

ژن‌ها از مسیرهای مختلفی مانند افزایش کلسترول تام، افزایش TG، افزایش LDL-C (Low-density lipoprotein cholesterol)، کاهش

PPARG₁ و PPARG₂ است که بر اساس رونوشت‌برداری متفاوت از یک ژن ساخته می‌شود. PPARG در بافت‌های چربی بیان بسیار بالایی دارد (۶۰) و ارتباط آن با عوامل درگیر در بروز سندرم متابولیک از قبیل دیابت نوع ۲، دیس‌لیپدمی و فشار خون بالا و همچنین، ارتباط دو پلی‌مورفیسم rs1801282 و rs3856806 با سندرم متابولیک در مطالعات قبلی گزارش شده است. پلی‌مورفیسم rs1801282 با دیابت نوع ۲ نیز مرتبط است (۳۳).

TCF7L2: ژن TCF7L2 در جایگاه 10q25، کد کننده‌ی یک فاکتور رونویسی درگیر در مسیر سیگنالینگ Wnt و ترشح انسولین است و با دخالت در تنظیم تولید GLP-1 (Glucagon-like peptide-1)، ترشح انسولین وابسته به گلوکز را متعادل می‌سازد و نقش مهمی در حفظ هموستازی سلولی ایفا می‌کند (۶۱). واریانت‌های این ژن مانند rs12255372 و rs7903146، در استعدادپذیری ابتلا به دیابت نوع ۲ نقش دارند (۶۲) که هر دو پلی‌مورفیسم در بروز دیابت نوع ۲ و سندرم متابولیک دخیل هستند (۳۳).

FTO: مکان کروموزومی این ژن در 16q12 است. مطالعات پیشین مشخص کرده‌اند که FTO نقش تنظیمی در جذب غذا و فعالیت لیپولیتیک بافت‌های چربی دارد (۶۳). با توجه به مطالعات قبلی، پلی‌مورفیسم rs9939609 با دیابت نوع ۲ و افزایش شاخص توده‌ی بدنی (Body mass index یا BMI) مرتبط است. همچنین، ارتباط این پلی‌مورفیسم با سندرم متابولیک در مطالعه‌ای از نوع متآنالیز نشان داده شد (۶۴). پژوهش دیگری در جمعیت فرانسه، ارتباط پلی‌مورفیسم rs1421085 با سندرم متابولیک را تأیید نمود (۶۵).

19q13 واقع شده است. آپولیپوپروتئین E نقش مهمی در پاکسازی باقی‌مانده‌های شیلومیکرون و VLDL از سطوح پلازما دارد. سه نوع ایزوفرم این ژن توسط هاپلوتیپ‌های e2/e3/e4 کد می‌شوند. ایزوفرم e3 شایع‌ترین ایزوفرم است. ایزوفرم e2 در مقایسه با ایزوفرم e3، باعث کاهش سطوح کلسترول و افزایش تری‌گلیسرید می‌گردد؛ در حالی که ایزوفرم e4، سطوح پلاسمایی کلسترول و تری‌گلیسرید را افزایش می‌دهد (۴۹). در مطالعات متآنالیز، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ e2/e3 یا e2/e2 و کاهش خطر ابتلا به سندرم متابولیک مشاهده نشد (۳۳، ۴۵، ۵۰-۵۳). در مطالعه‌ی یک گروه ژاپنی، پلی‌مورفیسم rs7412 به عنوان جزئی از هاپلوتیپ e2/e3/e4، ارتباط با سندرم متابولیک را نشان داد (۵۴)؛ در حالی که این ارتباط در بیماران قلبی-عروقی جمعیت سفید پوست مشاهده نشد (۵۵).

CETP (Cholesteryl ester transfer protein):

این ژن در جایگاه کروموزومی 16q21 قرار گرفته است و در انتقال معکوس کلسترول (انتقال کلسترول از HDL-C به سایر لیپوپروتئین‌ها) نقش مهمی دارد. پلی‌مورفیسم rs708272 باعث افزایش سطوح پلاسمایی HDL-C و کاهش تری‌گلیسرید و فعالیت CETP می‌شود (۵۶). ارتباط پلی‌مورفیسم مذکور و کاهش خطر ابتلا به سندرم متابولیک، در تحقیقات متآنالیز تأیید شده است (۳۳، ۵۰، ۵۷-۵۹).

PPARG (Peroxisome proliferator-activated)

gamma receptor): ژن PPARG در مکان کروموزومی 3p25 قرار دارد. پروتئین PPARG در تمایز سلولی، حساسیت به انسولین، گرفتگی عروق و سرطان دخالت دارد (۶۰). این ژن دارای دو ایزوفرم

در پاسخ به فاکتورهای التهابی ترشح شده از ماکروفاژها و سلول‌های چربی سنتز می‌شود (۷۶). در مطالعات گذشته، rs3091244 به عنوان شایع‌ترین پلی مورفیسم ژن CRP مطرح شده بود که در ارتباط با ابتلا به سندرم متابولیک می‌باشد (۷۸-۷۷).

عوامل محیطی

با توجه به افزایش شیوع سندرم متابولیک طی ده سال گذشته و عدم تغییر ژنوم انسان، اهمیت تأثیر عوامل محیطی در بروز این اختلال مورد توجه قرار گرفته است. از جمله عوامل محیطی مؤثر می‌توان به عدم تحرک و افزایش سن اشاره کرد که منجر به افزایش چربی بدن به ویژه در ناحیه شکم و مقاومت به انسولین می‌شود. بافت چربی از دو راه بر روی هموستازی گلوکز، ایجاد مقاومت به انسولین و بروز سندرم متابولیک دخالت دارد (۱۴). اول این‌که، ذخیره‌ی بسیار بالای انرژی در بافت چربی باعث افزایش جریان اسیدهای چرب به سایر بافت‌ها و افزایش TG در بافت‌های محیطی و در نتیجه اختلال در سیگنال‌دهی انسولین، مهار ورود گلوکز و افزایش مقاومت به انسولین می‌گردد. دوم این‌که، بافت چربی به عنوان عضو اندوکراین (درون‌ریز) مهم در ترشح فاکتورهای التهابی با نام کلی آدیپوسیتوکین یا آدیپوکین‌ها، تأثیر منفی روی حساسیت به انسولین دارد. جلوگیری از چاقی باعث کاهش ابتلا به سندرم متابولیک، دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی - عروقی می‌شود (۷۹).

تأثیر قومیت در شیوع سندرم متابولیک در کودکان و نوجوانان

طبق مطالعات انجام شده در چندین جمعیت بزرگ، شیوع سندرم متابولیک در کودکان (۴-۳ درصد) کمتر

GNB3: این ژن در ناحیه‌ی 12p13 واقع شده است و کدکننده‌ی زیرواحد بتای G protein می‌باشد. این پروتئین‌ها نقش مهمی در انتقال سیگنال درون سلولی در تمام سلول‌های بدن به عهده دارند و از سه زیرواحد α ، β و γ تشکیل شده‌اند. زیرواحد بتا تنظیم کننده‌ی اصلی زیرواحد آلفا است (۶۶). در مطالعات قبلی ارتباط پلی مورفیسم rs5433 این ژن با فشار خون بالا، چاقی، دیابت نوع ۲ و دیس‌لیپدمی نشان داده شد (۶۸-۶۷). ارتباط این پلی مورفیسم با سندرم متابولیک نیز در مطالعه‌ی Pollex و همکاران (۴۷) تأیید گردید؛ در حالی که مطالعه‌ی متآنالیز انجام شده این ارتباط را تأیید نکرد (۳۳).

SREBF-1: این ژن در ناحیه‌ی 17p11 قرار دارد و کدکننده‌ی دو ایزوفرم a و c است. SREBF-1a بیان ژن‌های دخیل در سنتز کلسترول، اسید چرب و تری‌آسیل گلیسرول را کنترل می‌کند (۶۹) و سبب القای رونوشت‌برداری از ژن‌های دخیل در مسیر سنتز اسید چرب و کربوهیدرات‌ها می‌شود (۷۰). چندین مطالعه ارتباط پلی مورفیسم rs2297508 با دیابت نوع ۲ و افزایش سطح LDL-C را نشان داده‌اند (۷۳-۷۱). ارتباط پلی مورفیسم rs8066560 با خطر بروز سندرم متابولیک در مطالعه‌ای در جمعیت ایران بررسی گردید و نتایج آن حاکی از عدم وجود ارتباط معنی‌دار با بروز سندرم متابولیک بود، اما با فاکتورهای لیپیدی خون ارتباط معنی‌داری مشاهده شد (۷۵-۷۴).

CRP: این ژن در مکان کروموزومی 1q23 قرار گرفته است. پروتئین کد شده توسط این ژن به خانواده‌ی پنتاکسین تعلق دارد که نقش مهمی را در سیستم دفاعی بدن میزبان ایفا می‌کند. پروتئین CRP

درصد و افزایش TG با شیوع ۴۶-۵۴ درصد می‌باشد (۸۷). Schwandt و همکاران در مطالعه‌ی دیگری نشان دادند که شیوع سندرم متابولیک در نوجوانان ایرانی (۲/۱ درصد) چهار برابر شیوع آن نسبت به نوجوانان آلمانی (۰/۵ درصد) است (۸۸). بر اساس نتایج یک تحقیق، شیوع سندرم متابولیک در کودکان ایرانی (۱ درصد) ده برابر شیوع آن در کودکان آلمانی (۰/۱ درصد) بود (۸۹).

نتیجه‌گیری

سندرم متابولیک در کودکان و نوجوانان به صورت مجموعه‌ای از عوامل خطرناک مؤثر در ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی و دیابت نوع ۲ بیان شده است که از آن جمله می‌توان به چاقی شکمی، تری‌گلیسرید بالا، فشار خون بالا و افزایش قند خون ناشتا اشاره کرد (۱). افراد مبتلا به سندرم متابولیک در مقایسه با افراد عادی، دو تا سه برابر بیشتر در معرض حمله‌های قلبی و پنج برابر بیشتر در معرض ابتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشند (۹۰). سندرم متابولیک از برهم‌کنش عوامل ژنتیکی و فاکتورهای محیطی همچون عدم تحرک و پرخوری حاصل می‌شود (۳)؛ در حالی که مطالعات خانوادگی و دو قلوئی که ژن‌های درگیر در بروز سندرم متابولیک را بررسی کرده‌اند، تاکنون نشانگر ژنتیکی مشخصی را در تشخیص کلینیکی این بیماری نشان نداده‌اند. شاخص‌های متفاوت دیگری از جمله قومیت و جنسیت، پاتولوژی سندرم متابولیک را تحت تأثیر قرار می‌دهند که وجود این عوامل، معرفی یک عامل ژنتیکی خاص در شناسایی افراد مستعد به سندرم متابولیک را دشوار می‌سازد.

از نوجوانان است (۸۰، ۳۵-۳۴). مطالعه Johnson و همکاران، شیوع این سندرم را در نوجوانان ۸/۶ درصد گزارش کردند (۸۱). شیوع بالای این اختلال در سنین نوجوانی در سراسر جهان، اهمیت پیشگیری و درمان سندرم متابولیک را نشان می‌دهد (۸۴-۸۲). در مطالعه‌ی مؤسسه‌ی Bogalusa Heart بر روی کودکان سفید و سیاه پوست، شیوع سندرم متابولیک در این کودکان به ترتیب ۴ و ۳ درصد گزارش شد. همچنین، میزان شیوع در پسران (۶/۱ درصد) بیشتر از دختران (۲/۱ درصد) بود (۳۴). در تحقیق Chen و همکاران، شیوع سندرم متابولیک در نوجوانان آمریکایی بیشتر از اسپانیایی (۳۱/۹ درصد) گزارش شد (۸۵). همچنین با بررسی سندرم متابولیک در کودکان چاق اسپانیایی (۸ تا ۱۳ سال) با سابقه‌ی خانوادگی دیابت نوع ۲، مشخص شد که ۳۰ درصد آنان به سندرم متابولیک مبتلا هستند (۸۵).

بر اساس مطالعات پیشین، در حالی که چاقی در نوجوانان آفریقایی-آمریکایی در ایالات متحده‌ی آمریکا شیوع بالایی دارد (۲۳/۶ درصد)، اما شیوع سندرم متابولیک در این افراد نسبت به سایر افراد دارای اضافه وزن، پایین‌تر است (۸۰، ۳۴). در مطالعه‌ی افخمی اردکانی و همکاران، روند رو به رشد سندرم متابولیک در نوجوانان ایرانی ۱۰ تا ۱۹ ساله‌ی شهر تهران قابل توجه بود (۸۶). کلیشادی و همکاران در مطالعه‌ی خود بر روی جوانان ایرانی، شیوع نزدیک به ۲۳ درصد سندرم متابولیک را در جوامع شهری و روستایی گزارش کردند. در مطالعه‌ی آنان مشخص شد که متداول‌ترین اجزای سندرم متابولیک، پایین بودن HDL-C با شیوع ۵۶-۶۹

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم

پزشکی اصفهان به جهت تأمین هزینه‌های این مطالعه،
قدردانی می‌نمایند.

References

- Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005; 365(9468): 1415-28.
- Ford ES. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care* 2005; 28(7): 1769-78.
- Pollex RL, Hegele RA. Genetic determinants of the metabolic syndrome. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006; 3(9): 482-9.
- Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006; 23(5): 469-80.
- Shen BJ, Todaro JF, Niaura R, McCaffery JM, Zhang J, Spiro A, III, et al. Are metabolic risk factors one unified syndrome? Modeling the structure of the metabolic syndrome X. *Am J Epidemiol* 2003; 157(8): 701-11.
- Reaven GM. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. 1988. *Nutrition* 1997; 13(1): 65.
- Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, Haffner SM. NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. *Diabetes* 2003; 52(5): 1210-4.
- Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 1989; 149(7): 1514-20.
- Zimmet P, Alberti KG, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, et al. The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes* 2007; 8(5): 299-306.
- Ruige JB, Assendelft WJ, Dekker JM, Kostense PJ, Heine RJ, Bouter LM. Insulin and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis. *Circulation* 1998; 97(10): 996-1001.
- Lemieux I, Pascot A, Prud'homme D, Almeras N, Bogaty P, Nadeau A, et al. Elevated C-reactive protein: another component of the atherothrombotic profile of abdominal obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(6): 961-7.
- Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, Tolonen H, Ruokokoski E, Amouyel P. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. *Lancet* 1999; 353(9164): 1547-57.
- Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, Targher G, et al. Prevalence of insulin resistance in metabolic disorders: the Bruneck Study. *Diabetes* 1998; 47(10): 1643-9.
- Roche HM, Phillips C, Gibney MJ. The metabolic syndrome: the crossroads of diet and genetics. *Proc Nutr Soc* 2005; 64(3): 371-7.
- Barroso I, Luan J, Middelberg RP, Harding AH, Franks PW, Jakes RW, et al. Candidate gene association study in type 2 diabetes indicates a role for genes involved in beta-cell function as well as insulin action. *PLoS Biol* 2003; 1(1): E20.
- Le Marchand-Brustel Y, Gual P, Gremeaux T, Gonzalez T, Barres R, Tanti JF. Fatty acid-induced insulin resistance: role of insulin receptor substrate 1 serine phosphorylation in the retroregulation of insulin signalling. *Biochem Soc Trans* 2003; 31(Pt 6): 1152-6.
- Sutton BS, Weinert S, Langefeld CD, Williams AH, Campbell JK, Saad MF, et al. Genetic analysis of adiponectin and obesity in Hispanic families: the IRAS Family Study. *Hum Genet* 2005; 117(2-3): 107-18.
- Sing CF, Davignon J. Role of the apolipoprotein E polymorphism in determining normal plasma lipid and lipoprotein variation. *Am J Hum Genet* 1985; 37(2): 268-85.
- Kondo H, Shimomura I, Matsukawa Y, Kumada M, Takahashi M, Matsuda M, et al. Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes: a candidate gene for the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 2002; 51(7): 2325-8.
- Ohashi K, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Sumitsuji S, et al. Adiponectin I164T mutation is associated with the metabolic syndrome and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43(7): 1195-200.
- Siffert W, Rosskopf D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R, et al. Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet* 1998; 18(1): 45-8.

22. Siffert W, Forster P, Jockel KH, Mvere DA, Brinkmann B, Naber C, et al. Worldwide ethnic distribution of the G protein beta3 subunit 825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chinese, and Black African individuals. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10(9): 1921-30.
23. Ridderstrale M, Carlsson E, Klannemark M, Cederberg A, Kosters C, Tornqvist H, et al. FOXC2 mRNA Expression and a 5' untranslated region polymorphism of the gene are associated with insulin resistance. *Diabetes* 2002; 51(12): 3554-60.
24. Kotzka J, Muller-Wieland D. Sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1: gene regulatory target for insulin resistance? *Expert Opin Ther Targets* 2004; 8(2): 141-9.
25. Bosy-Westphal A, Onur S, Geisler C, Wolf A, Korth O, Pfeuffer M, et al. Common familial influences on clustering of metabolic syndrome traits with central obesity and insulin resistance: the Kiel obesity prevention study. *Int J Obes (Lond)* 2007; 31(5): 784-90.
26. Bellia A, Giardina E, Lauro D, Tesauro M, Di FG, Cusumano G, et al. "The Linosa Study": epidemiological and heritability data of the metabolic syndrome in a Caucasian genetic isolate. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009; 19(7): 455-61.
27. Carmelli D, Cardon LR, Fabsitz R. Clustering of hypertension, diabetes, and obesity in adult male twins: same genes or same environments? *Am J Hum Genet* 1994; 55(3): 566-73.
28. Edwards KL, Newman B, Mayer E, Selby JV, Krauss RM, Austin MA. Heritability of factors of the insulin resistance syndrome in women twins. *Genet Epidemiol* 1997; 14(3): 241-53.
29. Austin MA, Edwards KL, McNeely MJ, Chandler WL, Leonetti DL, Talmud PJ, et al. Heritability of multivariate factors of the metabolic syndrome in nondiabetic Japanese americans. *Diabetes* 2004; 53(4): 1166-9.
30. Chen W, Srinivasan SR, Elkasabany A, Berenson GS. The association of cardiovascular risk factor clustering related to insulin resistance syndrome (Syndrome X) between young parents and their offspring: the Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis* 1999; 145(1): 197-205.
31. Lee KE, Klein BE, Klein R. Familial aggregation of components of the multiple metabolic syndrome in the Framingham Heart and Offspring Cohorts: Genetic Analysis Workshop Problem 1. *BMC Genet* 2003; 4(Suppl 1): S94.
32. Wu KD, Hsiao CF, Ho LT, Sheu WH, Pei D, Chuang LM, et al. Clustering and heritability of insulin resistance in Chinese and Japanese hypertensive families: a Stanford-Asian Pacific Program in Hypertension and Insulin Resistance sibling study. *Hypertens Res* 2002; 25(4): 529-36.
33. Povel CM, Boer JM, Reiling E, Feskens EJ. Genetic variants and the metabolic syndrome: a systematic review. *Obes Rev* 2011; 12(11): 952-67.
34. Hanson RL, Imperatore G, Bennett PH, Knowler WC. Components of the "metabolic syndrome" and incidence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51(10): 3120-7.
35. Cook S, Weitzman M, Auinger P, Nguyen M, Dietz WH. Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2003; 157(8): 821-7.
36. Merkel M, Loeffler B, Kluger M, Fabig N, Geppert G, Pennacchio LA, et al. Apolipoprotein AV accelerates plasma hydrolysis of triglyceride-rich lipoproteins by interaction with proteoglycan-bound lipoprotein lipase. *J Biol Chem* 2005; 280(22): 21553-60.
37. Yamada Y, Ichihara S, Kato K, Yoshida T, Yokoi K, Matsuo H, et al. Genetic risk for metabolic syndrome: examination of candidate gene polymorphisms related to lipid metabolism in Japanese people. *J Med Genet* 2008; 45(1): 22-8.
38. Kisfali P, Mohas M, Maasz A, Hadarits F, Marko L, Horvatovich K, et al. Apolipoprotein A5 IVS3+476A allelic variant associates with increased triglyceride levels and confers risk for development of metabolic syndrome in Hungarians. *Circ J* 2008; 72(1): 40-3.
39. Kisfali P, Mohas M, Maasz A, Polgar N, Hadarits F, Marko L, et al. Haplotype analysis of the apolipoprotein A5 gene in patients with the metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010; 20(7): 505-11.
40. Maasz A, Kisfali P, Horvatovich K, Mohas M, Marko L, Csongei V, et al. Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome. *Pathol Oncol Res* 2007; 13(3): 243-7.
41. Hsu LA, Ko YL, Chang CJ, Teng MS, Wu S, Hu CF. Apolipoprotein A5 gene -1131T/C polymorphism is associated with the risk of metabolic syndrome in ethnic Chinese in Taiwan. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46(12): 1714-9.
42. Fatemi SG, Emadi-Baygi M, Nikpour P, Kelishadi R, Hashemipour M. Absence of Association between -1131T>C Polymorphism in the Apolipoprotein APOA5 Gene and Pediatric Metabolic Syndrome. *Iran J Pediatr* 2014; 24(3): 319-22.
43. Guettier JM, Georgopoulos A, Tsai MY, Radha

- V, Shanthirani S, Deepa R, et al. Polymorphisms in the fatty acid-binding protein 2 and apolipoprotein C-III genes are associated with the metabolic syndrome and dyslipidemia in a South Indian population. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(3): 1705-11.
44. Waterworth DM, Ribalta J, Nicaud V, Dallongeville J, Humphries SE, Talmud P. ApoCIII gene variants modulate postprandial response to both glucose and fat tolerance tests. *Circulation* 1999; 99(14): 1872-7.
 45. Miller M, Rhyne J, Chen H, Beach V, Ericson R, Luthra K, et al. APOC3 promoter polymorphisms C-482T and T-455C are associated with the metabolic syndrome. *Arch Med Res* 2007; 38(4): 444-51.
 46. Niculescu LS, Vladica M, Sima AV. Association of APOA5 and APOC3 gene polymorphisms with plasma apolipoprotein A5 level in patients with metabolic syndrome. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391(1): 587-91.
 47. Pollex RL, Hanley AJ, Zinman B, Harris SB, Khan HM, Hegele RA. Metabolic syndrome in aboriginal Canadians: prevalence and genetic associations. *Atherosclerosis* 2006; 184(1): 121-9.
 48. Hegele RA, Connelly PW, Hanley AJ, Sun F, Harris SB, Zinman B. Common genomic variation in the APOC3 promoter associated with variation in plasma lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17(11): 2753-8.
 49. Dallongeville J, Lussier-Cacan S, Davignon J. Modulation of plasma triglyceride levels by apoE phenotype: a meta-analysis. *J Lipid Res* 1992; 33(4): 447-54.
 50. Ranjith N, Pegoraro RJ, Rom L. Lipid profiles and associated gene polymorphisms in young Asian Indian patients with acute myocardial infarction and the metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord* 2009; 7(6): 571-8.
 51. Sima A, Iordan A, Stancu C. Apolipoprotein E polymorphism--a risk factor for metabolic syndrome. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45(9): 1149-53.
 52. Olivieri O, Martinelli N, Bassi A, Trabetti E, Girelli D, Pizzolo F, et al. ApoE epsilon2/epsilon3/epsilon4 polymorphism, ApoC-III/ApoE ratio and metabolic syndrome. *Clin Exp Med* 2007; 7(4): 164-72.
 53. Onat A, Komurcu-Bayrak E, Can G, Kucukdurmaz Z, Hergenc G, Erginel-Unaltuna N. Apolipoprotein A-I positively associated with diabetes in women independently of apolipoprotein E genotype and apolipoprotein B levels. *Nutrition* 2010; 26(10): 975-80.
 54. Yamada Y, Kato K, Hibino T, Yokoi K, Matsuo H, Segawa T, et al. Prediction of genetic risk for metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2007; 191(2): 298-304.
 55. McCarthy JJ, Meyer J, Moliterno DJ, Newby LK, Rogers WJ, Topol EJ. Evidence for substantial effect modification by gender in a large-scale genetic association study of the metabolic syndrome among coronary heart disease patients. *Hum Genet* 2003; 114(1): 87-98.
 56. Thompson A, Di AE, Sarwar N, Erqou S, Saleheen D, Dullaart RP, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein genotypes with CETP mass and activity, lipid levels, and coronary risk. *JAMA* 2008; 299(23): 2777-88.
 57. Junyent M, Lee YC, Smith CE, Arnett DK, Tsai MY, Kabagambe EK, et al. The effect of a novel intergenic polymorphism (rs11774572) on HDL-cholesterol concentrations depends on TaqIB polymorphism in the cholesterol ester transfer protein gene. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010; 20(1): 34-40.
 58. Ozsait B, Komurcu BE, Poda M, Can G, Hergenc G, Onat A, et al. CETP TaqIB polymorphism in Turkish adults: association with dyslipidemia and metabolic syndrome. *Anadolu Kardiyol Derg* 2008; 8(5): 324-30.
 59. Sandhofer A, Tatarczyk T, Laimer M, Ritsch A, Kaser S, Paulweber B, et al. The Taq1B-variant in the cholesteryl ester-transfer protein gene and the risk of metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16(4): 919-22.
 60. Fajas L, Debril MB, Auwerx J. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma: from adipogenesis to carcinogenesis. *J Mol Endocrinol* 2001; 27(1): 1-9.
 61. Horikoshi M, Hara K, Ito C, Nagai R, Froguel P, Kadowaki T. A genetic variation of the transcription factor 7-like 2 gene is associated with risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetologia* 2007; 50(4): 747-51.
 62. van Vliet-Ostapchouk JV, Shiri-Sverdlov R, Zhernakova A, Strengman E, van Haften TW, Hofker MH, et al. Association of variants of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) with susceptibility to type 2 diabetes in the Dutch Breda cohort. *Diabetologia* 2007; 50(1): 59-62.
 63. Loos RJ, Bouchard C. FTO: the first gene contributing to common forms of human obesity. *Obes Rev* 2008; 9(3): 246-50.
 64. Freathy RM, Timpson NJ, Lawlor DA, Pouta A, Ben-Shlomo Y, Ruukonen A, et al. Common variation in the FTO gene alters diabetes-related metabolic traits to the extent expected given its effect on BMI. *Diabetes* 2008; 57(5): 1419-26.
 65. Attaoua R, Ait El MS, Lautier C, Kaouache S, Renard E, Brun JF, et al. Association of the FTO gene with obesity and the metabolic

- syndrome is independent of the IRS-2 gene in the female population of Southern France. *Diabetes Metab* 2009; 35(6): 476-83.
66. Meirhaeghe A, Cottel D, Amouyel P, Dallongeville J. Association between peroxisome proliferator-activated receptor gamma haplotypes and the metabolic syndrome in French men and women. *Diabetes* 2005; 54(10): 3043-8.
 67. Meirhaeghe A, Cottel D, Amouyel P, Dallongeville J. Lack of association between certain candidate gene polymorphisms and the metabolic syndrome. *Mol Genet Metab* 2005; 86(1-2): 293-9.
 68. Andersen G, Overgaard J, Albrechtsen A, Glumer C, Borch-Johnsen K, Jorgensen T, et al. Studies of the association of the GNB3 825C>T polymorphism with components of the metabolic syndrome in white Danes. *Diabetologia* 2006; 49(1): 75-82.
 69. Raghov R, Yellaturu C, Deng X, Park EA, Elam MB. SREBPs: the crossroads of physiological and pathological lipid homeostasis. *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19(2): 65-73.
 70. Ferre P, Foufelle F. SREBP-1c transcription factor and lipid homeostasis: clinical perspective. *Horm Res* 2007; 68(2): 72-82.
 71. Liu JX, Liu J, Guo Q, Liu J. [Association of sterol regulatory element binding protein-1c genetic polymorphisms rs2297508 and rs11868035 with type 2 diabetes mellitus in Gansu Han and Dongxiang population]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2012; 29(3): 328-33.
 72. Felder TK, Oberkofler H, Weitgasser R, Mackevics V, Krempler F, Paulweber B, et al. The SREBF-1 locus is associated with type 2 diabetes and plasma adiponectin levels in a middle-aged Austrian population. *Int J Obes (Lond)* 2007; 31(7): 1099-103.
 73. Liu JX, Liu J, Li PQ, Xie XD, Guo Q, Tian LM, et al. Association of sterol regulatory element-binding protein-1c gene polymorphism with type 2 diabetes mellitus, insulin resistance and blood lipid levels in Chinese population. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 82(1): 42-7.
 74. Nikpour P, Miranzadeh-Mahabadi H, Emadi-Baygi M, Kelishadi R. Association of rs8066560 variant in the sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP-1) and miR-33b genes with hyperglycemia and insulin resistance. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2014; 27(7-8): 611-5.
 75. Miranzadeh-Mahabadi H, Nikpour P, Emadi-Baygi M, Kelishadi R. Comparison of TaqMan real-time and tetra-primer ARMS-PCR techniques for genotyping of rs8066560 variant in children and adolescents with metabolic syndrome. *Adv Clin Exp Med* 2015.
 76. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107(3): 363-9.
 77. Hsu LA, Chang CJ, Wu S, Teng MS, Chou HH, Chang HH, et al. Association between functional variants of the ICAM1 and CRP genes and metabolic syndrome in Taiwanese subjects. *Metabolism* 2010; 59(12): 1710-6.
 78. Komurcu-Bayrak E, Erginel-Unaltuna N, Onat A, Ozsait B, Eklund C, Hurme M, et al. Association of C-reactive protein (CRP) gene allelic variants with serum CRP levels and hypertension in Turkish adults. *Atherosclerosis* 2009; 206(2): 474-9.
 79. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 2004; 92(3): 347-55.
 80. Laaksonen DE, Lakka HM, Niskanen LK, Kaplan GA, Salonen JT, Lakka TA. Metabolic syndrome and development of diabetes mellitus: application and validation of recently suggested definitions of the metabolic syndrome in a prospective cohort study. *Am J Epidemiol* 2002; 156(11): 1070-7.
 81. Johnson WD, Kroon JJ, Greenway FL, Bouchard C, Ryan D, Katzmarzyk PT. Prevalence of risk factors for metabolic syndrome in adolescents: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 2001-2006. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009; 163(4): 371-7.
 82. Moraes AC, Fulaz CS, Netto-Oliveira ER, Reichert FF. [Prevalence of metabolic syndrome in adolescents: a systematic review]. *Cad Saude Publica* 2009; 25(6): 1195-202.
 83. Misra A, Khurana L. The metabolic syndrome in South Asians: epidemiology, determinants, and prevention. *Metab Syndr Relat Disord* 2009; 7(6): 497-514.
 84. Lafortuna CL, Adorni F, Agosti F, De Col A, Sievert K, Siegfried W. Prevalence of the metabolic syndrome among extremely obese adolescents in Italy and Germany. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2015; 88(1): 14-21.
 85. Chen W, Srinivasan SR, Elkasabany A, Berenson GS. Cardiovascular risk factors clustering features of insulin resistance syndrome (Syndrome X) in a biracial (Black-White) population of children, adolescents, and young adults: the Bogalusa Heart Study. *Am J Epidemiol* 1999; 150(7): 667-74.
 86. Afkhami-Ardekani M, Zahedi-Asl S, Rashidi M, Atifah M, Hosseinpanah F, Azizi F. Incidence and trend of a metabolic syndrome

- phenotype among Tehranian adolescents: findings from the Tehran Lipid and Glucose Study, 1998-2001 to 2003-2006. *Diabetes Care* 2010; 33(9): 2110-2.
87. Kelishadi R, Derakhshan R, Sabet B, Sarraf-Zadegan N, Kahbazi M, Sadri GH, et al. The metabolic syndrome in hypertensive and normotensive subjects: the Isfahan Healthy Heart Programme. *Ann Acad Med Singapore* 2005; 34(3): 243-9.
88. Schwandt P, Kelishadi R, Ribeiro RQ, Haas GM, Poursafa P. A three-country study on the components of the metabolic syndrome in youths: the BIG Study. *Int J Pediatr Obes* 2010; 5(4): 334-41.
89. Schwandt P, Kelishadi R, Haas GM. Ethnic disparities of the metabolic syndrome in population-based samples of German and Iranian adolescents. *Metab Syndr Relat Disord* 2010; 8(2): 189-92.
90. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet* 2005; 366(9491): 1059-62.

Genetic Basis of the Metabolic Syndrome

Hajar Miranzadeh-Mahabadi MSc¹, Sayedeh Ghazaleh Fatemi MSc¹,
Parvaneh Nikpour PhD², Modjtaba Emadi-Baygi PhD³, Roya Kelishadi MD⁴

Review Article

Abstract

Metabolic syndrome (MetS) is a prevalent disorder in children and it is described as a group of risk factors including obesity, increased fasting blood sugar, increased triglyceride, high blood pressure and decreased high-density lipoprotein (HDL) levels. This multifactorial disorder has been considered as one of the leading causes of mortality throughout the world and has been considered as a major risk factor for type 2 diabetes mellitus and atherosclerotic cardiovascular diseases. Recent studies have shown that the syndrome is highly prevalent among overweight children and adolescents. The etiology of the metabolic syndrome is complex, and is determined by the interaction between genetic and environmental factors and their influence on the development of obesity, insulin resistance and various inflammatory processes. Recent findings on Iranian children and adolescents show the prevalence of 23%. In this review, we looked at the definition, prevalence etiology and the main determinant genes in the development of this disorder.

Keywords: Metabolic syndrome, Insulin resistance, Obesity, Genetics

Citation: Miranzadeh-Mahabadi H, Fatemi SGh, Nikpour P, Emadi-Baygi M, Kelishadi R. **Genetic Basis of the Metabolic Syndrome.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(327): 355-67

1- Department of Genetics, School of Basic Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

2- Assistant Professor, Applied Physiology Research Center AND Child Growth and Development Research Center AND Research Institute for Primordial Prevention of Non-communicable Disease AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Department of Genetics, School of Basic Sciences AND Research Institute of Biotechnology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

4- Professor, Child Growth and Development Research Center AND Research Institute for Primordial Prevention of Non-communicable Disease AND Department of Pediatrics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Parvaneh Nikpour PhD, Email: pnikpour@med.mui.ac.ir

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

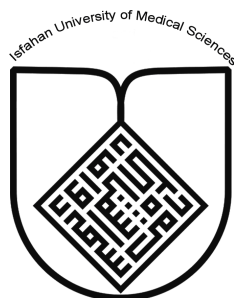
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

INSTRUCTION TO AUTHORS

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

Editorial Board (In alphabetical order)

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



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 33, No. 327, 3rd Week, May 2015

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:

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

Telefax: +98 31 37922291

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

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

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

Telefax: +98 31 36686302

E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexes

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

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

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