



مقاله های پژوهشی

- ۱۱۲۸ بهینه سازی شرایط جذب توکسوئید دیفتری بر روی ژل فسفات آلومینیوم و ارتباط آن با توانمندی آنتی ژن
 مینا پهلوانی، دکتر حسین ذوالفقاریان، دکتر مجید تیبانیان، دکتر حسین رایی
- ۱۱۳۷ *Pseudomonas aeruginosa* در bla_{VIM2} و bla_{VIM1} ، bla_{IMP2} ، bla_{IMP1} ، bla_{SPM1} متالوبتالاکتامازی
 جداسازی شده از نمونه های بالینی مراکز درمانی جنوب تهران و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی
 مهدی روحی بیرون، دکتر کیومرث امینی، دکتر مهدی پرویز
- ۱۱۴۷ بررسی ویژگی های اپیدمیولوژیک، دموگرافیک و یافته های کلینیکی و پاراکلینیکی بیماران مبتلا به بیماری انسفالومیلیت
 حاد منتشر (ADEM) بستری شده در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان طی یک دوره ده ساله (۱۳۹۲-۱۳۸۲)
 دکتر مسعود اعتمادی فر، فرزانه کدخدایی، دکتر محمدرضا نجفی
- ۱۱۵۷ مقایسه تاثیر ممانتین و سدیم والپروآت در پیش گیری از میگرن مزمن و دوره های
 دکتر عباس قربانی، دکتر وحید شایگان نژاد، یوسف عارفی، دکتر بهناز انصاری

مقاله مروری

- ۱۱۶۸ اثر درمانی پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) در جوان سازی پوست: مزایا و معایب
 نیوشا نکویی مارنانی، دکتر فریبا جعفری، دکتر محمدعلی نیلفروزش زاده

Original Articles

- 1136 Optimization of Diphtheria Toxoid Absorption on Aluminum Phosphates and its Relationship with Potency
 Mina Pahlevani MSc, Hossein Zolfagharian PhD, Majid Tebianian PhD, Hossein Rasi PhD
- 1146 Detecting Metallo-Beta-Lactamase (MBL) Genes of bla_{SPM1} , bla_{IMP1} , bla_{IMP2} , bla_{VIM1} , and bla_{VIM2} in Isolated *Pseudomonas aeruginosa* from Clinical Samples and its Antibiotic Resistance ...
 Mahdi Rouhi-Biroon MSc, Kumarss Amini PhD, Mahdi Parviz PhD
- 1156 The Epidemiologic and Demographic Characteristics and Clinical Findings in Patients with Acute Disseminated Encephalomyelitis (ADEM) Referred to Alzahra Hospital, Isfahan, Iran, During 10 Years (2003-2013)
 Masoud Etemadifar MD, Farzaneh Kadkhodaei, Mohammadreza Najafi MD
- 1167 Comparing the Effects of Memantine and Sodium Valproate in Prevention of Chronic and Episodic Migraine
 Abbas Ghorbani MD, Vahid Shaygannejad MD, Yosef Arefi, Behnaz Ansari MD

Review Article

- 1185 Platelet-Rich Plasma (PRP) Therapy in Skin Rejuvenation: Benefits and Adverse Influences
 Nioosha Nekooie-Mamany, Fariba Jaffary MD, Mohammad Ali Nilforoushzadeh MD



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و سوم، شماره (۳۴۳)، بهمنه سوم شهریور ۱۳۹۴

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

E-mail: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مسئول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

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

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

وب سایت مجله:

امور نشر:

(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)

شرکت فرزانتگان راداندیش

اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵

تلفن و دورنگار: ۰۳۱-۳۶۶۸۶۳۰۲

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

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

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

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

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

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

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

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

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

۱۱۲۸.....توانمندی آنتی‌ژن.....ارتباط آن با توانمندی آنتی‌ژن.....
مینا پهلوانی، دکتر حسین ذوالفقاریان، دکتر مجید تیبانیان، دکتر حسین رائی

ردیابی ژن‌های متالوبتالاکتامازی bla_{SPM1} ، bla_{IMP1} ، bla_{IMP2} ، bla_{VIM1} و bla_{VIM2} در *Pseudomonas aeruginosa* جداسازی شده از
نمونه‌های بالینی مراکز درمانی جنوب تهران و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی.....
مهدی روحی بیرون، دکتر کیومرث امینی، دکتر مهدی پرویز

بررسی ویژگی‌های اپیدمیولوژیک، دموگرافیک و یافته‌های کلینیکی و پاراکلینیکی بیماران مبتلا به بیماری انسفالومیلیت حاد منتشر (ADEM) بستری
شده در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان طی یک دوره ده ساله (۱۳۹۲-۱۳۸۲).....
دکتر مسعود اعتمادی‌فر، فرزانه کدخدایی، دکتر محمدرضا نجفی

۱۱۵۷.....مقایسه‌ی تأثیر ممانتین و سدیم والپروات در پیش‌گیری از میگرن مزمن و دوره‌ای.....
دکتر عباس قربانی، دکتر وحید شایگان‌نژاد، یوسف عارفی، دکتر بهناز انصاری

مقاله مروری

۱۱۶۸.....اثر درمانی پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) در جوان‌سازی پوست: مزایا و معایب.....
نیوشا نکویی مارنانی، دکتر فریبا جعفری، دکتر محمدعلی نیلفروش‌زاده

بهینه‌سازی شرایط جذب توکسوئید دیفتری بر روی ژل فسفات آلومینیوم و ارتباط آن با توانمندی آنتی‌ژن

مینا پهلوانی^۱، دکتر حسین ذوالفقاریان^۲، دکتر مجید تیبانیان^۳، دکتر حسین راثی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در اواسط دهه‌ی ۱۹۴۰، ریشه‌کن کردن بیماری دیفتری توسط ترکیب واکسن توکسوئید دیفتری (سم غیر فعال) با واکسن کزاز و سیاه سرفه (واکسن DTP یا Diphtheria, Tetanus, Pertussis)، با موفقیت در سراسر جهان انجام شده است. هدف از این مطالعه، بهینه‌سازی شرایط جذب توکسوئید دیفتری در ژل فسفات آلومینیوم برای بهبود میزان جذب و افزایش اثربخشی واکسن بود.

روش‌ها: در این مطالعه، پارامترهای مختلف از جمله pH اولیه، دما و pH نهایی، که در میزان جذب توکسوئید دیفتری در ژل فسفات آلومینیوم مؤثر هستند، در مقیاس آزمایشگاهی و داخل بدن مورد مطالعه قرار گرفتند. به این منظور، توکسوئید دیفتری خالص شده برای تهیه و ساخت واکسن مورد استفاده قرار گرفت. توکسوئید دیفتری در هیدروکسید آلومینیوم با pH مختلف جذب اعم از ۶/۰، ۵/۸، ۵/۶، ۵/۴، ۵/۲ و ۵/۰، در معرض درجه حرارت‌های مختلف (شامل ۳۷، ۲۴ و ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) تنظیم شد و به pH نهایی ۶/۸، ۶/۶ و ۶/۴ رسید.

یافته‌ها: فرمولاسیون مؤثر در جذب، pH برابر ۵/۸، در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد با pH نهایی ۶/۶ بود.

نتیجه‌گیری: سطح آنتی‌بادی در حیوانات ایمن شده توسط واکسن، به طور قابل توجهی بالا رفت. به نظر می‌رسد که با واکسن جدید فرموله شده و با بهینه‌سازی شرایط، میزان توکسوئید و سطح آنتی‌بادی در حیوانات واکسینه شده به طور قابل توجهی افزایش یافت.

واژگان کلیدی: دیفتری، واکسن، ادجوانت، جذب، pH

ارجاع: پهلوانی مینا، ذوالفقاریان حسین، تیبانیان مجید، راثی حسین. بهینه‌سازی شرایط جذب توکسوئید دیفتری بر روی ژل فسفات آلومینیوم و ارتباط آن با توانمندی آنتی‌ژن. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۴۳): ۱۱۳۶-۱۱۲۸

مقدمه

دیفتری یک بیماری حاد مسری، اغلب منجر به مرگ و کشنده می‌باشد. این بیماری، ناشی از باکتری کورینه باکتریوم دیفتری گرم مثبت است. مهم‌ترین ویژگی دیفتری، فارنژیت غشایی (اغلب به عنوان یک

غشای کاذب نامیده می‌شود) به همراه تب، بزرگ شدن غدد لنفاوی قدامی گردن و ادم بافت نرم به شکل یک «گاو نر گردن بزرگ» بارز می‌گردد (۱). این بیماری توسط یک آگزوتوکسین ۵۸ کیلو دالتون به نام سم دیفتری (DT یا Diphtheria toxin)

۱- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران

۲- دانشیار، بخش واکسن و آنتی‌سرم انسانی، مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران

۳- استادیار، بخش واکسن و آنتی‌سرم انسانی، مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران

۴- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران

از میان تمامی ادجوانت‌ها، ادجوانت آلومینیوم به عنوان ذرات نمک آلومینیوم، مانند $Al(OH)_3$ (Aluminium phosphate) $ALPO_4$ ، در چندین واکنش انسانی در ایالات متحده‌ی آمریکا، در سال ۱۹۲۰ استفاده شد (۸-۹).

مکانیسم ادجوانت آلوم که شامل مکمل فعال، ائوزینوفیل‌ها و ماکروفاژها هستند، منجر به افزایش سطح جذب آنتی‌ژن توسط سلول‌های آرایه دهنده‌ی آنتی‌ژن می‌گردد. همچنین، ممکن است توسط به دام انداختن آنتی‌ژن محلول، تعامل بین آنتی‌ژن و سیستم ایمنی بدن افزایش یابد. در نهایت، بر ساخت Th_2 (T helper ۲) از سیتوکاین، IL_4 (Interleukin ۴) و IL_5 (Interleukin ۵)، تحریک لنفوسیت B و ترشح ایمونوگلوبولین به خصوص افزایش IgG (Immunoglobulin G) اثر می‌گذارد (۱۰-۱۳).

بنابراین، جذب آنتی‌ژن در آلوم، نقش مهمی برای تحریک بهتر در پاسخ‌های ایمنی دارد. بر اساس تحقیقات قبلی، افزایش جذب توکسوئید دیفتری در ژل فسفات آلومینیوم، می‌تواند پاسخ ایمنی را افزایش دهد و منجر به ترشح طولانی مدت آنتی‌بادی خاطره گردد (۱۴-۱۵).

هدف از این مطالعه، بررسی عوامل مختلف و متغیر، مانند pH جذب اولیه، دما و pH نهایی، در میزان جذب توکسوئید دیفتری روی ژل آلومینیوم فسفات بود. نتایج به دست آمده، می‌تواند برای بهینه‌سازی فرمولاسیون واکنش و بهبود اثربخشی توکسوئید دیفتری و ادجوانت استفاده گردد و نقش بسیار مهم داشته باشد.

پیشرفت می‌کند، که سنتز پروتئین را مهار و اثر سیتوتوکسیک در اعضای مختلف، مانند قلب، کلیه و سیستم عصبی را به وجود می‌آورد (۱).

در اواسط دهه‌ی ۱۹۴۰، ریشه‌کن کردن بیماری دیفتری توسط ترکیب واکنش توکسوئید دیفتری (سم غیر فعال) با واکنش کزاز و سیاه سرفه (واکنش DTP یا Diphtheria, Tetanus, Pertussis)، با موفقیت در سراسر جهان انجام شده است (۲).

واکنش DTP، بیش از دیگر واکنش‌ها، شامل ادجوانت برای افزایش اثربخشی واکنش می‌باشد. ادجوانت‌ها، از طریق مکانیزم‌های مختلف عمل می‌کنند. یکی از این مکانیسم‌ها، جلوگیری از گسترش آنتی‌ژن آزاد و آرایه‌ی آن در یک مکان خارج سلولی یا داخل سلول می‌باشد. مهم‌ترین ادجوانت مورد استفاده در واکنش‌های انسانی، ترکیبات آلومینیوم (فسفات و هیدروکسید) هستند. در واقع، همه‌ی ادجوانت‌ها، منجر به تحریک سلول‌های عرضه کننده‌ی آنتی‌ژن و افزایش ایمنی‌زایی در بدن می‌گردند (۳-۵).

برخی از ادجوانت‌ها، به عنوان یک نسخه (سیستم تحویل) که منجر به حفظ سیستم ایمنی از آسیب می‌گردد، عمل می‌کنند. برخی از ادجوانت‌ها به آرایه و تحویل آنتی‌ژن به هدف و افزایش میزان جذب در سلول‌های آرایه دهنده‌ی آنتی‌ژن کمک می‌کنند.

برخی از ادجوانت‌ها، یک نقش سلول‌های آرایه دهنده‌ی آنتی‌ژن (APC یا Antigen-presenting cell) دارند که می‌توانند به طور مستقیم، هم‌زمان آنتی‌ژن را آرایه دهند و انواع دیگر از ادجوانت‌ها با اثر بر روی سلول‌های سیستم ایمنی بدن و سیتوکاین‌ها، منجر به آرایه و عرضه‌ی غیر مستقیم آنتی‌ژن می‌گردند (۶-۷).

روش‌ها

توکسوئید دیفتری (۷۳۰۰ میلی‌لیتر/LF)، آنتی‌توکسین (۱۰۰ واحد) و آنتی‌ژن از بخش DTP مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی از کرج (RVSRI یا Razi Vaccine and Serum Research Institute) دریافت گردید.

خوکچه‌ی هندی سالم ماده (۴-۶ هفته، ۲۵۰-۳۵۰ گرم) و خرگوش ماده (۱۶-۱۲ هفته، ۱-۱/۵ کیلوگرم)، از بخش حیوانات اهلی مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج (RVSRI) خریداری شد.

واکسن نمونه با استفاده از ۵/۵ میلی‌لیتر آنتی‌ژن دیفتری، ۵۵ میلی‌لیتر $AlCl_3$ و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. سپس، ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات (PBS یا Phosphate-buffered saline) به این مخلوط اضافه شد. برای آماده‌سازی واکسن با pH جذب مختلف، NaOH به منظور ثابت کردن مقادیر pH (شامل ۶، ۵/۸، ۵/۶، ۵/۴، ۵/۲ و ۵) مورد استفاده قرار گرفت. کل واکسن نمونه در دماهای مختلف (شامل ۳۷، ۲۴ و ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) انکوبه شدند و یک شب به مدت ۱۸ ساعت روی دستگاه شیکر، شیک گردیدند.

هر واکسن نمونه، با درجه‌ی حرارت خاص خود، به سه قسمت با حجم یکسان و با pH نهایی خاص (۶/۸، ۶/۶ و ۶/۴)، تقسیم شد.

برای اندازه‌گیری میزان آنتی‌ژن جذب شده در هر نمونه، ژل آلوم با سیترات سدیم تجزیه شد و غلظت پروتئین (آنتی‌ژن مورد اندازه‌گیری) به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت.

همه‌ی نمونه بر اساس آزمایش فولیکولاسیون به منظور تعیین بهترین شرایط برای جذب آنتی‌ژن، در

محلول بافر فسفات آلومینیوم مورد بررسی قرار گرفت. سپس فرمول واکسن بر اساس روش پیش‌گفته تهیه شد. واکسن تهیه شده در داخل بدن و در شرایط آزمایشگاهی مورد آزمایش قرار گرفت (۷).

انجام آزمایش در شرایط آزمایشگاهی

انتشار واکسن دیفتری در ژل آلومینیوم فسفات از طریق آزمایش فولیکولاسیون در شرایط آزمایشگاهی تعیین شد. در این فرایند، ۳۰ میلی‌لیتر واکسن دیفتری به چند لوله‌ی آزمایش تقسیم شد. سپس، ۱ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات (PBS) قبل از قرار دادن آن‌ها روی شیکر و انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به این لوله‌ها اضافه شد. نمونه‌ها در مدت زمان از پیش تعیین شده جدا شدند (۰، ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۱۷، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۶۸، ۲۴۰ و ۳۶۰ دقیقه) و محتویات پروتئین با استفاده از روش ارایه شده توسط Lowry تعیین شد (۱۶).

انجام آزمایش در داخل بدن

۱- روش برای آزمایش قدرت (Potency)

۱-۱ آزمایش ایمنی‌زایی: ۰/۷۵ میلی‌لیتر واکسن دیفتری استریل به شش خوکچه‌ی هندی از طریق زیر جلدی (SC یا Subcutaneous injection) تزریق شد. شش هفته پس از ایمن‌سازی، ۵ میلی‌لیتر نمونه‌ی خون به صورت جداگانه از هر خوکچه‌ی هندی گرفته شد و سرم هر کدام به روش سانتریفوژ جدا شد (۷).

۱-۲ آزمایش خنثی‌سازی سرم (SN) یا Serum neutralisation): همان‌طور که در جدول ۱ دیده می‌شود، واکسن دیفتری در ۱۰ غلظت مختلف تهیه شد و ۰/۲ میلی‌لیتر از هر غلظت واکسن، از

و در شرایط آزمایشگاهی، به منظور بررسی قدرت و توانایی واکسن مورد آزمایش قرار گرفت.

همان‌طور که در جدول ۲ دیده می‌شود، واکسن دیفتری با شش مقدار مختلف pH (۶، ۵/۸، ۵/۶، ۵/۴، ۵/۲ و ۵) و در معرض درجه حرارت‌های مختلف (شامل ۳۷، ۲۴ و ۴ درجه سانتی‌گراد) و در PH نهایی (۶/۸، ۶/۶ و ۶/۴) آماده و در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که شرایط مطلوب برای واکسن بهینه، pH اولیه‌ی جذب ۵/۸، حرارت جذب ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و مقدار pH نهایی ۶/۶ بود.

طریق داخل جلدی به خرگوش تزریق شد. در گروه شاهد، توکسوئید دیفتری تزریق شد و سطح نکروز مورد بررسی قرار گرفت (۷).

یافته‌ها

در این مطالعه، متغیرهای مختلفی به منظور بهینه‌سازی سطح جذب توکسوئید دیفتری در روی ژل آلومینیوم فسفات مورد بررسی قرار گرفتند. بنابراین، عوامل مهم مانند pH جذب، دما و pH نهایی برای آماده‌سازی واکسن دیفتری بررسی شدند. اثر واکسن در داخل بدن

جدول ۱. تهیهی رت‌های مختلف از واکسن دیفتری و توکسین

شماره‌ی لوله	حجم توکسین (ml)	حجم حلال: پپتون واتر (ml)	حجم سرم خون کوچک‌هی هندی (ml)
۱	۱	۰/۹	۰/۱
۲	۱	۰/۸	۰/۲
۳	۱	۰/۷	۰/۳
۴	۱	۰/۶	۰/۴
۵	۱	۰/۵	۰/۵
۶	۱	۰/۴	۰/۶
۷	۱	۰/۳	۰/۷
۸	۱	۰/۲	۰/۸
۹	۱	۰/۱	۰/۹
۱۰	۱	۱/۰	-----

جدول ۲. تعیین درصد جذب توکسوئید دیفتری بر روی ژل آلومینیوم فسفات با pH جذب و pH نهایی مختلف در دماهای مختلف

واکسن دیفتری	دمای پخچال ۴ °C			دمای اتکوباسیون ۳۷ °C			دمای اتاق ۲۴ °C		
	pH	۶/۸	۶/۶	۶/۴	۶/۸	۶/۶	۶/۴	۶/۸	۶/۶
pH = ۵	۳	۳	۴	۲	۳	۳	۲	۳	۲
pH = ۵/۲	۸۵/۰	۹۲/۵	۷۷/۵	۹۲/۵	۸۵/۰	۹۲/۵	۹۲/۵	۸۵/۰	۹۲/۵
pH = ۵/۴	۲	۱/۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
pH = ۵/۶	۹۴/۰	۹۲/۵	۹۴/۰	۹۲/۵	۹۴/۰	۹۲/۵	۹۲/۵	۹۲/۵	۹۲/۵
pH = ۵/۸	۹۲/۵	۹۵/۰	۹۴/۰	۹۲/۵	۸۵/۰	۹۲/۵	۹۲/۵	۹۳/۵	۹۲/۵
pH = ۶	۲	۲	۲	۳	۱/۲	۱/۲	۴	۳	۳
	۹۲/۵	۹۲/۵	۹۲/۵	۸۵/۰	۹۳/۵	۹۴/۰	۷۷/۵	۸۵/۰	۸۵

جدول ۳. ارزیابی کارایی (Potency) واکسن دیفتری مورد مطالعه

شماره لوله	حجم سرم خون خوکچه‌ی هندی (ml)	حجم حلال: پپتون واتر (ml)	حجم توکسین (ml)	مشاهده‌ی روزها						نتیجه IU/ml
				در هر دو پهلوی خرگوش						
				روز اول		روز دوم		روز سوم		
چپ	راست	چپ	راست	چپ	راست					
۱	۰/۱	۰/۹	۱	+	+	+	+	+	+	۵ IU/ml
۲	۰/۲	۰/۸	۱	-	-	-	-	-	-	
۳	۰/۳	۰/۷	۱	-	-	-	-	-	-	
۴	۰/۴	۰/۶	۱	-	-	-	-	-	-	
۵	۰/۵	۰/۵	۱	-	-	-	-	-	-	
۶	۰/۶	۰/۴	۱	-	-	-	-	-	-	
۷	۰/۷	۰/۳	۱	-	-	-	-	-	-	
۸	۰/۸	۰/۲	۱	-	-	-	-	-	-	
۹	۰/۹	۰/۱	۱	-	-	-	-	-	-	
۱۰	-	۱/۰	۱	+	+	+	+	+	+	

به ۱۰ غلظت مختلف (آنتی‌بادی + آب پپتون + توکسوئید) رقیق شد (جدول ۳). نتایج علایم نکروز را در رقت اول (۱/۰ + ۰/۹ + ۰/۱) نشان داد؛ در حالی که هیچ تفاوت قابل توجهی در دیگر رقت‌ها (رقت‌های ۲ تا ۹) دیده نشد. نمونه‌ی رقیق شده در سطح دهم، یعنی توکسوئید خالص، علایم قابل توجهی از نکروز را به نمایش گذاشت.

علاوه بر این، قدرت واکسن ما در اولین رقت که در آن علایم نکروز مشاهده گردید، محاسبه شد. ۱ میلی‌لیتر از دومین رقت (۰/۲) با قدرت ۱ میلی‌لیتر/واحد بین‌المللی، بالاترین میزان قدرت واکسن (۵ میلی‌لیتر/واحد بین‌المللی) بررسی و در جدول ۳ ثبت گردید.

بحث

مطالعه‌ی حاضر با تمرکز بر توسعه‌ی واکسن دیفتری به منظور القای ایمنی کارآمد و محافظ، صورت پذیرفت.

با توجه به مشاهدات مطالعه‌ی حاضر، بهبود در شرایط جذب آنتی‌ژن بر روی ژل آلومینیوم فسفات در آزمایش فولیکولاسیون در حدود ۹۵ درصد برآورد شد.

انتشار آنتی‌ژن دیفتری در شرایط آزمایشگاهی

آنتی‌ژن دیفتری با استفاده از محلول بافر فسفات (PBS با pH = ۷) در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد از ژل آلومینیوم فسفات آزاد و رها شد. انتشار آهسته‌ی آنتی‌ژن دیفتری از ژل آلومینیوم فسفات در طی یک دوره‌ی ۲۴-۵ ساعته رخ داد. این فرایند، در یک روند ثابت برای ۳۶۰ ساعت آینده ادامه یافت و در حدود ۶۰ درصد از آنتی‌ژن بیشتر از ۱۵ روز آزاد شد.

ایمنی‌زایی

ایمنی‌زایی بر روی شش خوکچه‌ی هندی که هر کدام ۰/۷۵ میلی‌لیتر واکسن دیفتری دریافت کرده بودند، مورد آزمایش قرار گرفت. بعد از ۶ هفته از ایمن‌سازی، نمونه‌ی خون برای بررسی سطح آنتی‌بادی‌های سرم خنثی، گرفته شد. نمونه‌ی واکسن

نیروی الکترواستاتیک است، نشان داده شد. همچنین، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که یک رابطه‌ی مستقیم بین pH و جذب آنتی‌ژن وجود دارد. این نتایج، با نتیجه‌ی قبلی گزارش شده توسط Lindblad (۴) و Gupta (۲۱) سازگار است.

نتایج این مطالعه، نشان داد که رهش آنتی‌ژن دیفتری از ادجوانت بین ۲۴-۵ ساعت آهسته و پس از آن تا ۳۶۰ ساعت آینده، با میزان ثابت رخ داد.

از سوی دیگر، ایمنی‌زایی واکسن دیفتری فرموله شده، در شرایط بدنی، مورد ارزیابی قرار گرفت. خوکچه‌های هندی توسط واکسن دیفتری واکسینه شدند و میزان افزایش ایمنی‌زایی آن‌ها و سطح آنتی‌بادی، با خونگیری از آن‌ها و انجام آزمایش SN برآورد شد. همان‌طور که در مطالعه‌ی حاضر مشاهده شد، با تزریق رقت اول نکرده نشان داده شد، اما بقیه‌ی رقت‌ها ایمن بودند. مشاهدات مطالعه‌ی حاضر نشان داد که در رقت دوم تا نهم، آنتی‌بادی محافظ وجود داشته است. با این وجود، آنتی‌بادی ۵ میلی‌لیتر/واحد بین‌المللی است که در نظر گرفته شد (جدول ۳).

در این مطالعه، از ۹ فرمولاسیون مختلف با موفقیت برای واکسن دیفتری به منظور پیدا کردن یک وضعیت بهتر برای بهترین درجه از جذب آنتی‌ژن استفاده شد.

ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم در فرمولاسیون واکسن دیفتری توسط Regnier و همکاران (۲۲) استفاده شد. آن‌ها بررسی کردند که «آیا جذب، باعث تغییرات ساختاری آنتی‌ژن توکسوئید دیفتری می‌گردد؟». گزارش‌ها جذب و ظرفیت بالا برای جذب توکسوئید دیفتری بر روی ژل را نشان دادند (۲۲-۲۳).

هیدروکسید آلومینیوم، به عنوان ادجوانت در واکسن انسانی برای بیش از ۶۰ سال استفاده شده است.

هیدروکسید آلومینیوم و ژل فسفات آلومینیوم، به عنوان ادجوانت به صورت منظم برای بهبود اثربخشی واکسن در واکسن‌های انسانی به کار رفته است. میزان جذب آنتی‌ژن در ادجوانت، بستگی به عوامل مختلفی از جمله آنتی‌ژن و ادجوانت مشخص، مواد جانبی و pH فرمولاسیون واکسن دارد (۱۷-۱۸).

در این مطالعه، توکسوئید دیفتری خالص شده برای واکسن تهیه شده، استفاده می‌شود. بررسی میزان جذب در هیدروکسید آلومینیوم با pH مختلف جذب (۶، ۵/۸، ۵/۶، ۵/۴، ۵/۲ و ۵) و در معرض درجه حرارت‌های مختلف (۳۷، ۲۴ و ۴ سانتی‌گراد) و تنظیم در pH نهایی (۶/۸، ۶/۶ و ۶/۴) نشان داد که فرمولاسیون مؤثر، با pH اولیه‌ی جذب ۵/۸، حرارت جذب ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و مقدار pH نهایی ۶/۶ بوده است.

به طور مشابه، Sundaran و Sivananda، میزان جذب توکسوئید دیفتری در ژل آلومینیوم فسفات در pHهای مختلف (۷/۵، ۷، ۶/۵، ۶ و ۵) را ارزیابی و پیشنهاد کردند که درجه‌ی کم pH، منجر به میزان جذب بالاتری خواهد شد (۱۹-۲۰).

با توجه به مطالعه‌ی Gupta و Siber، جذب آنتی‌ژن بر روی ژل آلومینیوم به طور مستقیم به نیروی الکترواستاتیکی که بین ادجوانت و آنتی‌ژن برقرار است، بستگی دارد. جذب آنتی‌ژن پروتئین (دیفتری) در فاصله‌ی pH بین نقطه‌ی ایزوالکتریک از آنتی‌ژن و ادجوانت آلومینیوم انجام می‌شود (۲۰). در این مطالعه، نقش عمده‌ی pH در جذب آنتی‌ژن و تعامل بین آنتی‌ژن و آلومینیوم، که ناشی از

می‌توان نتیجه گرفت که دانش به دست آمده در این مطالعه، می‌تواند در بهبود تولید واکسن مفید و مؤثر واقع شود.

تشکر و قدردانی

با تشکر از اعضای بخش واکسن و آنتی‌سرم‌های انسانی موسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی که در اجرای این مطالعه، با پژوهشگران همکاری نمودند. همچنین از این مؤسسه جهت تأمین منابع مالی اجرای این مطالعه قدردانی می‌گردد.

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که درجه‌ی جذب، بستگی به خواص فیزیکوشیمیایی آنتی‌ژن، ادجوانت و pH فرمولاسیون واکسن با درجه حرارت مناسب دارد. می‌توان نتیجه گرفت که pH پایین، منجر افزایش میزان جذب خواهد شد. نتایج به وضوح نشان داد که نمونه‌ی جذب شده در pH اولیه‌ی جذب ۵/۸، حرارت جذب ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و مقدار pH نهایی ۶/۶، دارای حداکثر جذب بود. علاوه بر این، سطح آنتی‌بادی در حیوانات مصون، به طور قابل توجهی بالا بود. واکسن دیفتری فرموله شده، امن و بسیار ایمنی‌زا بود (جدول ۲).

References

- Rydell N, Sjöholm I. Oral vaccination against diphtheria using polyacryl starch microparticles as adjuvant. *Vaccine* 2004; 22(9-10): 1265-74.
- Moro PL, Yue X, Lewis P, Haber P, Broder K. Adverse events after tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid and acellular pertussis (Tdap) vaccine administered to adults 65 years of age and older reported to the Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS), 2005-2010. *Vaccine* 2011; 29(50): 9404-8.
- Goto N, Kato H, Maeyama J, Eto K, Yoshihara S. Studies on the toxicities of aluminium hydroxide and calcium phosphate as immunological adjuvants for vaccines. *Vaccine* 1993; 11(9): 914-8.
- Lindblad EB. Aluminium adjuvants--in retrospect and prospect. *Vaccine* 2004; 22(27-28): 3658-68.
- Lima KM, dos Santos SA, Rodrigues JM, Silva CL. Vaccine adjuvant: it makes the difference. *Vaccine* 2004; 22(19): 2374-9.
- Aggerbeck H, Heron I. Adjuvanticity of aluminium hydroxide and calcium phosphate in diphtheria-tetanus vaccines--I. *Vaccine* 1995; 13(14): 1360-5.
- O'Hagan DT. Preparation methods and research protocols: Methods in molecular medicine. New York, NY: Springer; 2000. p. 435-50.
- Tritto E, Mosca F, De Gregorio E. Mechanism of action of licensed vaccine adjuvants. *Vaccine* 2009; 27(25-26): 3331-4.
- van Duin D, Medzhitov R, Shaw AC. Triggering TLR signaling in vaccination. *Trends Immunol* 2006; 27(1): 49-55.
- Petrovsky N, Aguilar JC. Vaccine adjuvants: current state and future trends. *Immunol Cell Biol* 2004; 82(5): 488-96.
- Aguilar JC, Rodriguez EG. Vaccine adjuvants revisited. *Vaccine* 2007; 25(19): 3752-62.
- Schirmbeck R, Melber K, Mertens T, Reimann J. Antibody and cytotoxic T-cell responses to soluble hepatitis B virus (HBV) S antigen in mice: implication for the pathogenesis of HBV-induced hepatitis. *J Virol* 1994; 68(3): 1418-25.
- Rimaniol AC, Gras G, Verdier F, Capel F, Grigoriev VB, Porcheray F, et al. Aluminum hydroxide adjuvant induces macrophage differentiation towards a specialized antigen-presenting cell type. *Vaccine* 2004; 22(23-24): 3127-35.
- Aggerbeck H, Wantzin J, Heron I. Booster vaccination against diphtheria and tetanus in man. Comparison of three different vaccine formulations--III. *Vaccine* 1996; 14(13): 1265-72.
- Aucouturier J, Dupuis L, Ganne V. Adjuvants designed for veterinary and human vaccines. *Vaccine* 2001; 19(17-19): 2666-72.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-75.
- Sivakumar SM, Safhi MM, Kannadasan M, Sukumaran N. Vaccine adjuvants - Current status and prospects on controlled release adjuvancity. *Saudi Pharm J* 2011; 19(4): 197-206.

18. Lyng J. Potency assay of diphtheria and tetanus toxoids some theoretical and practical considerations. *Dev Biol Stand* 1986; 64: 47-50.
19. Sivananda N, Sundaran B. Studies on adsorption of diphtheria toxoid on aluminium phosphate gel. *Indian Journal of Science and Technology* 2010; 3(3): 248-9.
20. Gupta RK, Siber GR. Adjuvants for human vaccines--current status, problems and future prospects. *Vaccine* 1995; 13(14): 1263-76.
21. Gupta RK. Aluminum compounds as vaccine adjuvants. *Adv Drug Deliv Rev* 1998; 32(3): 155-72.
22. Regnier M, Metz B, Tilstra W, Hendriksen C, Jiskoot W, Norde W, et al. Structural perturbation of diphtheria toxoid upon adsorption to aluminium hydroxide adjuvant. *Vaccine* 2012; 30(48): 6783-8.
23. Oleszycka E, Lavelle EC. Immunomodulatory properties of the vaccine adjuvant alum. *Curr Opin Immunol* 2014; 28: 1-5.

Optimization of Diphtheria Toxoid Absorption on Aluminum Phosphates and its Relationship with Potency

Mina Pahlevani MSc¹, Hossein Zolfagharian PhD², Majid Tebianian PhD³,
Hossein Rasi PhD⁴

Original Article

Abstract

Background: In the mid-1940s, the diphtheria toxoid (inactivated toxin) vaccine was developed via combination with tetanus and pertussis vaccines (DTP vaccine) and successfully conducted to eradication of diphtheria disease throughout the world. Optimization of diphtheria toxoid absorption on aluminum phosphates to improve the rate of absorption and increase the efficacy of vaccine was our aim.

Methods: In this study, the effect of different parameters, such as initial pH, temperature and final pH, on the adsorption rate of diphtheria toxoid on aluminum phosphate gel was studied in vitro and vivo. Purified diphtheria toxoid was used for vaccine preparation. It was adsorbed to aluminum hydroxide with different pH values (5.0, 5.2, 5.4, 5.6, 5.8 and 6.0) and exposed to various temperatures (4, 24 and 37°C) and adjusted to the final pH values of 6.4, 6.6 and 6.8.

Findings: The effective formulation was the pH of 5.8 at the temperature of 4°C with the final pH of 6.6.

Conclusion: The level of antibody in the immunized animals significantly was high. It is suggested that with new formulated vaccine with the optimized conditions, can significantly make the rate of toxoid and level of antibody high in the immunized animals.

Keywords: Diphtheria, Vaccines, Adjuvant, Absorption, pH

Citation: Pahlevani M, Zolfagharian H, Tebianian M, Rasi H. **Optimization of Diphtheria Toxoid Absorption on Aluminum Phosphates and its Relationship with Potency.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(343): 1128-36

1- Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

2- Associate Professor, Department of Human Vaccine and Antisera, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran

3- Assistant Professor, Department of Human Vaccine and Antisera, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran

4- Assistant Professor, Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

Corresponding Author: Hossein Zolfagharian PhD, Email: zolfagharianh@yahoo.com

ردیابی ژن‌های متالوبتالاکتامازی bla_{VIM2} و bla_{VIM1} ، bla_{IMP2} ، bla_{IMP1} ، bla_{SPM1} در *Pseudomonas aeruginosa* جداسازی شده از نمونه‌های بالینی مراکز درمانی جنوب تهران و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مهدی روحی بیرون^۱، دکتر کیومرث امینی^۲، دکتر مهدی پرویز^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: *Pseudomonas aeruginosa* یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی به ویژه در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی و کودکان است. مقاومت به کاربامپنم‌ها، به دلیل وجود ژن‌های کد کنندهی آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز تهدیدی جدی به شمار می‌آید. هدف از انجام این مطالعه، جداسازی ژن‌های کد کنندهی آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز از سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از بیماران غیر بستری به روش Multiplex PCR (Multiplex polymerase chain reaction) و مقایسه با روش‌های فنوتیپی بود.

روش‌ها: ۵۰ سویه‌ی *Pseudomonas aeruginosa* جداسازی شد و سپس، آزمون آنتی‌بیوگرام با ۷ آنتی‌بیوتیک مختلف انجام گرفت. برای ۸ سویه‌ی مقاوم به ایمی‌پنم، آزمایش‌های فنوتیپی DDST (Double disk synergy test) و Combine disk انجام گرفت. در نهایت، برای تأیید روش‌های فنوتیپی انجام گرفته، Multiplex PCR برای ردیابی ژن‌های مورد نظر انجام شد.

یافته‌ها: مطابق نتایج آنتی‌بیوگرام، الگوی مقاومت سویه‌های جدا شده نسبت به ایمی‌پنم ۱۶ درصد و نسبت به سفتری‌زوکسیم و مروپنم ۸ درصد بود و در روش DDST و Combine disk، هیچ سویه‌ی متالوبتالاکتاماز مثبتی یافت نشد. نتایج PCR تأیید کنندهی روش‌های فنوتیپی بودند و هیچ نمونه‌ی متالوبتالاکتاماز مثبتی شناسایی نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این بررسی، مروپنم و سفتری‌زوکسیم داروهای جایگزین مناسب برای ایمی‌پنم می‌باشند و با توجه به روش‌های فنوتیپی و مولکولی، ژن‌های متالوبتالاکتامازی مورد نظر در بیماران غیر بستری شیوع بالایی ندارند.

واژگان کلیدی: متالوبتالاکتاماز، Multiplex polymerase chain reaction، *Pseudomonas aeruginosa*

ارجاع: روحی بیرون مهدی، امینی کیومرث، پرویز مهدی. ردیابی ژن‌های متالوبتالاکتامازی bla_{VIM2} ، bla_{VIM1} ، bla_{IMP2} ، bla_{IMP1} ، bla_{SPM1} و مقاومت آنتی‌بیوتیکی. *Pseudomonas aeruginosa* جداسازی شده از نمونه‌های بالینی مراکز درمانی جنوب تهران و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۴۳): ۱۱۴۶-۱۱۳۷

مقدمه

عفونت‌های بیمارستانی نقش مهمی ایفا می‌نمایند. در سال‌های اخیر، میزان مقاومت به کاربامپنم‌ها در درمان عفونت‌های ناشی از *Pseudomonas* افزایش یافته

Pseudomonas aeruginosa، به عنوان یک عامل فرصت طلب و مقاوم به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها، در

- ۱- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
- ۲- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
- ۳- مربی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

Email: kamini@iau-saveh.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: کیومرث امینی

Pseudomonas aeruginosa جدا شده از بیماران غیر بستری با روش Multiplex PCR (Multiplex polymerase chain reaction) و روش فنوتیپی DDST (Double disk synergy test) و Combine disk و مقایسه‌ی آن‌ها با یکدیگر بود.

روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: در این مطالعه‌ی توصیفی-مقطعی، در طول ۶ ماه (از فروردین تا شهریور ۱۳۹۳) از ۵۰ بیمار غیر بستری مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های جنوب غرب تهران، نمونه‌ی مربوط به *Pseudomonas aeruginosa* جداسازی گردید. نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و در محیط ستریمید آگار کشت شد. محیط‌های کشت به مدت ۲۴-۱۸ ساعت و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید.

تعیین هویت کلنی‌ها: جهت تعیین هویت کلنی‌های مشکوک، از آزمایش‌های بیوشیمیایی مانند عدم تخمیر گلوکز و لاکتوز در محیط TSI agar (Triple sugar iron agar) تولید اکسیداز، رشد در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، تولید پیگمان سبز-آبی در محیط ستریمید آگار و حرکت در محیط SIM (Sulfide indol motility) استفاده شد (۳-۲).

حساسیت ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* جداسازی شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمپی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفتری‌زوکسیم (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم) تهیه شده از شرکت پادتن طب، به روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) و مطابق با استانداردهای CLSI

است. مقاومت به کاربامپنم‌ها به ویژه ایمپی‌پنم، به دلیل وجود خانواده‌ی ژن‌های متالوبتالاکتامازی شامل VIM، IMP، SPM و با فراوانی بیشتر و SIM و GIM با فراوانی کمتر می‌باشد.

مقاومت بالای باکتری‌های مولد این آنزیم‌ها و شکست آنتی‌بیوتیک درمانی و ایجاد عفونت‌های شدید مانند سپتی‌سمی و پنومونی، خطر مرگ و میر ناشی از عفونت با این سویه‌ها را نسبت به سایر باکتری‌های مقاوم به ایمپی‌پنم در عفونت‌های بیمارستانی افزایش می‌دهد.

بررسی و تشخیص سریع این آنزیم‌ها هم از لحاظ اپیدمیولوژیک و هم به منظور کمک به پزشکان معالج در انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب برای درمان موفق بیماران و همچنین، کنترل سویه‌های مقاوم به داروها و جلوگیری از انتشار عفونت‌های مقاوم در بیمارستان‌ها ضروری می‌باشد.

ژن‌های این آنزیم‌ها، در عناصر قابل انتقال از جمله پلاسمیدها و ایتگرون‌ها قرار دارند و به راحتی می‌توانند بین سویه‌های مختلف یک باکتری وحتىی باکتری‌های مختلف، انتقال یابند. مقاومت به کاربامپنم‌ها (ایمپی‌پنم و مروپنم) در *Pseudomonas aeruginosa* از چندین راه صورت می‌گیرد: کاهش جذب آنتی‌بیوتیک از طریق فقدان یک پورین غشای خارجی تحت عنوان OprD که باعث ایجاد یک مقاومت سطح پایین می‌شود و نیز، دفع فعال دارو از طریق ایفلاکس که مهم‌ترین آن‌ها MexAB-OprM است و به طور ذاتی در باکتری وجود دارد و باعث دفع بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله کاربامپنم‌ها می‌شوند (۱).

هدف از انجام این تحقیق، شناسایی ژن‌های کد کننده‌ی آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز در سویه‌های

دو هاله‌ی عدم رشد باید بیش از ۷ میلی‌متر باشد (به شرطی که هاله‌ی ایمی‌پنم زیر ۱۴ میلی‌متر باشد).

روش Multiplex PCR: برای استخراج DNA، از کیت باکتری‌های گرم منفی شرکت سیناژن (DNA KIT-PR881613 Cinna Pure) استفاده شد. آزمون Multiplex polymerase chain reaction (M-PCR) شامل مرحله‌ی واسرشت اولیه ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، مرحله‌ی واسرشت ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله‌ی اتصال ۶۱ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله‌ی بسط ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه (تعداد ۳۵ سیکل) و مرحله‌ی بسط نهایی ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود.

پرایمرهای استفاده شده در این آزمون در جدول ۱ آمده است. آزمون Multiplex PCR در دستگاه ترموسایکلر (TECHNE) انجام گردید. محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد انتقال داده شد و بعد از رنگ‌آمیزی، در دستگاه ژل داگ (BIORAD) مورد بررسی قرار گرفت.

داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

از مجموع ۵۰ ایزوله‌ی *Pseudomonas aeruginosa*، ۲۸ ایزوله (۵۶ درصد) از زنان و ۲۲ ایزوله (۴۴ درصد) از مردان جداسازی گردید که میزان مقاومت در زنان بیشتر از مردان بود (شکل ۱). این اختلاف، با توجه به مقایسه‌ی دو جنس معنی‌دار بود. از ۵۰ ایزوله‌ی مورد بررسی جهت انجام آزمون

(Clinical and Laboratory Standards Institute) سنجیده شد (۴).

روش DDST: برای بررسی وجود آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز، از روش‌های فنوتیپی DDST و Combine disk استفاده شد. تهیه‌ی سوسپانسیون باکتریایی معادل با غلظت ۰/۵ مک‌فارلند و سپس تأیید با اسپکتروفتومتر با طول موج ۶۲۵ نانومتر و OD (Optical density) ۰/۰۸-۰/۱ انجام گرفت. سپس با استفاده از سوآپ استریل، روی سطح محیط Muller-Hinton agar کشت داده شد.

در مرحله‌ی بعد، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی بر روی این محیط قرار داده شد. ابتدا دیسک ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم) روی پلیت و دیسک EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) با غلظت ۰/۵ مولار به حجم ۴ میکرولیتر روبه‌روی دیسک ایمی‌پنم و به فاصله‌ی ۲۰-۱۵ میلی‌متر قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، نتیجه خوانده شد (۴-۵). در این روش، در اطراف دیسک ایمی‌پنم، افزایش هاله‌ی عدم رشد، بیانگر وجود آنزیم متالوبتالاکتاماز می‌باشد (۴-۵).

روش Combine disk: در این روش، ابتدا برای ۸ سویه‌ی مقاوم به ایمی‌پنم، سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک‌فارلند از کلنی‌های ۲۴ ساعته تهیه و بر روی سطح محیط مولر هینتون آگار کشت گردید. بعد از گذشت ۱۵ دقیقه از تلقیح، دیسک ایمی‌پنم ۱۰ میکروگرم در سمتی از پلیت و دیسک EDTA/IPM در گوشه‌ی دیگر پلیت قرار داده شد و ۲۴ ساعت انکوبه گردید.

پس از ۲۴ ساعت، تفاوت هاله‌ی عدم رشد مقایسه شد. در نمونه‌ی متالوبتالاکتاماز مثبت، تفاوت

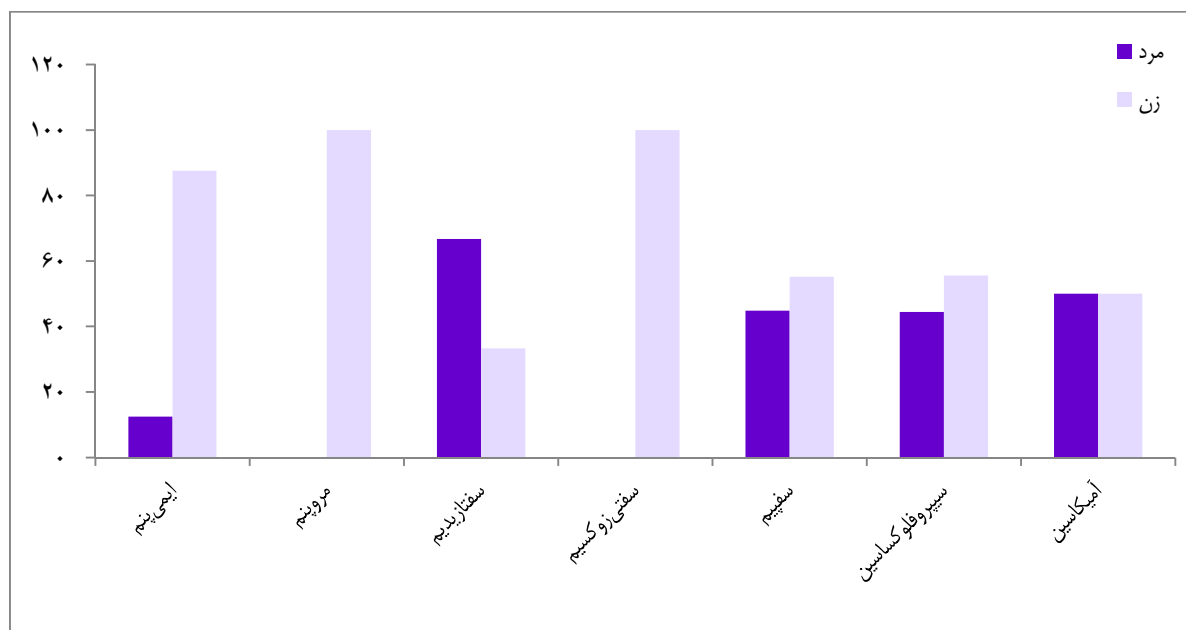
سویه‌های مقاوم به ایمی‌پنم، سویه‌ی مثبتی یافت نشد (شکل ۳).

در روش Combine disk از میان سویه‌های مقاوم به ایمی‌پنم، سویه‌ی مثبتی یافت نشد (شکل ۴).
آزمون M-PCR برای بررسی وجود یا عدم وجود ژن‌های bla_{SPM_1} ، bla_{IMP_1} ، bla_{IMP_2} ، bla_{VIM_1} و bla_{VIM_2} استفاده شد.

آنتی‌بیوگرام، بیشترین حساسیت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم و سفتری‌زوکسیم به میزان ۹۲ درصد و بیشترین مقاومت برای آنتی‌بیوتیک سفنازیدیم (۶۴ درصد) گزارش شد (جدول ۲) (شکل ۲).
در سنجش متالوبتالاکتاماز به روش فنوتیپی، از روش‌های DDST (Double disk synergy test) و Combine disk استفاده شد. در روش DDST از میان

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام Multiplex PCR (Multiplex polymerase chain reaction).

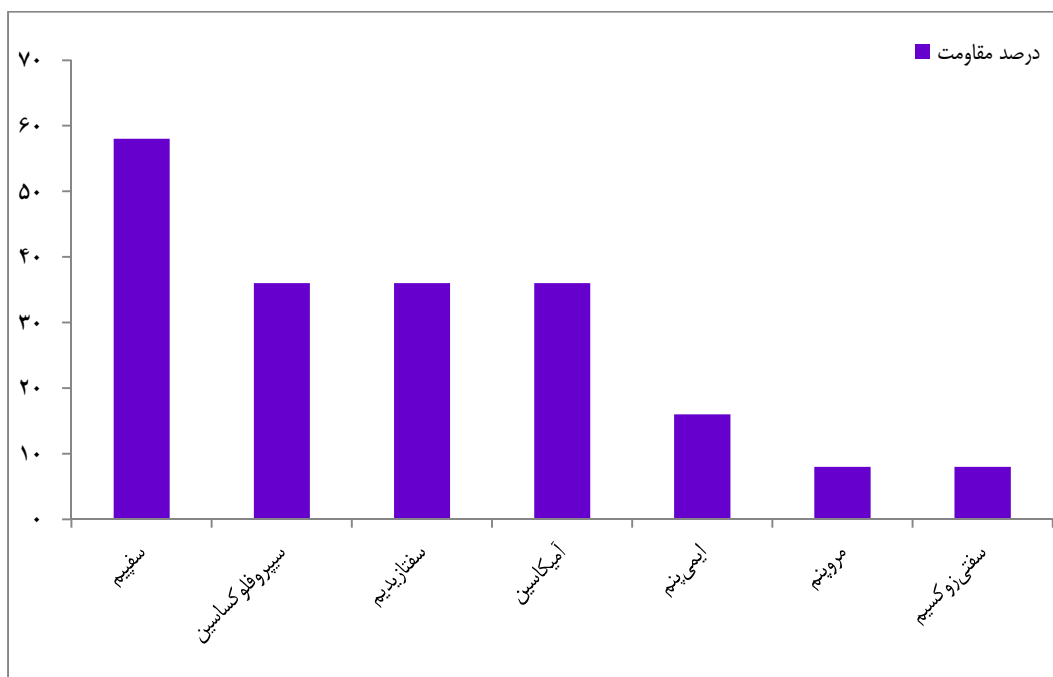
پرایمر	توالی پرایمر	ژن هدف	اندازه‌ی باند (bp)
SPM ₁	Forward: ۵' CCTACAATCTAACGGCGACC ۳' Reverse: ۵' TCGCCGTGTCCAGGTATAA ۳'	SPM ₁	۷۸۶
IMP ₁	Forward: ۵' TGAGCAAGTTATCTGTATTC ۳' Reverse: ۵' TTAGTTGCTTGGTTTTGATG ۳'	IMP ₁	۷۴۰
IMP ₂	Forward: ۵' GGCAGTCGCCCTAAAACAAA ۳' Reverse: ۵' GGCAGTCGCCCTAAAACAAA ۳'	IMP ₂	۷۳۷
VIM ₁	Forward: ۵' TTATGGAGCAGCAGCAACCGATGT ۳' Reverse: ۵' CAAAAGTCCCCTCCAACGA ۳'	VIM ₁	۹۲۰
VIM ₂	Forward: ۵' AAAGTTATGCCGCACTCACC ۳' Reverse: ۵' TGCAACTTCATGTTATGCCG ۳'	VIM ₂	۸۶۵



شکل ۱. مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر حسب جنس

جدول ۲. میزان حساسیت سویه‌های جداسازی شده به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن

نوع آنتی‌بیوتیک	میزان مقاومت (درصد)	حساسیت متوسط (درصد)	میزان حساسیت (درصد)
ایمی‌پنم	۱۶	-	۸۴
مروپنم	۸	-	۹۲
سفتی‌م	۶۰	۱۰	۳۰
سفتازیدیم	۶۴	۶	۳۰
سفتی‌زوکسیم	۸	-	۹۲
سیپروفلوکساسین	۳۶	-	۶۴
آمی‌کاسین	۳۶	۲۴	۴۰



شکل ۲. مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها به کل آنتی‌بیوتیک‌ها



شکل ۴. نتیجه‌ی آزمون Combine disk



شکل ۳. نتیجه‌ی آزمون (Double disk synergy) DDS

از مجموع ۵۰ ایزوله‌ی جدا شده‌ی *Pseudomonas aeruginosa*، هیچ سویه‌ی متالوبتالاکتاماز مثبتی یافت نشد. بررسی‌های آماری نشان داد که بین جنسیت و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین ارتباط معنی‌داری وجود دارد. در حالی که بین حساسیت نسبت به ایمپنم و حساسیت نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها ارتباط معنی‌داری یافت نشد.

بحث

Pseudomonas aeruginosa یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی است که جهت درمان آن، آنتی‌بیوتیک‌های متعددی مانند آمینوگلیکوزیدها، کینولون‌ها و بتالاکتام‌ها به کار می‌روند، اما شیوع عفونت‌های بیمارستانی سویه‌های مقاوم بسیار گزارش شده است (۴). متالوبتالاکتامازها، به دلیل ایجاد مقاومت به کارباپنم‌ها که از مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده علیه عفونت‌های ناشی از *Pseudomonas* هستند، بسیار حایز اهمیت می‌باشند.

در مطالعاتی انجام گرفته در بیمارستان‌های کشورهای مختلف، بدون مصرف قبلی کارباپنم‌ها نیز *Pseudomonas*‌های مولد IMP و VIM مشاهده شده است که بیانگر انتقال این ژن بین سویه‌های مختلف می‌باشد. سویه‌های دارای این ژن‌ها، به دلیل پیوستگی ژنتیکی، به خانواده‌ی مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله سولفانامیدها، کینولون‌ها و آمینوگلیکوزیدها نیز مقاومت نشان می‌دهند. از طرف دیگر، مکانیزم‌های دیگر شایع در *Pseudomonas aeruginosa* مانند Efflux pumps و Amp C کروموزومی نیز می‌توانند به طور هم‌زمان در ایجاد مقاومت این باکتری به

آنتی‌بیوتیک‌های مختلف نقش داشته باشند (۷-۶، ۴). در این تحقیق، میزان مقاومت به آمیکاسین ۳۶ درصد گزارش شد. Makedou و همکاران نشان داد که ۱۵ درصد سویه‌ها مقاوم به آمیکاسین بودند (۸). شاهچراغی و همکاران، نشان دادند که ۹۳/۴ درصد از سویه‌ها مقاوم به آمیکاسین بودند (۴). موحدی و همکاران در تحقیقی که بر روی کودکان بخش NICU (Neonatal intensive-care unit) مرکز طبی کودکان انجام داد، با مقاومت ۱۸ درصد در مواجهه با آنتی‌بیوتیک آمیکاسین مواجه شدند (۹).

در این بررسی، میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین ۳۶ درصد گزارش شد. در تحقیق دوستی و همکاران در بیمارستان ولی عصر (عج) زنجان، ۴۰/۶ درصد از سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از نمونه‌های بالینی، به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند (۱۰). در پژوهش فاضلی و همکاران از بیمارستان سوانح سوختگی امام موسی کاظم (ع) اصفهان نیز ۹۸/۷ درصد از سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از بیماران، مقاومت به این آنتی‌بیوتیک را از خود نشان دادند (۱۱).

Rossolini و Mantengoli نیز مکانیزم‌های ایجاد مقاومت و روند افزایش میزان شیوع مقاومت را در بین باکتری *Pseudomonas aeruginosa* بررسی نمودند (۱۲). مقایسه‌ی نتایج این تحقیق با سایر مطالعات نشان داد که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیماران سوانح سوختگی (۹۸/۷ درصد) بیش از سایر موارد است که این امر، می‌تواند به دلیل ضعف سیستم ایمنی و مقاومت کمتر بیماران سوختگی به دلیل ضعف جسمانی ناشی از سوختگی باشد.

در این تحقیق، ۱۶ و ۸ درصد از سویه‌ها به ترتیب به ایمی‌پنم و مروپنم مقاوم بودند. بررسی‌ها نشان می‌دهد، میزان مقاومت نسبت به ایمی‌پنم نیز در چند سال اخیر، به دلیل انتشار و انتقال ژن‌های کدکننده‌ی متالوبتالاکتاماز در حال افزایش است.

Luzzaro و همکاران نشان دادند که ۱۵ درصد سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa*، مقاوم به ایمی‌پنم بودند (۱۳). تحقیق حاضر، نتایج مشابهی را با پژوهش Luzzaro و همکاران نشان داد، اما نسبت به سایر مطالعات، مقاومت کمتری را نشان داد. دلیل این امر، می‌تواند نوع نمونه‌های گرفته شده‌ی *Pseudomonas aeruginosa* باشد که از بیماران غیر بستری آزمایشگاه‌های تشخیص طبی جدا شده بودند و به همین دلیل، مقاومت کمتری را نسبت به ایمی‌پنم نشان دادند.

Franco و همکاران، طی تحقیقی در بیمارستان‌های برزیل، مشاهده کردند که ۱۰۰ درصد بیماران مقاوم به ایمی‌پنم بودند (۶). در پژوهش دوستی و همکاران ۵۵/۱ درصد از بیماران مقاوم به ایمی‌پنم بودند (۱۰).

در این تحقیق، ۸ درصد از سویه‌ها مقاومت نسبت به مروپنم را نشان دادند. در مطالعه‌ی دوستی و همکاران، ۹۸/۶ درصد از سویه‌ها مقاوم به مروپنم بودند (۱۰). در تحقیق Franco و همکاران، ۸۸/۴ درصد مقاومت به مروپنم گزارش شد (۶). نتایج بیانگر کارایی بیشتر این آنتی‌بیوتیک می‌باشد.

میهنی و خسروی ۸۱ درصد مقاومت به سفنازیدیم را گزارش کردند (۱۴). با مقایسه‌ی نتایج تحقیق حاضر با سایر مطالعات، کمترین میزان مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک گزارش شد.

همچنین، در تحقیق حاضر، میزان مقاومت با توجه به شکل ۱، در زنان بیشتر از مردان بود که وجود این اختلاف معنی‌دار به ویژه در میان آنتی‌بیوتیک‌های سفتی‌زوکسیم، مروپنم و ایمی‌پنم مشاهده گردید. این یافته، می‌تواند مؤید این نکته باشد که میزان مصرف آنتی‌بیوتیک در میان زنان بالاتر از مردان است و به دنبال آن، ایجاد مقاومت در این افراد، بیشتر مشاهده می‌گردد.

آزمایش DDST بر روی ۸ نمونه‌ی مقاوم به ایمی‌پنم انجام گرفت و نتیجه‌ی هر ۸ مورد منفی بود. مقایسه‌ی این نتایج با نتایج آزمون مولکولی نشان دهنده عدم وجود ژن‌های متالوبتالاکتامازی در سویه‌های مورد بررسی است.

دوستی و همکاران در تحقیقی برای جداسازی ژن‌های متالوبتالاکتامازی *Pseudomonas aeruginosa*، ۴۴ نمونه‌ی مقاوم به ایمی‌پنم را بررسی کردند که در ۳۳ نمونه، آزمایش DDST مثبت بود (۱۰).

همچنین، در تحقیق دیگری که برای جداسازی ژن متالوبتالاکتاماز bla_{VIM} بر روی بیماران بستری در بیمارستان سوانح سوختگی انجام شد، از بین ۴۱ نمونه‌ی مقاوم به ایمی‌پنم، ۳۴ نمونه DDST مثبت داشتند (۱۱).

در مطالعه‌ی شاهچراغی و همکاران، از ۲۸ سویه‌ی مقاوم به ایمی‌پنم، ۲۲ سویه به روش DDST، متالوبتالاکتاماز مثبت بودند که از این میان، ۱۵ سویه به روش PCR حاوی ژن bla_{VIM1} بودند (۴).

در تحقیق دیگری که شاهچراغی و همکاران در بیمارستان‌های کرمان انجام دادند، هیچ سویه‌ی متالوبتالاکتاماز مثبتی مشاهده نکردند و روش DDST نیز تأیید کننده‌ی روش PCR بوده است (۱۵).

تأیید کننده‌ی دو روش فنوتیپی DDST و Combine disk بود. مشابه این نتیجه را شاهچراغی و همکاران در تحقیقی در کرمان گزارش نمودند؛ به طوری که هیچ سویه‌ی متالوبتالاکتاماز مثبتی مشاهده نکردند (۴). در مطالعه‌ی دیگری که فاضلی و همکاران انجام دادند، با استفاده از PCR وجود ژن bla_{VIM} را بررسی کردند که ۴۳ درصد از سویه‌ها حاوی ژن bla_{VIM} بودند و سازگاری حدود ۹۰ درصد رانشان دادند (۱۱).

تشکر و قدردانی

از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد که در انجام مراحل عملی این تحقیق همکاری نمودند، تشکر می‌گردد.

در این بررسی، از ۸ نمونه‌ی مقاوم به ایمی‌پنم که آزمایش Combine disk در مورد آن‌ها انجام گرفت، نتیجه‌ی هر ۸ مورد منفی بود. نتایج آزمون PCR بیانگر عدم وجود ژن مقاومت در ایزوله‌ها و وجود مقاومت در روش دیسک دیفیوژن بود. با توجه به نتایج آزمون PCR، به این نکته می‌توان اشاره نمود که وجود مقاومت می‌تواند ناشی از سایر آنزیم‌های تولید شده توسط باکتری و بروز پدیده‌ی مقاومت در آن باشد. در مطالعه‌ی فاضلی و همکاران، از ۴۱ سویه‌ی مقاوم به ایمی‌پنم، در ۳۳ سویه نتیجه‌ی آزمون Combine disk مثبت بود (۱۱).

برای ریدیابی ژن‌های bla_{IMP1}، bla_{IMP2}، bla_{SPM1}، bla_{VIM1} و bla_{VIM2} از تکنیک Multiplex PCR استفاده شد. در این مطالعه، نتیجه‌ی تکنیک PCR

References

1. Essa EA, Afifi IK. Multiplex PCR study of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* for genes of metallo-beta-lactamases: could such enzymes bring us to end of antibiotics? *Egyptian J Med Microbiol.* 2007;16(1): 189-200.
2. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Jawetz, Melnick, and Adelberg's medical microbiology.* 23th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2004. p. 407-10.
3. Norouzi J. *Practical methods in identification of bacteria.* 2nd ed. Tehran, Iran: Hayyan Publication; 2004. p. 156-62. [In Persian].
4. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Shooraj F, Shafiei M. Investigation of bla_{IMP-1}, bla_{VIM-1} and bla_{SPM-1} MBL Genes among Clinical Strains of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Imam Khomeini Hospital, Tehran, Iran. *Pejouhandeh* 2009; 14(2): 67-72. [In Persian].
5. Taghvaei R, Shojapour M, Sadeghi A, Pourbabaie AA. The study of antibiotic resistance pattern and the frequency of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from medical centers in Arak City, Iran. *Qom Univ Med Sci J* 2013; 7(4): 36-41. [In Persian].
6. Franco MR, Caiiffa-Filho HH, Burattini MN, Rossi F. Metallo-beta-lactamases among imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian university hospital. *Clinics (Sao Paulo)* 2010; 65(9): 825-9.
7. Essa EA, Afifi IK. Multiplex PCR study of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* for genes of metallo-beta-lactamases: could such enzymes bring us to end of antibiotics? *Egyptian J Med Microbiol.* 2007;16(1): 189-200.
8. Makedou KG, Tsiakiri EP, Bisiklis AG, Chatzidimitriou M, Halvantzis AA, Ntoutsou K, et al. Changes in antibiotic resistance of the most common Gram-negative bacteria isolated in intensive care units. *J Hosp Infect* 2005; 60(3): 245-8.
9. Movahedi Z, Pourakbari B, Mahmoudi S, Sabouni F, Ashtiani Haghi MT, Hosseinpour Sadeghi R, et al. *Pseudomonas aeruginosa* infection among cystic fibrosis and ICU patients in the referral children medical hospital in Tehran, Iran. *J Prev Med Hyg* 2013; 54(1): 24-8.
10. Doosti M, Ramazani A, Faghihi M. Isolation and assessment of phenotypic and genotypic characteristics of metallo-beta-lactamase genes in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical samples at Vali-e-Asr Hospital in

- Zanjan province. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci* 2013; 18(2): 97-105. [In Persian].
11. Fazeli H, Moslehi TZ, Irajian GR, Salehi MR. Determination of drug resistance patterns and detection of bla-VIM gene in *Pseudomonas aeruginosa* strains Isolated from burned patients in the Emam Mosa Kazem hospital, Esfahan, Iran (2008-9). *Iran J Med Microbiol* 2009; 3(4): 1-8. [In Persian].
 12. Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(Suppl 4): 17-32.
 13. Luzzaro F, Endimiani A, Docquier JD, Mugnaioli C, Bonsignori M, Amicosante G, et al. Prevalence and characterization of metallo-beta-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 48(2): 131-5.
 14. Mihani F, Khosravi A. Separation of *Pseudomonas aeruginosa* species producing of metallobetalactamase from patients infected to burned infections and identification of bla_{IMP}, bla_{VIM} With PCR method. *Iran J Med Microbiol* 1997; 1(1): 23-32. [In Persian].
 15. Shakibaie MR, Shahcheraghi F, Hashemi A, Adeli S. Detection of TEM SHV and PER ESBL genes among clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burnt patients at Shafa hospital Kerman, Iran. *Iran J Basic Med Sci* 2008; 11(2): 104-11.

Detecting Metallo-Beta-Lactamase (MBL) Genes of blaSPM1, blaIMP1, blaIMP2, blaVIM 1, and blaVIM in Isolated Pseudomonas aeruginosa from Clinical Samples and its Antibiotic Resistance

Mahdi Rouhi-Biroon MSc¹, Kumarss Amini PhD², Mahdi Parviz PhD³

Original Article

Abstract

Background: Pseudomonas aeruginosa is one of the important factors for nosocomial infections, particularly in patients with impaired immune systems and children. Carbapenems resistance, due to the presence of metallo-beta-lactamase (MBL) genes encoding enzymes, is considered as a serious threat. This study aimed to detect metallo-beta-lactamase genes encoding enzymes in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from non-hospitalized patients and to assess its antibiotic resistance.

Methods: Fifty strains of Pseudomonas aeruginosa were isolated and antibiogram test was investigated with 7 different antibiotics. For 8 imipenem-resistant strains, phenotypic testing was performed via double disk synergy test (DDST) and combine disk methods. Finally, to confirm phenotypic methods, multiplex polymerase chain reaction (PCR) test was performed for detection of target genes.

Findings: According to the results of the antibiogram test, 16% of the samples were resistant to imipenem and 8% to meropenem or ceftizoxime. DDST and Combine disk methods did not found any beta-lactamase positive strain. Results of phenotypic methods were confirmed via multiplex PCR and no metallo-beta-lactamase specimen was identified.

Conclusion: According to the study, meropenem and ceftizoxime are good alternative medicines for imipenem. As appropriate phenotypic and molecular methods showed, the metallo-beta-lactamase genes were not prevalent in non-hospitalized patients.

Keywords: Metallo-beta-lactamase, Multiplex polymerase chain reaction (PCR), Pseudomonas aeruginosa

Citation: Rouhi-Biroon M, Amini K, Parviz M. Detecting Metallo-Beta-Lactamase (MBL) Genes of blaSPM1, blaIMP1, blaIMP2, blaVIM 1, and blaVIM in Isolated Pseudomonas aeruginosa from Clinical Samples and its Antibiotic Resistance. J Isfahan Med Sch 2015; 33(343): 1137-46

1- Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

2- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

3- Instructor, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Corresponding Author: Kumarss Amini PhD, Email: kamini@iau-saveh.ac.ir

بررسی ویژگی‌های اپیدمیولوژیک، دموگرافیک و یافته‌های کلینیکی و پاراکلینیکی بیماران مبتلا به بیماری انسفالومیلیت حاد منتشر (ADEM) بستری شده در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان طی یک دوره‌ی ده ساله (۱۳۹۲-۱۳۸۲)

دکتر مسعود اعتمادی^۱، فرزانه کدخدایی^۲، دکتر محمدرضا نجفی^۱

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: انسفالومیلیت حاد منتشر (ADEM یا Acute disseminated encephalomyelitis) یک بیماری منوفازیک با پیش‌آگهی به طور معمول خوب و یکی از تشخیص‌های افتراقی مولتیپل اسکلروزیس (MS یا Multiple sclerosis) می‌باشد. از آن جایی که بیماری MS سیر پیش‌رونده و عودکننده دارد، افتراق ADEM از MS، از اهمیت بالایی برخوردار است.

روش‌ها: این مطالعه، یک مطالعه‌ی مقطعی بود که در سال ۱۳۹۳ در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان انجام شد. با مراجعه‌ی پژوهشگر به واحد مدارک پزشکی، پرونده‌های بیماران ADEM در سال‌های ۹۲-۱۳۸۲ از نظر اطلاعات دموگرافیک، اپیدمیولوژیک، بالینی و پاراکلینیکی بررسی شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری χ^2 و t مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: ۴۲ بیمار با متوسط سنی $10/04 \pm 20/05$ سال که اغلب (۶۴/۳ درصد) آن‌ها زن بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. ۷۸/۶ درصد سابقه‌ی بیماری عفونی اخیر داشتند. الگوی فصلی بیماری در مجموع ۶۲ درصد در بهار و پاییز بود. در آنالیز CSF (Cerebrospinal fluid)، به ترتیب ۶۱/۹ و ۵۹/۶ درصد، دارای پلئوسیتوز و افزایش سطح پروتئین بودند. در MRI (Magnetic resonance imaging) اولیه، بیشترین ضایعات در پری و نتریکولار (۷۶/۲ درصد) بود. MRI مجدد در ۲۵ بیمار انجام شد که در ۷۲ درصد بهبودی کامل ضایعات دیده شد. بهبودی کامل و عود، به ترتیب در ۶۶/۷ درصد و ۲۳/۸ درصد از بیماران مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: در بعضی نتایج اپیدمیولوژیک و تصویربرداری این مطالعه، با سایر مطالعات اختلاف وجود داشت. در واقع، انجام مطالعات بیشتر در زمینه‌ی تشخیص بیماری ADEM ضروری به نظر می‌شود.

واژگان کلیدی: انسفالومیلیت حاد منتشر، مولتیپل اسکلروزیس، تشخیص افتراقی

ارجاع: اعتمادی فر مسعود، کدخدایی فرزانه، نجفی محمدرضا. بررسی ویژگی‌های اپیدمیولوژیک، دموگرافیک و یافته‌های کلینیکی و پاراکلینیکی بیماران مبتلا به بیماری انسفالومیلیت حاد منتشر (ADEM). مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۴۳): ۱۱۵۶-۱۱۴۷

و التهابی تقسیم می‌شوند (۱). از طرف دیگر، اختلالات CNS اغلب با دمیلینه شدن و التهاب همراه هستند و زمانی که پدیده‌ی دمیلینه شدن منتشر، تنها یک اپی‌زود داشته باشد، از واژه‌ی انسفالومیلیت حاد

مقدمه

تشخیص‌های افتراقی بیماری‌های ماده‌ی سفید CNS (Central nervous system) بسیار وسیع هستند و به طور کلی، به چهار دسته‌ی عروقی، متابولیک، عفونی

۱- استاد، گروه داخلی اعصاب، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

Email: farzanehmedical@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤول: فرزانه کدخدایی

تلفنی از بیمار و یا همراهانش خواسته شد در صورتی که بعد از ۶ ماه از اولین اپی زود بیماری، MRI مجدد انجام داده‌اند، گزارش MRI یا کلیشه‌های آن را در اختیار پژوهشگر قرار دهند.

داده‌های مطالعه بعد از ورود به رایانه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون‌های آماری χ^2 و t مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

شرکت کنندگان در این مطالعه، ۴۲ بیمار بودند که با تشخیص ADEM طی سال‌های ۹۲-۱۳۸۲ در بیمارستان الزهرا (س) تحت درمان قرار گرفته بودند. میانگین سن بیماران $10/04 \pm 20/05$ سال با دامنه‌ی ۱-۴۱ سال بود. ۱۵ نفر (۳۵/۷ درصد) از بیماران مورد مطالعه مرد و ۲۷ نفر (۶۴/۳ درصد) زن بودند. میانگین سن مردان و زنان به ترتیب $12/1 \pm 21/9$ و $8/7 \pm 19/0$ سال بود و طبق آزمون t، میانگین سن مردان و زنان اختلاف معنی‌دار نداشت ($P = 0/370$). در جدول ۱، توزیع فراوانی مشخصات اپیدمیولوژیک و دموگرافیک بیماران آمده است. بر حسب این جدول، بیشتر بیماران (۳۸/۱ درصد) در گروه سنی ۲۰-۲۹ سال بودند، بیشتر آن‌ها زن (۶۴/۳ درصد) و بیشترین بروز بیماری، در فصل‌های بهار و پاییز (در مجموع ۶۲ درصد) بود. ۷۸/۶ درصد بیماران دارای سابقه‌ی بیماری عفونی اخیر (۲۵ نفر سرما خوردگی، ۳ نفر آبله مرغان، ۳ نفر گاستروآنتریت، ۱ نفر بروسلا و ۱ نفر پنومونی) بودند؛ اما سابقه‌ی فامیلی بیماری MS و ADEM در آن‌ها اندک بود (فقط ۱ مورد MS).

بین‌المللی MS (۱۸)، داشتن پرونده‌ی پزشکی در بیمارستان و امکان دسترسی به بیمار در صورت نیاز جهت تکمیل اطلاعات بود. همچنین، مقرر گردید موارد عدم دسترسی به بیمار یا خانواده‌ی وی، جهت تکمیل اطلاعات، از مطالعه خارج گردند.

روش نمونه‌گیری در این مطالعه، به شیوه‌ی سرشماری بود و طی آن، تمامی موارد شناخته شده‌ی مبتلا به ADEM طی سال‌های ۹۲-۱۳۸۲ مورد بررسی قرار گرفتند.

روش کار بدین صورت بود که با مراجعه‌ی پژوهشگر به واحد مدارک پزشکی بیمارستان، ابتدا لیست بیمارانی که در بازه‌ی زمانی پیش‌گفته با تشخیص ADEM در این مرکز بستری شده بودند، از نرم‌افزار HIS (Hospital information system) استخراج شد و با بررسی پرونده‌های آن‌ها در واحد مدارک پزشکی، اطلاعات دموگرافیک، اپیدمیولوژیک و علایم بالینی و دیگر اطلاعات مورد نیاز استخراج و در فرم جمع‌آوری اطلاعات ثبت گردید.

همچنین، با بررسی شرح حال بیمار، سابقه‌ی واکسیناسیون و بیماری عفونی، چند هفته قبل از بروز علایم عصبی بیماری ADEM و نیز سابقه‌ی فامیلی مثبت بیماری MS و ADEM در بین اعضای فامیل درجه‌ی یک، دو و سه بیمار پرداخته شد. همچنین، فصل بروز بیماری و نحوه‌ی کنترل و درمان بیماری نیز از پرونده‌ی بیمار استخراج و در فرم مورد نظر ثبت گردید.

در یافته‌های کلینیکی، وجود تظاهرات بالینی و علایم عصبی بررسی و ثبت گردید. در نهایت، پژوهشگر به بررسی نتایج حاصل از MRI مجدد بیماران پرداخت؛ بدین صورت که در طی تماس

۲۶ بیمار (۶۱/۹ درصد) دارای سطح سلول بالا در آنالیز CSF (Cerebrospinal fluid) بودند.

علائم عصبی در بیماران تحت مطالعه بدین صورت بود: در اولین اپی‌زود بیماری در ۳۸ بیمار (۹۰ درصد)، بروز هم‌زمان چندین علائم عصبی (Polysymptomatic) دیده شد. علائم پیرامیدال در ۱۸ نفر (۴۲/۸ درصد) (شامل ۱۵ نفر (۳۵/۷ درصد) پارزی و ۳ نفر (۷/۱ درصد) پلژی)، نوروپاتی اعصاب کranial در ۱۴ نفر از بیماران (۲۶/۲ درصد) (شامل ۳ نفر فلج عصب زوج ۷ و ۱۱ نفر دو بینی) و نوریت اپتیک دو طرفه‌ی عصب بینایی (بدون درگیری یک طرفه) در ۱۱ نفر از بیماران (۶۲/۲ درصد) دیده شد. اختلالات حسی در ۴ نفر (۹/۵ درصد)، سرگیجه‌ی واقعی در ۱۱ نفر (۲۶/۲ درصد)، آتاکسی و علائم مخچه‌ای به ترتیب در ۲۲ نفر (۵۲/۴ درصد) و ۷ نفر (۱۶/۷ درصد) (شامل ۲ نفر (۴/۸ درصد) نیستگموس و ۵ نفر (۱۱/۹ درصد) دیزآرتری)، تشنج در ۷ بیمار (۱۶/۷ درصد) و بی‌اختیاری ادرار در ۴ بیمار (۹/۵ درصد) ثبت شد.

جدول ۲. توزیع فراوانی محل ضایعه در

MRI (Magnetic resonance imaging) اولیه

تعداد (درصد)	محل ضایعه
۳۲ (۷۶/۲)	پری‌ونتری‌کولار
۲۰ (۴۷/۶)	ساقه‌ی مغز
۱۹ (۴۵/۲)	ژوکتا کورتیکال
۵ (۱۱/۹)	مخچه
۳ (۷/۱)	گانگلیون قاعده‌ای
۳ (۷/۱)	طناب نخاعی

MRI: Magnetic resonance imaging

یافته‌های حاصل از MRI اولیه‌ی بیماران در جدول ۲ آمده است. سپس در طی دوره‌ی پی‌گیری

سابقه‌ی واکسیناسیون اخیر در ۴ بیمار (۹/۵ درصد) وجود داشت (واکسن سرخک در ۱ نفر، واکسن مننژیت در ۲ نفر و DPT یا Diphtheria, pertussis, tetanus در ۱ نفر).

جدول ۱. توزیع فراوانی ویژگی‌های دموگرافیک و اپیدمیولوژیک

بیماران مبتلا به Acute disseminated encephalomyelitis (ADEM)

متغیر	سطح متغیر	تعداد (درصد)
گروه سنی	کمتر از ۱۰ سال	۸ (۱۹/۰)
	۱۰-۱۹ سال	۱۰ (۲۳/۹)
	۲۰-۲۹ سال	۱۶ (۳۸/۱)
جنس	۳۰ سال و بیشتر	۸ (۱۹/۰)
	مرد	۱۵ (۳۵/۷)
فصل ایجاد بیماری	زن	۲۷ (۶۴/۳)
	بهار	۱۳ (۳۱/۰)
	تابستان	۶ (۱۴/۳)
سابقه‌ی بیماری عفونی	پاییز	۱۳ (۳۱/۰)
	زمستان	۱۰ (۲۳/۷)
سابقه‌ی واکسیناسیون اخیر	ندارد	۹ (۲۱/۴)
	دارد	۳۳ (۷۸/۶)
سابقه‌ی فامیلی MS	ندارد	۳۸ (۹۰/۵)
	دارد	۴ (۹/۵)
سابقه‌ی فامیلی ADEM	ندارد	۴۱ (۹۷/۶)
	دارد	۱ (۲/۴)
	ندارد	۴۸ (۱۰۰)
	دارد	۰ (۰)

ADEM: Acute disseminated encephalomyelitis

MS: Multiple sclerosis

می‌انگین شش‌اخص ESR

(erythrocyte sedimentation rate) در بیماران مورد

مطالعه، $17/07 \pm 17/33$ بود و بر حسب سطح طبیعی، در ۲۰ بیمار (۴۷/۶ درصد) سطح ESR طبیعی و در ۲۲ نفر (۵۲/۴ درصد) بالا بود. همچنین، ۲۵ بیمار (۵۹/۶ درصد) دارای پروتئین بالا و

۵۱ سال (گروه مورد مطالعه: بزرگسالان)، در مطالعه‌ی Lin و همکاران (۲۰) میانگین سنی ۳۲/۸ سال (دامنه‌ی سنی ۹۰-۴ سال)، در مطالعه‌ی Anlar و همکاران (۲۱) میانگین سنی ۸ سال (گروه مورد مطالعه: اطفال)، در مطالعه‌ی Dale و همکاران (۳) محدودده‌ی سنی ۴-۱۸ سال و در مطالعه‌ی Tenenbaum و همکاران (۵) دامنه‌ی سنی ۱۶-۰/۴ سال بود. این تفاوت میان مطالعه‌ی حاضر و سایر مطالعات، حاکی از این مسأله می‌باشد که دامنه‌ی سنی نمونه‌ها در هر مطالعه متفاوت بوده است و در مقایسه با مطالعه‌ی Lin و همکاران (۲۰) که شامل همه‌ی گروه‌های سنی است، نتایج مشابه حاصل شده است.

حدود دو سوم (۶۴/۳ درصد) بیماران در این مطالعه زن بودند. در حالی که در سایر مطالعات، وقوع بیماری در بین دو جنس تفاوت چشمگیری نداشت و در مطالعات جدیدتر، تنها مختصری در مردان بیشتر بوده است (۲۳-۲۲، ۸، ۵، ۳).

از نظر فصل بروز، ۶۲ درصد موارد در دو فصل بهار و پاییز رخ داده بود. در صورتی که در سایر مطالعات، بیشترین بروز بیماری در فصل‌های بهار و زمستان بود (۴-۳). بیماری ADEM، به طور معمول بعد از یک عفونت ویروسی یا سابقه‌ی واکسیناسیون اخیر به وقوع می‌پیوندد (۲۸-۲۴).

در این مطالعه، ۷۸/۶ درصد از بیماران دارای سابقه‌ی اخیر یک بیماری عفونی بودند. در سایر مطالعات، ۴۶-۱۰۰ درصد بیماران دارای سابقه‌ی بیماری عفونی اخیر بودند (۲۸-۲۵، ۷). در واقع، نتایج مشابهی با سایر مطالعات داشته است. ۹/۵ درصد بیماران دارای سابقه‌ی اخیر واکسیناسیون بودند که در سایر مطالعات، کمتر از ۵ درصد موارد بوده است (۲۸-۲۴).

بیماران، از ۲۵ نفر MRI مجدد گرفته شد. در ۱۸ نفر از بیماران (۷۲ درصد)، نتایج MRI طبیعی بود و در ۷ نفر (۲۸ درصد) تعداد و اندازه‌ی ضایعات کاهش یافته بود؛ اما ضایعه‌ی جدیدی ایجاد نشده بود.

همه‌ی بیماران تحت درمان با استروئید به صورت پالس کورتن و سپس پردنیزولون خوراکی قرار گرفتند. علاوه بر درمان با استروئید ۷ نفر (۱۶/۷ درصد) و ۱ نفر (۲/۴ درصد) به ترتیب تحت درمان با پلاسمافرز و IVIG (Intravenous immunoglobulin) نیز قرار گرفتند.

بعد از تکمیل دوره‌ی درمان، ۲۸ نفر از بیماران (۶۶/۷ درصد) بهبودی کامل کسب کردند و در ۱۴ نفر (۳۳/۳ درصد) بهبودی همراه با عارضه دیده شد (۱ نفر کاهش حدت بینایی، ۸ نفر آتاکسی خفیف، یک نفر دیزآرتری، ۱ نفر همی‌پارزی، ۱ نفر پاراپارزی و ۲ نفر فراموشی خفیف).

بعد از سه ماه از اولین اپیزود بیماری و یا بعد از یک ماه از تکمیل درمان، در ۱۰ نفر از بیماران (۲۳/۸ درصد) بیماری عود کرد.

بحث

هدف از انجام این مطالعه، تعیین ویژگی‌های اپیدمیولوژیک و دموگرافیک بیماران مبتلا به ADEM بود. در این مطالعه، ۴۲ بیمار که با تشخیص این بیماری در سال‌های ۹۲-۱۳۸۲ در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان بستری شده بودند، بررسی شدند.

بررسی ویژگی‌های دموگرافیک بیماران مورد مطالعه، نشان داد اکثریت بیماران (۶۲ درصد) در دامنه‌ی سنی ۱۰-۲۹ سال قرار داشتند. در مطالعه‌ی Marchioni و همکاران (۱۹)، میانگین سنی بیماران

طرفه دیده نشد. در حالی که نوریت اپتیک یک طرفه، در بیماران مبتلا به MS در مقایسه با بیماران مبتلا به ADEM بیشتر دیده می‌شود (۳۹-۳۵).

نتایج حاصل از سایر مطالعات که بر اساس معیار جدید ADEM نبودند حاکی از وجود علائم پیرامیدال در ۹۰-۶۰ درصد، فلج اعصاب کرانیال در ۸۹-۲۲، همی‌پارزی در ۷۹-۷۶، آتاکسی در ۶۵-۱۸، هیپوتونی در ۴۷-۳۴، تشنج در ۴۷-۱۰، کاهش بینایی به علت نوریت اپتیک در ۲۳-۷، اختلال در گفتار در ۲۱-۵ درصد موارد بود (۳۹، ۳۰، ۲۴، ۲۱، ۷-۵، ۳).

MRI نقش مهمی در افتراق میان بیماری ADEM از سایر بیماری‌های التهابی CNS دارد. ضایعات ماده سفید Periaqueductal، کورپوس کالوزوم و پری‌ونتریکولار، از مشخصات بیماری MS می‌باشد. در صورتی که ضایعات ADEM تمایل به درگیری ماده سفید عمقی (Deep white matter) و ساب‌کورتیکال دارد.

طبق نتایج حاصل از سایر مطالعات، درگیری ماده سفید عمقی در ۱۰۰-۴۲ درصد موارد و درگیری پری‌ونتریکولار در ۶۰-۲۹ درصد گزارش شده است (۴۲-۴۰، ۲۳-۲۱، ۴-۳). البتّه Visudtibhan و همکاران در ۷۵ درصد بیماران، ضایعات پری‌ونتریکولار و در حدود ۱۹ درصد ضایعه‌ی ژوکستاکورتیکال مشاهده کردند (۲۳). در این مطالعه، درگیری ساقه‌ی مغز (۴۷/۶ درصد)، ژوکستاکورتیکال (۴۵/۲ درصد) و مخچه (۱۱/۹ درصد) بعد از درگیری پری‌ونتریکولار از بیشترین فراوانی برخوردار بودند. در سایر مطالعات، ضایعات ساقه‌ی مغز، ژوکستاکورتیکال و مخچه به ترتیب ۷۰-۴۲، ۹۰-۱۹ و ۷۰-۱۳ درصد موارد بودند (۴۲-۴۰، ۲۳، ۲۱، ۴-۳).

در آنالیز CSF، ۵۹/۶ و ۶۱/۹ درصد از بیماران به ترتیب افزایش سطح پروتئین و پلئوسیتوز داشتند و در سایر مطالعات، در ۸۱-۲۳ درصد بیماران پلئوسیتوز گزارش شده است (۲۹، ۲۴، ۲۰، ۱۱، ۵، ۳). در مطالعه‌ی Dale و Branson، در ۶۰ درصد بیماران، افزایش پروتئین در آنالیز مایع CSF دیده شد (۱۳).

در بیماران مبتلا به ADEM، به طور معمول، افزایش در نشانگرهای التهابی (ESR) دیده می‌شود (۶، ۴-۳). در این مطالعه، ۵۲/۴ درصد بیماران ESR بالاتر از حد طبیعی داشتند. با مقایسه‌ی نتایج این مطالعه و سایر مطالعات، به طور تقریبی، نتایج مشابهی در مورد آنالیز CSF و ESR حاصل گردید.

در مطالعات گذشته، در ۷۴-۲۱ درصد از بیماران مبتلا به ADEM، انسفالوپاتی گزارش شده بود (۳۳-۳۰، ۲۴-۲۱، ۸-۳)، اما امروزه، بر اساس معیارهای جدید برای ADEM، احتمال می‌رود که ۱۰۰ درصد بیماران انسفالوپاتی داشته باشند.

بر این اساس، در مطالعه‌ی Mikaeloff و همکاران، علائم عصبی بدین صورت بود که در ۷۹ درصد بیماران Long tract dysfunction، در ۴۸ درصد اختلال در ساقه‌ی مغز، در ۳۲ درصد تشنج و در ۶ درصد نوریت اپتیک مشاهده شد (۲۲). در مطالعه‌ی Pavone و همکاران، آتاکسی در ۴۷ درصد، هیپوتونی در ۴۱ درصد، تشنج در ۲۹ درصد، همی‌پارزی در ۲۳ درصد و فلج اعصاب کرانیال در ۱۸ درصد گزارش گردید (۳۴).

در این مطالعه، به ترتیب آتاکسی (۵۲/۷ درصد)، پارزی (۳۵/۷ درصد)، درگیری اعصاب کرانیال و نوریت اپتیک دو طرفه (۲۶/۲ درصد) بیشترین فراوانی را داشتند. شواهدی به نفع نوریت اپتیک یک

تصویربرداری در ۴۲ بیمار مبتلا به ADEM در طی یک دوره ۱۰ ساله در استان اصفهان پرداخته شد. در این بیماری، الگوی فصلی با اکثریت زنان دیده شد. افزایش در نشانگرهای التهابی خون، افزایش سلول و پروتئین در آنالیز مایع CSF نیز دیده شد. بر خلاف سایر مطالعات، اکثر بیماران در این مطالعه، ضایعات پری و نتریکولار داشتند. مطالعات آینده با تحقیقات بیشتر می‌تواند به پزشکان برای تشخیص بهتر و دقیق‌تر کمک کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای فرزانه کدخدایی به شماره‌ی ۳۹۲۲۱۲ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. پژوهشگران از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جهت تأمین اعتبار اجرای این طرح و تمامی پزشکان مرکز آموزشی درمانی الزهرا (س) و کارکنان مرکز بایگانی این بیمارستان که در انجام این تحقیق همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌نمایند.

از میان ۴۲ نفر از بیماران در طی دوره‌ی پی‌گیری بیماری، ۲۵ نفر تحت انجام MRI مجدد قرار گرفتند. اکثر بیماران (۷۲ درصد) بهبودی کامل در نتایج MRI داشتند و در ۲۸ درصد اندازه‌ی ضایعات در مناطق قبلی کاهش یافته، اما به طور کامل بهبود نیافته بود. نتایج سایر مطالعات نیز نشان دهنده‌ی این بود که اکثر ضایعات در MRI مجدد به طور کامل (۲۷-۵۵ درصد) و یا به نسبت (۴۵-۶۴ درصد) برطرف گردید و ضایعه‌ی جدید (۹-۰ درصد) در سایر مناطق ایجاد نشد یا به ندرت ایجاد گردید (۴۴-۴۳، ۱۴).

با توجه به مطالعات قبلی، بیشتر بیماران مبتلا به ADEM (۵۷-۸۱ درصد) بدون هیچ عارضه‌ی عصبی به طور کامل بهبود می‌یابند (۴۵، ۲۴، ۲۱، ۶-۳). در این مطالعه نیز نتایج مشابهی (۶۶/۷ درصد) حاصل گردید. موارد عود بیماری در این مطالعه در ۲۳/۸ درصد از بیماران بوده است و مشابه با نتایج سایر مطالعات (۲۸-۹ درصد) بود (۲۴، ۲۱، ۵). به طور خلاصه، در این مطالعه به بررسی ویژگی‌های دموگرافیک، کلینیکی، آزمایشگاهی و

References

1. Tselis AC, Lisak RP. Acute disseminated encephalomyelitis. In: Antel J, Birnbaum G, Hartung HP, editors. Clinical neuroimmunology. Hoboken, NJ: Blackwell Science; 1998. p. 116-46.
2. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 50(1): 121-7.
3. Dale RC, de SC, Chong WK, Cox TC, Harding B, Neville BG. Acute disseminated encephalomyelitis, multiphasic disseminated encephalomyelitis and multiple sclerosis in children. *Brain* 2000; 123 Pt 12: 2407-22.
4. Murthy SN, Faden HS, Cohen ME, Bakshi R. Acute disseminated encephalomyelitis in children. *Pediatrics* 2002; 110(2 Pt 1): e21.
5. Tenenbaum S, Chamoles N, Fejerman N. Acute disseminated encephalomyelitis: a long-term follow-up study of 84 pediatric patients. *Neurology* 2002; 59(8): 1224-31.
6. Hynson JL, Kornberg AJ, Coleman LT, Shield L, Harvey AS, Kean MJ. Clinical and neuroradiologic features of acute disseminated encephalomyelitis in children. *Neurology* 2001; 56(10): 1308-12.
7. Gupte G, Stonehouse M, Wassmer E, Coad NA, Whitehouse WP. Acute disseminated encephalomyelitis: a review of 18 cases in childhood. *J Paediatr Child Health* 2003; 39(5): 336-42.
8. Mikaeloff Y, Suissa S, Vallee L, Lubetzki C,

- Ponsot G, Confavreux C, et al. First episode of acute CNS inflammatory demyelination in childhood: prognostic factors for multiple sclerosis and disability. *J Pediatr* 2004; 144(2): 246-52.
9. Stonehouse M, Gupte G, Wassmer E, Whitehouse WP. Acute disseminated encephalomyelitis: recognition in the hands of general paediatricians. *Arch Dis Child* 2003; 88(2): 122-4.
 10. Hartung HP, Grossman RI. ADEM: distinct disease or part of the MS spectrum? *Neurology* 2001; 56(10): 1257-60.
 11. Schwarz S, Mohr A, Knauth M, Wildemann B, Storch-Hagenlocher B. Acute disseminated encephalomyelitis: a follow-up study of 40 adult patients. *Neurology* 2001; 56(10): 1313-8.
 12. Kepes JJ. Large focal tumor-like demyelinating lesions of the brain: intermediate entity between multiple sclerosis and acute disseminated encephalomyelitis? A study of 31 patients. *Ann Neurol* 1993; 33(1): 18-27.
 13. Dale RC, Branson JA. Acute disseminated encephalomyelitis or multiple sclerosis: can the initial presentation help in establishing a correct diagnosis? *Arch Dis Child* 2005; 90(6): 636-9.
 14. Kesselring J, Miller DH, Robb SA, Kendall BE, Moseley IF, Kingsley D, et al. Acute disseminated encephalomyelitis. MRI findings and the distinction from multiple sclerosis. *Brain* 1990; 113 (Pt 2): 291-302.
 15. Singh S, Prabhakar S, Korah IP, Warade SS, Alexander M. Acute disseminated encephalomyelitis and multiple sclerosis: magnetic resonance imaging differentiation. *Australas Radiol* 2000; 44(4): 404-11.
 16. Mikaeloff Y, Adamsbaum C, Husson B, Vallee L, Ponsot G, Confavreux C, et al. MRI prognostic factors for relapse after acute CNS inflammatory demyelination in childhood. *Brain* 2004; 127(Pt 9): 1942-7.
 17. Paty DW, Oger JJ, Kastrukoff LF, Hashimoto SA, Hooge JP, Eisen AA, et al. MRI in the diagnosis of MS: a prospective study with comparison of clinical evaluation, evoked potentials, oligoclonal banding, and CT. *Neurology* 1988; 38(2): 180-5.
 18. Krupp LB, Banwell B, Tenenbaum S. Consensus definitions proposed for pediatric multiple sclerosis and related disorders. *Neurology* 2007; 68(16 Suppl 2): S7-12.
 19. Marchioni E, Ravaglia S, Piccolo G, Furione M, Zardini E, Franciotta D, et al. Postinfectious inflammatory disorders: subgroups based on prospective follow-up. *Neurology* 2005; 65(7): 1057-65.
 20. Lin CH, Jeng JS, Hsieh ST, Yip PK, Wu RM. Acute disseminated encephalomyelitis: a follow-up study in Taiwan. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007; 78(2): 162-7.
 21. Anlar B, Basaran C, Kose G, Guven A, Haspolat S, Yakut A, et al. Acute disseminated encephalomyelitis in children: outcome and prognosis. *Neuropediatrics* 2003; 34(4): 194-9.
 22. Mikaeloff Y, Caridade G, Husson B, Suissa S, Tardieu M. Acute disseminated encephalomyelitis cohort study: prognostic factors for relapse. *Eur J Paediatr Neurol* 2007; 11(2): 90-5.
 23. Visudtibhan A, Tuntiyathorn L, Vaewpanich J, Sukjit P, Khongkatithum C, Thampratankul L, et al. Acute disseminated encephalomyelitis: a 10-year cohort study in Thai children. *Eur J Paediatr Neurol* 2010; 14(6): 513-8.
 24. Leake JA, Albani S, Kao AS, Senac MO, Billman GF, Nespeca MP, et al. Acute disseminated encephalomyelitis in childhood: epidemiologic, clinical and laboratory features. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23(8): 756-64.
 25. El OF, Hassayoun S, Gaha M, Mhabrech H, Mrad-Dali K, Thili K. Acute disseminated encephalomyelitis following herpes simplex encephalitis. *Acta Neurol Belg* 2010; 110(4): 340-4.
 26. Tullu MS, Patil DP, Muranjan MN, Kher AS, Lahiri KR. Human immunodeficiency virus (HIV) infection in a child presenting as acute disseminated encephalomyelitis. *J Child Neurol* 2011; 26(1): 99-102.
 27. Bomprezzi R, Wildemann B. Acute disseminated encephalomyelitis following vaccination against human papilloma virus. *Neurology* 2010; 74(10): 864-5.
 28. Shoamanesh A, Traboulsee A. Acute disseminated encephalomyelitis following influenza vaccination. *Vaccine* 2011; 29(46): 8182-5.
 29. Baumann M, Sahin K, Lechner C, Hennes EM, Schanda K, Mader S, et al. Clinical and neuroradiological differences of paediatric acute disseminating encephalomyelitis with and without antibodies to the myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015; 86(3): 265-72.
 30. Hung KL, Liao HT, Tsai ML. The spectrum of postinfectious encephalomyelitis. *Brain Dev* 2001; 23(1): 42-5.
 31. Idrissova Z, Boldyreva MN, Dekonenko EP, Malishev NA, Leontyeva IY, Martinenko IN, et al. Acute disseminated encephalomyelitis in children: clinical features and HLA-DR linkage. *Eur J Neurol* 2003; 10(5): 537-46.
 32. Jayakrishnan MP, Krishnakumar P. Clinical profile of acute disseminated encephalomyelitis in children. *J Pediatr Neurosci* 2010; 5(2): 111-4.

33. Simone IL, Carrara D, Tortorella C, Liguori M, Lepore V, Pellegrini F, et al. Course and prognosis in early-onset MS: comparison with adult-onset forms. *Neurology* 2002; 59(12): 1922-8.
34. Pavone P, Pettoello-Mantovano M, Le PA, Giardino I, Pulvirenti A, Giugno R, et al. Acute disseminated encephalomyelitis: a long-term prospective study and meta-analysis. *Neuropediatrics* 2010; 41(6): 246-55.
35. Pittock SJ, Lennon VA, Krecke K, Wingerchuk DM, Lucchinetti CF, Weinshenker BG. Brain abnormalities in neuromyelitis optica. *Arch Neurol* 2006; 63(3): 390-6.
36. Cohen M, Day CP, Day JL. Acute disseminated encephalomyelitis as a complication of treatment with gold. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985; 290(6476): 1179-80.
37. Young NP, Weinshenker BG, Lucchinetti CF. Acute disseminated encephalomyelitis: current understanding and controversies. *Semin Neurol* 2008; 28(1): 84-94.
38. Wingerchuk DM. Diagnosis and treatment of neuromyelitis optica. *Neurologist* 2007; 13(1): 2-11.
39. Weinshenker BG, Wingerchuk DM, Vukusic S, Linbo L, Pittock SJ, Lucchinetti CF, et al. Neuromyelitis optica IgG predicts relapse after longitudinally extensive transverse myelitis. *Ann Neurol* 2006; 59(3): 566-9.
40. Rossi A. Imaging of acute disseminated encephalomyelitis. *Neuroimaging Clin N Am* 2008; 18(1): 149-61.
41. Callen DJ, Shroff MM, Branson HM, Li DK, Lotze T, Stephens D, et al. Role of MRI in the differentiation of ADEM from MS in children. *Neurology* 2009; 72(11): 968-73.
42. Brinar VV, Habek M. Diagnostic imaging in acute disseminated encephalomyelitis. *Expert Rev Neurother* 2010; 10(3): 459-67.
43. O'Riordan JI, Gomez-Anson B, Moseley IF, Miller DH. Long term MRI follow-up of patients with post infectious encephalomyelitis: evidence for a monophasic disease. *J Neurol Sci* 1999; 167(2): 132-6.
44. Ebner F, Millner MM, Justich E. Multiple sclerosis in children: value of serial MR studies to monitor patients. *AJNR Am J Neuroradiol* 1990; 11(5): 1023-7.
45. Marin SE, Callen DJ. The magnetic resonance imaging appearance of monophasic acute disseminated encephalomyelitis: an update post application of the 2007 consensus criteria. *Neuroimaging Clin N Am* 2013; 23(2): 245-66.

The Epidemiologic and Demographic Characteristics and Clinical Findings in Patients with Acute Disseminated Encephalomyelitis (ADEM) Referred to Alzahra Hospital, Isfahan, Iran, During 10 Years (2003-2013)

Masoud Etemadifar MD¹, Farzaneh Kadkhodaei², Mohammadreza Najafi MD¹

Original Article

Abstract

Background: Acute disseminated encephalomyelitis (ADEM) is an uncommon monophasic disease often with good prognosis. It is a differential diagnosis of multiple sclerosis (MS). Accurate distinction between acute disseminated encephalomyelitis and multiple sclerosis is important for prognosis and treatment; as many patients with multiple sclerosis may benefit from early disease-modifying therapy to suppress ongoing and future relapses.

Methods: In a retrograde study, all the patients presented to Alzahra hospital (Isfahan, Iran) with definite diagnosis of acute disseminated encephalomyelitis during a 10-year period were included. Demographic data, clinical signs and symptoms, and laboratory and imaging findings were collected and analyzed using t and chi-square tests via SPSS software.

Findings: Forty-two patients with mean age of 20.05 ± 10.04 years and a female-predominance of 64.3% participated in the study. Thirty-three patients (78.6%) had a recent history of infectious disease. A seasonal pattern of distribution in spring (31%) and autumn (31%) was seen. The cerebrospinal fluid (CSF) analysis findings showed pleocytosis and increased protein in 26 (61.9%) and 25 (59.6%) cases, respectively. First magnetic resonance imaging (MRI) findings revealed that most of the lesions were in the periventricular (83%) and re-imaging in 25 cases showed completely or partially resolution of previous lesions with no new lesion in 18 (72%) and 7 (28%) patients, respectively.

Conclusion: We found some controversies to previous studies in epidemiological and imaging studies which could be of a significant role in detecting and accurate diagnosis of acute disseminated encephalomyelitis which can significantly impact on physicians' view of the disease.

Keywords: Acute disseminated encephalomyelitis (ADEM), Multiple sclerosis (MS), Differential diagnosis

Citation: Etemadifar M, Kadkhodaei F, Najafi M. The Epidemiologic and Demographic Characteristics and Clinical Findings in Patients with Acute Disseminated Encephalomyelitis (ADEM) Referred to Alzahra Hospital, Isfahan, Iran, During 10 Years (2003-2013). J Isfahan Med Sch 2015; 33(343): 1147-56

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

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

Corresponding Author: Farzaneh Kadkhodaei, Email: farzanehmedical@gmail.com

مقایسه‌ی تأثیر ممانتین و سدیم والپروات در پیش‌گیری از میگرن مزمن و دوره‌های

دکتر عباس قربانی^۱، دکتر وحید شایگان‌نژاد^۲، یوسف عارفی^۳، دکتر بهناز انصاری^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: با توجه به شیوع بالای شکست درمان میگرن و مقاومت به داروهای موجود و اثرات جانبی داروها، پیدا کردن درمانی جایگزین برای بیماران مقاوم به درمان یا میگرن مزمن ضروری می‌باشد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی تأثیر ممانتین و سدیم والپروات در مبتلایان به سردرد میگرنی مزمن یا دوره‌های انجام شد.

روش‌ها: طی یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی با طرح متقاطع، ۷۰ بیمار مبتلا به میگرن مزمن و یا دوره‌های، انتخاب شدند و به روش تصادفی‌سازی بلوکی در دو گروه ۳۵ نفره توزیع گردیدند. گروه اول، به مدت ۳ ماه تحت درمان با سدیم والپروات و گروه دوم تحت درمان با ممانتین قرار گرفتند و پس از ۴ هفته Wash-out، درمان دو گروه جابه‌جا شد و به مدت ۳ ماه ادامه یافت. در انتها، اثربخشی داروها بر روی شدت سردرد، تعداد حملات، میزان مصرف مسکن و مدت حملات بررسی و مقایسه شد.

یافته‌ها: بررسی تغییرات ویژگی‌های سردرد در هر دو مرحله، در دو گروه دریافت‌کننده‌ی سدیم والپروات و ممانتین نشان داد که دفعات، شدت و مدت حملات سردرد در هر دو گروه سدیم والپروات و ممانتین، کاهش معنی‌دار داشت؛ اما در دفعات حمله و طول زمان سردرد، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت. کاهش شدت سردرد در گروه‌های ممانتین به طور معنی‌داری، بیشتر از گروه‌های سدیم والپروات بود ($P = 0/021$).

نتیجه‌گیری: هر دو داروی سدیم والپروات و ممانتین در پیش‌گیری از عود حملات میگرن و کاهش دفعات، شدت و مدت سردرد در بیماران مبتلا به میگرن مزمن و دوره‌های مؤثر هستند؛ اما ممانتین به علت عوارض دارویی کمتر، گزینه‌ی مناسب‌تری نسبت به سدیم والپروات می‌باشد.

واژگان کلیدی: میگرن، ممانتین، سدیم والپروات

ارجاع: قربانی عباس، شایگان‌نژاد وحید، عارفی یوسف، انصاری بهناز. بررسی تأثیر ممانتین در مقایسه با سدیم والپروات در پیش‌گیری

از میگرن مزمن و دوره‌های. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۴۳): ۱۱۶۷-۱۱۵۷

مقدمه

میگرن یک وضعیت مزمن ناتوان‌کننده است؛ به طوری که (WHO) World Health Organization، میگرن را نوزدهمین علت ناتوانی و از کارافتادگی در سراسر جهان معرفی کرده است. ناتوانی ناشی از

میگرن، به علت درد و نشانه‌های غیر سردردی مانند تهوع و استفراغ، حساسیت به نور و صدا می‌باشد. میگرن، یک رویداد عودکننده است که کیفیت زندگی را پایین می‌آورد و باعث افزایش هزینه‌های مستقیم پزشکی می‌شود (۱-۳). میگرن، همچنین در بروز یک

- ۱- دانشیار، گروه داخلی اعصاب، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۲- استاد، گروه داخلی اعصاب، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۴- استادیار، گروه داخلی اعصاب، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: yosef.am67@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤول: یوسف عارفی

پروپرانولول، داروهای ضد افسردگی، انتاگونیسم سروتونین مثل مت سرژید، NSAIDs (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs) و آسپرین می‌باشد. داروهای فوق، به مدت ۶ ماه تجویز و پس از کنترل سردرد، به تدریج قطع می‌شوند (۸-۱۱). مصرف خوراکی این داروها، کارایی حدود ۷۰-۵۰ درصد دارد و در سردردهای خفیف به کار می‌رود. در حملات حاد و شدید، از درمان‌های تزریقی مثل عوامل ضد التهابی، آگونیسم ۵-HTI و آنتاگونیسم دوپامین استفاده می‌شود (۱۲-۱۳).

ممانتین، یک آنتاگونیست غیر رقابتی NMDA (N-methyle-D-asparte) است که گیرنده‌ی گلوتامات در مغز می‌باشد. گلوتامات، ممکن است در پاتوژنز میگرن نقش داشته باشد و NMDA یک نوع کانال یونی است که در شرایط طبیعی با اتصال به یون Mg از دیپلاریزاسیون بیش از حد عصب جلوگیری می‌کند. در شرایط پاتولوژیک، این اتصال صورت نمی‌گیرد و عصب، بیش از حد تحریک می‌شود و سبب ایجاد بیماری‌هایی نظیر میگرن می‌گردد. ممانتین، با اتصال به جایگاه Mg در گیرنده، از دیپلاریزاسیون بیش از حد عصب جلوگیری می‌کند (۱۴).

از ممانتین بیشتر در درمان آلزایمر و دمانس استفاده می‌کنند، اما مدتی است که استفاده از آن در پیش‌گیری از میگرن مزمن و دوره‌ای مورد بحث می‌باشد (۱۵).

سدیم والپروات یک داروی ضد تشنج است که اغلب همراه با داروهای دیگر برای درمان انواع مختلف صرع مصرف می‌شود. این دارو، تخلیه‌های الکتریکی را در مغز کاهش می‌دهد (۱۶-۱۸).

از سدیم والپروات در پیش‌گیری از حملات میگرن

سری بیماری‌های بدخیم مانند استروک، انوریسم، از دست دادن بینایی، اغما و حتی مرگ دخالت دارد. در یک مطالعه، ۲۷ درصد استروک در افراد زیر ۴۰ سال در زمینه‌ی میگرن بوده است و ۸۵ درصد افراد مبتلا به میگرن مزمن، دچار افسردگی بوده‌اند (۱).

میگرن، سردرد شدید و غیر قابل تحمل است و در هنگام شروع، به طور معمول، یک طرفه است و طی چند ساعت بر شدت آن افزوده می‌شود و اغلب همراه علائمی مانند ترس از نور و صدا، تهوع و استفراغ می‌باشد. گاهی اوقات، قبل از بروز سردرد، علائمی مانند اختلالات خلقی-روحي و حسی ایجاد می‌شود. این بیماری، یک سندرم حمله‌ای است و حملات مکرر آن، از لحاظ شدت، طول مدت و دفعات حملات، متفاوت هستند. بر طبق آمار، ۲۵ درصد زنان ۴-۵ حمله در ماه، ۳۵ درصد ۳ حمله در ماه و ۴۰ درصد، یک یا کمتر از یک حمله در ماه داشته‌اند. حملات، به طور معمول، صبح‌ها بعد از بیدار شدن از خواب و اغلب آخر هفته اتفاق می‌افتند و هر حمله، چند ساعت تا چند روز طول می‌کشد و بروز آن به طور معمول، ۱-۳ بار در ماه می‌باشد (۴).

هر چند علت اصلی میگرن مشخص نشده است، اما شواهد حاکی از آن است که عوامل عصبی، عروقی و شیمیایی در آن دخیل هستند (۷-۵).

درمان دارویی، شامل درمان حملات حاد و درمان پیشگیرانه است. درمان پیشگیرانه، زمانی کاربرد دارد که حملات مکرر به طور منظم و با فواصل قابل پیش‌بینی صورت می‌گیرد. داروهای مورد استفاده در درمان میگرن دارای طیفی گسترده هستند و اغلب شامل ضد تشنج‌ها مثل سدیم والپروات، بلوک کننده‌های بتا آدرنرژیک مثل اتنولول، متوپرونولول و

نیز استفاده می‌شود. عوارض جانبی سدیم والپروات، نادر است و شامل گیجی، تغییرات خلقی یا رفتاری، تاری دید، حرکت‌های غیر عادی چشم‌ها به عقب و جلو، دوبینی، مشاهده‌ی لکه در میدان بینایی، افزایش دفعات صرع، کبودی یا خونریزی غیر عادی، بی‌اشتهایی، تهوع و استفراغ، درد شکمی شدید، خستگی و ضعف، زردی پوست یا چشم‌ها، اسهال، یبوست، سرگیجه یا خواب‌آلودگی خفیف، سوء هاضمه، سردرد، بی‌قراری، مشکل در به خواب رفتن، ریزش مو، تغییرات دوره‌ی ماهانه، بشورات جلدی، افت مهارت‌های حرکتی بدن و کاهش یا افزایش وزن غیر عادی است (۱۹).

هر چند که مطالعات متعددی در خصوص میزان تأثیر هر کدام از این داروها در پیش‌گیری و درمان میگرن انجام گرفته است، اما مطالعه‌ای که تأثیر این دو دارو را مقایسه کرده باشد، یافت نشد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی تأثیر ممانتین و سدیم والپروات در پیش‌گیری از میگرن مزمن و دوره‌ای به انجام رسید.

روش‌ها

این مطالعه، یک کارآزمایی بالینی از نوع متقاطع بود که در سال ۱۳۹۳ در درمانگاه‌های داخلی اعصاب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به انجام رسید. جامعه‌ی آماری مورد مطالعه، بیماران ۶۵-۱۸ ساله‌ی مبتلا به میگرن مزمن بر اساس معیارهای IHS و تأیید متخصص اعصاب بودند که درمان پیشگیرانه جهت میگرن دریافت نمی‌کردند.

معیارهای ورود به مطالعه، شامل ابتلا به میگرن مزمن بر اساس معیارهای IHS

(International headache society) و تأیید متخصص اعصاب، آگاهی بیمار از نوع بیماری خود، الگو و شدت سردرد در میگرن ثابت شده همراه با تأیید پزشک، دامنه‌ی سنی ۶۵-۱۸ سال، عدم کاربرد درمان‌های دیگر میگرن شامل داروهای گیاهی، طب سوزنی، معاینه‌ی عصبی و عمومی طبیعی و موافقت بیمار برای شرکت در مطالعه بودند. همچنین، حساسیت به ممانتین یا سدیم والپروات، بارداری، اشکال در پیگیری بیمار به عللی مثل فوت و مهاجرت، دریافت هم‌زمان درمان‌های دارویی و غیر دارویی و کشف یافته‌ی غیر طبیعی در بیمار در طی مدت مطالعه، به عنوان معیارهای خروج از مطالعه در نظر گرفته شدند.

حجم نمونه‌ی مورد نیاز مطالعه، با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مقایسه‌ی دو نسبت و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، توان آزمون ۸۰، شیوع بهبودی در بیماران تحت درمان با ممانتین که به علت نبود مطالعه مشابه داخلی به میزان ۰/۵ در نظر گرفته شد و حداقل تفاوت معنی‌دار بین دو گروه که به میزان ۰/۳۵ در نظر گرفته شد، به تعداد ۳۲ نفر در هر گروه برآورد گردید که جهت اطمینان بیشتر، ۳۵ بیمار در هر گروه وارد مطالعه شدند. روش نمونه‌گیری به صورت تصادفی بود و بیماران به روش تصادفی‌سازی بلوکی و به ترتیب ورود به بخش در دو گروه A و B توزیع شدند تا حجم نمونه به تعداد مورد نیاز رسید.

بیماران گروه A، در مرحله‌ی اول به مدت ۳ ماه تحت درمان با سدیم والپروات با دوز ۲۰۰ mg دو بار در روز و گروه B ممانتین با دوز ۱۰ mg روزانه (گروه B) دریافت کردند و پس از اتمام درمان، به

شدند. در جدول ۱، توزیع متغیرهای دموگرافیک و نوع میگرن در دو گروه آمده است. بر حسب آزمون t ، میانگین سن دو گروه و بر حسب آزمون χ^2 ، توزیع جنس و نوع میگرن در دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت.

در جدول ۲، میانگین و انحراف معیار تعداد حملات سردرد، شدت سردرد و طول مدت سردرد در دو گروه مورد مطالعه آمده است. ملاحظه می‌شود که در مرحله‌ی اول مطالعه، تعداد حملات سردرد، شدت سردرد و طول مدت سردرد در هر دو گروه به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد، اما اختلاف معنی‌داری بین دو گروه هم در قبل و هم در بعد درمان مشاهده نشد و در هر دو گروه دریافت‌کننده‌ی سدیم والپروات و ممانتین، به طور مشابه کاهش پیدا کرده بود. از طرف دیگر، بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA، روند تغییرات دفعات سردرد ($P = 0/730$)، شدت سردرد ($P = 0/230$) و طول زمان سردرد ($P = 0/450$) بین دو گروه متفاوت نبود.

در مرحله‌ی دوم طرح، دفعات، شدت و مدت سردرد در هر دو گروه کاهش یافته بود.

مدت ۴ هفته در شرایط Whash out قرار گرفتند که در این مدت هیچ درمان پروفیلاکسی دریافت نکردند. بعد، روش درمان در دو گروه تعویض شد و بیماران گروه A ممانتین و بیماران گروه B سدیم والپروات به مدت ۳ ماه دریافت کردند و در انتها، اثربخشی داروها بر روی شدت و مدت سردرد، تعداد حملات سردرد، میزان مصرف مسکن در دو گروه و تغییرات دو اسکور MIDAS (Migraine disability assessment score) و HIT-6 (Headache impact test) در دو گروه مورد مقایسه قرار گرفت.

داده‌های مطالعه، بعد از جمع‌آوری به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ و استفاده از آزمون‌های t ، χ^2 و Repeated measures ANOVA (Repeated measures analysis of variance) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

۷۰ بیمار مبتلا به میگرن مزمن به روش تصادفی در دو گروه ۳۵ نفره مورد مطالعه قرار گرفتند که در طی مدت درمان، ۱ نفر از گروه A و یک نفر از گروه B به علت عدم تکمیل دوره‌ی درمان از مطالعه خارج

جدول ۱. توزیع سن و جنس و نوع میگرن در دو گروه مورد مطالعه

متغیر	گروه	A	B	مقدار P
میانگین سن		۳۵/۹ ± ۱۱/۲	۳۳/۱ ± ۱۰/۳	۰/۳۰۰
جنس	مرد	۶ (۱۷/۶)	۷ (۲۰/۶)	۰/۷۶۰
تعداد (درصد)	زن	۲۸ (۸۲/۴)	۲۷ (۷۹/۴)	
نوع میگرن	مزمن	۱۴ (۴۱/۲)	۱۹ (۵۵/۹)	۰/۲۳۰
تعداد (درصد)	دوره‌های	۲۰ (۵۸/۸)	۱۵ (۴۴/۱)	

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار ویژگی‌های سردرد در قبل و بعد درمان در دو گروه

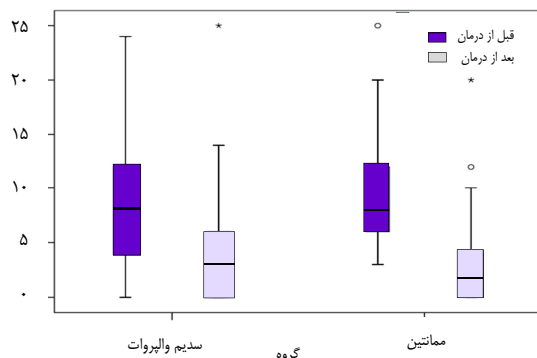
مرحله	زمان	زمان	گروه A	گروه B	مقدار P
مرحله‌ی اول	قبل درمان		۶/۸۸ ± ۳/۴۴	۶/۷۱ ± ۵/۰۶	۰/۸۷۰
	بعد درمان	تعداد حملات سردرد	۲/۹۱ ± ۱/۸۰	۳/۵۶ ± ۲/۹۱	۰/۵۵۰
		مقدار P	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۷۳۰
	قبل درمان		۷/۲۹ ± ۱/۴۷	۷/۷۹ ± ۱/۰۴	۰/۱۱۰
	بعد درمان	شدت سردرد	۴/۳۸ ± ۱/۴۱	۴/۵۹ ± ۱/۳۵	۰/۵۴۰
		مقدار P	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۲۳۰
مرحله‌ی دوم	قبل درمان		۶/۳۲ ± ۶/۸۰	۶/۵۲ ± ۴/۷۰	۰/۷۲۰
	بعد درمان	طول زمان سردرد	۳/۵۹ ± ۱/۲۰	۲/۸۰ ± ۲/۳۰	۰/۴۵۰
		مقدار P	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۵۶۰
	قبل درمان		۴/۴۱ ± ۲/۹۲	۵/۴۱ ± ۲/۲۱	۰/۱۲۰
	بعد درمان	تعداد حملات سردرد	۲/۶۵ ± ۱/۹۸	۲/۶۲ ± ۱/۷۸	۰/۹۵۰
		مقدار P	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۳۵۰
مجموع دو مرحله	قبل درمان		۵/۵۰ ± ۱/۷۱	۶/۴۷ ± ۱/۱۸	۰/۰۰۸
	بعد درمان	شدت سردرد	۳/۴۱ ± ۱/۸۳	۳/۲۶ ± ۱/۵۰	۰/۷۲۰
		مقدار P	۰/۰۱۶	< ۰/۰۰۱	۰/۲۳۰
	قبل درمان		۴/۶۰ ± ۳/۵۰	۴/۲۰ ± ۴/۳۰	۰/۷۲۰
	بعد درمان	طول زمان سردرد	۲/۸۰ ± ۱/۷۰	۱/۹۰ ± ۱/۱۰	۰/۴۵۰
		مقدار P	< ۰/۰۰۱	۰/۰۰۶	۰/۱۱۰
مجموع دو مرحله	قبل درمان		۵/۶۵ ± ۳/۴۱	۶/۰۱ ± ۳/۹۴	۰/۵۶۰
	بعد درمان	تعداد حملات سردرد	۳/۲۸ ± ۱/۹۸	۳/۰۶ ± ۲/۴۵	۰/۵۷۰
		مقدار P	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۸۸۰
	قبل درمان		۶/۴۷ ± ۱/۷۴	۷/۰۹ ± ۱/۳۱	۰/۰۲۱
	بعد درمان	شدت سردرد	۴/۶۰ ± ۱/۶۰	۴/۶۰ ± ۱/۵۰	۰/۹۱۰
		مقدار P	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۱۹۰
مجموع دو مرحله	قبل درمان		۵/۴۱ ± ۳/۳۰	۵/۳۲ ± ۳/۲۰	۰/۲۴۰
	بعد درمان	طول زمان سردرد	۳/۲۶ ± ۳/۳۰	۲/۹۴ ± ۱/۹۰	۰/۳۳۰
		مقدار P	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۸۷۰

تعداد حملات سردرد و طول مدت سردرد بین دو گروه متفاوت نبود؛ البته، شدت سردرد در قبل شروع درمان مرحله‌ی دوم، در گروه دریافت کننده‌ی ممانتین، به طور معنی‌داری بیشتر بود، اما در بعد درمان، اختلاف دو گروه معنی‌دار نبود.

انجام آزمون Repeated measures ANOVA نیز

نشان داد که در مرحله‌ی دوم روند تغییرات، تعداد حملات سردرد، شدت سردرد و طول زمان سردرد در دو گروه مورد مطالعه، اختلاف معنی‌داری نداشت. بررسی تغییرات ویژگی‌های سردرد در هر دو مرحله، در دو گروه دریافت کننده‌ی سدیم والپروات و ممانتین، نشان داد که دفعات، شدت و مدت حملات

اما اختلاف معنی‌داری در دو گروه مشاهده نشد.



شکل ۱. مقایسه‌ی میانه، دامنه و صدک ۲۵ و ۷۵ درصد مصرف مسکن در قبل و بعد درمان در دو گروه

انجام آزمون Repeated measures ANOVA نیز حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین دو گروه، در تغییرات اسکور MIDAS در طی مدت درمان در مرحله‌ی اول بود.

در مرحله‌ی دوم طرح، اسکور MIDAS بعد درمان به طور معنی‌داری در هر دو گروه کاهش یافت. همچنین، قبل از درمان اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد، اما بعد از آن، این اسکور در گروه ممانتین به طور معنی‌دار کاهش بیشتری داشت، اما بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA. تغییرات اسکور MIDAS در دو گروه متفاوت نبود. بررسی تغییرات اسکور MIDAS در دو مرحله‌ی طرح نیز نشان داد که این اسکور، در بعد درمان نسبت به قبل، به طور معنی‌دار کاهش داشت، اما اختلاف معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت.

بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA. در مجموع دو مرحله‌ی اجرای طرح، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد.

در جدول ۳، میانگین و انحراف اسکور HIT-۶

سردرد در هر دو گروه سدیم والپروات و ممانتین کاهش معنی‌دار داشته است، اما در دفعات حمله و طول زمان سردرد، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت. شدت سردرد در قبل درمان در دریافت کنندگان ممانتین، به طور معنی‌داری بیشتر بود، در حالی که بعد درمان، تفاوت دو گروه معنی‌دار نبود.

آزمون Repeated measures ANOVA نیز تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه از نظر تغییرات دفعات، شدت و مدت سردرد نشان نداد.

میانگین دفعات مصرف مسکن قبل از درمان در دو گروه دریافت‌کننده سدیم والپروات و ممانتین، به ترتیب $7/31 \pm 9/15$ و $9/93 \pm 6/21$ بار بود و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ($P = 0/500$). بعد از درمان، دفعات مصرف مسکن در دو گروه، به ترتیب $3/82 \pm 4/34$ و $2/95 \pm 3/34$ بار بود و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ($P = 0/220$). قابل ذکر است در مجموع دو مرحله، دفعات مصرف مسکن هم در گروه سدیم والپروات و هم در گروه ممانتین، به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده بود ($P < 0/001$).

انجام آزمون Repeated measures ANOVA نیز نشان داد تغییرات مصرف مسکن در بعد درمان نسبت به قبل در دو گروه، تفاوت معنی‌دار ندارد ($P = 0/950$). در شکل ۱، توزیع مصرف مسکن در قبل و بعد درمان آمده است.

در جدول ۳، میانگین و انحراف معیار دو اسکور MIDAS و HIT-۶ در قبل و بعد درمان در دو گروه آمده است. طبق این جدول، در مرحله‌ی اول طرح، اسکور MIDAS و HIT-۶ در بعد درمان، نسبت به قبل در هر دو گروه به طور معنی‌دار کاهش پیدا کرد؛

و ۱۳ مورد در گروه ممانتین بود. همچنین، ۴ نفر از گروه سدیم والپروات دچار عارضه‌ی عصبی شدند (۱ نفر در مرحله‌ی اول و ۳ نفر در مرحله‌ی دوم).

بر حسب آزمون Fisher's exact، فراوانی بروز عوارض در گروه سدیم والپروات به طور معنی‌داری بیشتر بود. توزیع فراوانی بروز عوارض در جدول ۴ آمده است.

بحث

هدف کلی از انجام این مطالعه، مقایسه‌ی تأثیر ممانتین در مقایسه با سدیم والپروات در پیش‌گیری از میگرن مزمن و دوره‌ای بود. در این مطالعه، ۶۸ بیمار مبتلا به میگرن مزمن و دوره‌ای در طی یک طرح متقاطع تحت درمان با سدیم والپروات و ممانتین قرار گرفتند.

نیز در دو گروه دریافت‌کننده‌ی سدیم والپروات و ممانتین آمده است. بر حسب نتایج به دست آمده، اسکور HIT-۶ نیز در بعد درمان در هر دو گروه هم در مرحله‌ی اول، هم در مرحله‌ی دوم و هم در مجموع دو مرحله کاهش معنی‌دار داشت، اما اختلاف معنی‌دار بین دو گروه مشاهده نشد. انجام آزمون Repeated measures ANOVA نیز نشان داد که اسکور HIT-۶ در طی مراحل اول و دوم و نیز مجموع دو مرحله، در دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت.

در طی مدت اجرای طرح (دو مرحله)، در مجموع ۲۰ نفر از گروه سدیم والپروات و ۱۳ نفر از گروه ممانتین، دچار عوارض دارویی شدند. شایع‌ترین عارضه‌ی مشاهده شده در بیماران دو گروه، عارضه‌ی گوارشی با فراوانی ۱۱ مورد در گروه سدیم والپروات

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار اسکور MIDAS و HIT-۶ در قبل و بعد درمان در دو گروه

مقدار P	گروه B	گروه A	زمان	اسکور	مرحله
۰/۴۳۰	۲۵/۵۶ ± ۱۶/۳۴	۲۸/۶۷ ± ۱۶/۰۰	قبل درمان	MIDAS	مرحله‌ی اول
۰/۱۸۰	۱۱/۱۱ ± ۱۱/۴۰	۱۴/۶۹ ± ۹/۹۰	بعد درمان		
۰/۷۵۰	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	مقدار P		
۰/۴۱۰	۶۰/۱۲ ± ۸/۶۰	۵۸/۱۸ ± ۱۰/۷۰	قبل درمان	HIT-۶	
۰/۷۷۰	۴۵/۰۶ ± ۶/۹۰	۴۵/۶۸ ± ۱۰/۰۴	بعد درمان		
۰/۲۳۰	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	مقدار P		
۰/۱۷۰	۱۹/۰۰ ± ۹/۹۰	۱۳/۵۹ ± ۹/۴۰	قبل درمان	MIDAS	مرحله‌ی دوم
۰/۰۱۳	۱۰/۴۷ ± ۹/۳۰	۴/۹۰ ± ۸/۳۰	بعد درمان		
۰/۰۵۰	۰/۰۰۳	< ۰/۰۰۱	مقدار P		
۰/۰۶۰	۴۸/۳۵ ± ۹/۵۸	۴۳/۲۴ ± ۱۲/۶۰	قبل درمان	HIT-۶	
۰/۶۳۰	۳۷/۴۱ ± ۸/۲۵	۳۸/۴۴ ± ۹/۳۰	بعد درمان		
۰/۳۴۰	۰/۰۳۹	< ۰/۰۰۱	مقدار P		
۰/۸۸۰	۲۳/۲۰ ± ۱۷/۸۰	۲۲/۶۰ ± ۸/۸۰	قبل درمان	MIDAS	مجموع دو مرحله
۰/۶۱۰	۱۱/۳۹ ± ۹/۶۰	۱۰/۲۰ ± ۵/۴۰	بعد درمان		
۰/۸۰۰	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	مقدار P		
۰/۰۷۰	۵۴/۷۶ ± ۸/۸۲	۵۱/۲۹ ± ۱۲/۸۲	قبل درمان	HIT-۶	
۰/۵۵۰	۴۱/۷۶ ± ۶/۸۲	۴۲/۵۹ ± ۸/۹۱	بعد درمان		
۰/۳۶۰	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	مقدار P		

MIDAS: Migraine disability assessment score; HIT: Headache impact test

جدول ۴. توزیع فروانی بروز عوارض در دو گروه

مقدار P	گروه		نوع عارضه	مرحله
	ممانتین	سدیم والپرات		
۰/۳۶۰	۳۰ (۸۸/۲)	۲۷ (۷۹/۴)	بدون عارضه	مرحله اول
	۱ (۲/۹)	۱ (۲/۹)	گوارشی	
	۳ (۸/۸)	۱ (۲/۹)	عصبی	
۰/۴۹۰	۰ (۰)	۵ (۱۴/۷)	سایر	مرحله دوم
	۲۵ (۷۳/۵)	۲۱ (۶۱/۸)	بدون عارضه	
	۹ (۲۶/۵)	۸ (۲۳/۵)	گوارشی	
	۰ (۰)	۱ (۲/۹)	عصبی	
۰/۰۰۸	۰ (۰)	۴ (۱۱/۸)	سایر	مجموع دو مرحله
	۲۱ (۶۱/۸)	۴۸ (۷۰/۶)	بدون عارضه	
	۱۳ (۳۸/۲)	۱۱ (۱۶/۲)	گوارشی	
	۰ (۰)	۳ (۴/۴)	عصبی	
	۰ (۰)	۶ (۸/۸)	سایر	

حملات سردرد و دفعات حملات نسبت به Baseline کاهش پیدا کرده است (۲۰).

در مطالعه‌ی Bigal و همکاران، از ممانتین با دوز ۲۰-۱۰ mg به مدت سه ماه در ۳۸ بیمار استفاده شد که در این مطالعه نیز هم شدت سردرد و هم مدت حملات سردرد و دفعات حملات نسبت به Baseline کاهش پیدا کرده بود (۲۱). از طرف دیگر، هر چند که در متون از عوارض ممانتین از جمله عوارض پوستی (راش)، عوارض گوارشی (تهوع، استفراغ، درد شکم و اسهال)، عوارض قلبی-عروقی (کم و پرفشاری خون و Congestive Heart Failure یا CHF)، عوارض عصبی (سردرد، توهم و دل‌پوشن) و خونی (آنمی) یاد شده است (۲۲، ۱۸-۱۶)، اما در مطالعه‌ی حاضر، عارضه‌ی قابل توجه و جدی که منجر به ترک دارو گردد، در بیماران مشاهده نشد و عوارض مشاهده شده، تنها شامل عوارض مختصر گوارشی بود.

برابر نتایج به دست آمده، هر دو داروی مورد مطالعه، در پیش‌گیری از عود علائم میگرن مؤثر بودند و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه از نظر تعداد حملات میگرن، شدت میگرن و طول زمان سردرد وجود نداشت. از طرف دیگر، بر اساس معیارهای MIDAS و HIT-۶ نیز اختلاف معنی‌داری بین دو دارو مشاهده نشد، اما بر طبق نتایج، بروز عوارض دارویی به ویژه عوارض عصبی، در گروه دریافت‌کننده‌ی ممانتین کمتر بود و بیماران تحت درمان، تمایل بیشتری برای مصرف ممانتین داشتند.

تأثیر ممانتین در پیش‌گیری از عود حملات میگرن در چند مطالعه‌ی دیگر نیز مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال، در پژوهش Charles و همکاران، نتایج مشابه نتایج مطالعه‌ی حاضر به دست آمد. در این مطالعه، ۶۰ بیمار، حدود ۳ ماه تحت درمان با ۱۰ mg ممانتین قرار گرفتند که طبق نتایج حاصل، هم شدت سردرد و هم تعداد مدت

یک هفته) انجام شد. بیماران طی دو ماه تحت درمان قرار گرفتند و سپس یک ماه Whash out و بعد، درمان بین دو گروه تعویض شد. در نتایج حاصل، تأثیر توپیرامات نسبت به سدیم والپروات، مدت حملات سردرد از ۲۱/۳ ساعت به ۱۲/۳ ساعت در

ماه و شدت سردرد از ۷/۷ به ۵/۸ درصد رسید (۱). با توجه به نتایج به دست آمده، نتیجه‌گیری کلی که می‌توان از این مطالعه داشت، این است که هر دو داروی سدیم والپروات و ممانتین در پیش‌گیری از عود حملات میگرن و کاهش دفعات، شدت و مدت سردرد در بیماران مبتلا به میگرن مزمن و دوره‌ای مؤثر بودند، اما ممانتین به علت عوارض دارویی کمتر، گزینه‌ی مناسب‌تری نسبت به سدیم والپروات می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای یوسف عارفی به شماره‌ی پایان‌نامه‌ی ۳۹۳۲۴۱ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است که در حوزه‌ی معاونت تحقیقات و فناوری این دانشگاه تصویب و اجرا شده است. بدین وسیله، پژوهشگران از حمایت‌های بی‌دریغ این معاونت سپاسگزاری می‌نمایند.

بر حسب نتایج مطالعه‌ی حاضر، هر چند که در بیماران مصرف‌کننده‌ی سدیم والپروات مواردی از بروز عوارض عصبی مشاهد گردید، اما این داور نیز در پیش‌گیری از عود حملات میگرن و شدت و مدت سردرد، تأثیر معنی‌دار داشت. در این ارتباط نیز برخی مطالعات دیگر نیز نتایجی مشابه مطالعه‌ی حاضر را گزارش کردند.

در مطالعه‌ی Hering و Kuritky بر روی ۲۹ بیمار مبتلا به میگرن، اثربخشی سدیم والپرات در کاهش حملات سردرد بررسی شد. در این مطالعه، بیماران به دو گروه دریافت‌کننده‌ی سدیم والپرات با دوز ۴۰۰ mg و گروه دریافت‌کننده‌ی دارونما تقسیم و به مدت ۸ هفته تحت درمان واقع شدند. نتایج نشان داد که سدیم والپروات، تأثیری حدود ۸۶/۲ درصد در پیش‌گیری از میگرن داشت (۲۳).

در پژوهش چیت‌ساز و همکاران، تأثیر سدیم والپروات و توپیرامات در پیش‌گیری از میگرن مقایسه شد. در این کارآزمایی بالینی از نوع متقاطع بود و روی ۶۴ بیمار در دو گروه دریافت‌کننده‌ی سدیم والپروات (۲۰۰-۴۰۰ mg روزانه) و توپیرامات (شروع با ۲۰ mg روزانه و افزایش آن به ۵۰ mg طی

References

1. Chitsaz A, Ghorbani A, Hoseinzadeh H, Nazari F, Norouzi R, Tajic S. Comparison of botulinum toxin type-A and divalproex sodium for prevention of chronic and episodic migraine. *Neurology Asia* 2012; 17(2): 127-32.
2. Lipton RB, Stewart WF, Diamond S, Diamond ML, Reed M. Prevalence and burden of migraine in the United States: data from the American Migraine Study II. *Headache* 2001; 41(7): 646-57.
3. Hung CI, Liu CY, Yang CH, Wang SJ. The Impacts of Migraine among Outpatients with Major Depressive Disorder at a Two-Year Follow-Up. *PLoS One* 2015; 10(5): e0128087.
4. Krymchantowski A, Jevoux C. Memantine in the preventive treatment for migraine and refractory migraine. *Headache* 2009; 49(3): 481-2.
5. Mazaheri S, Poorolajal J, Hosseinzadeh A, Fazlian MM. Effect of intravenous sodium valproate vs dexamethasone on acute migraine headache: a double blind randomized clinical trial. *PLoS One* 2015; 10(3): e0120229.
6. Huang L, Bocek M, Jordan JK, Sheehan AH. Memantine for the prevention of primary headache disorders. *Ann Pharmacother* 2014;

- 48(11): 1507-11.
7. Olesen J, Boussier MG, Diener HC, Dodick D, First M, Goadsby PJ, et al. New appendix criteria open for a broader concept of chronic migraine. *Cephalalgia* 2006; 26(6): 742-6.
 8. Ramadan NM, Schultz LL, Gilkey SJ. Migraine prophylactic drugs: proof of efficacy, utilization and cost. *Cephalalgia* 1997; 17(2): 73-80.
 9. Ziegler DK, Hurwitz A, Hassanein RS, Kodanaz HA, Preskorn SH, Mason J. Migraine prophylaxis. A comparison of propranolol and amitriptyline. *Arch Neurol* 1987; 44(5): 486-9.
 10. Silberstein SD. Practice parameter: evidence-based guidelines for migraine headache (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2000; 55(6): 754-62.
 11. Law M, Morris JK, Jordan R, Wald N. Headaches and the treatment of blood pressure: results from a meta-analysis of 94 randomized placebo-controlled trials with 24,000 participants. *Circulation* 2005; 112(15): 2301-6.
 12. Saper JR, Lake AE, III, Hamel RL, Lutz TE, Branca B, Sims DB, et al. Daily scheduled opioids for intractable head pain: long-term observations of a treatment program. *Neurology* 2004; 62(10): 1687-94.
 13. Peikert A, Wilimzig C, Kohne-Volland R. Prophylaxis of migraine with oral magnesium: results from a prospective, multi-center, placebo-controlled and double-blind randomized study. *Cephalalgia* 1996; 16(4): 257-63.
 14. Hort J, O'Brien JT, Gainotti G, Pirttila T, Popescu BO, Rektorova I, et al. EFNS guidelines for the diagnosis and management of Alzheimer's disease. *Eur J Neurol* 2010; 17(10): 1236-48.
 15. Lipton SA. Failures and successes of NMDA receptor antagonists: molecular basis for the use of open-channel blockers like memantine in the treatment of acute and chronic neurologic insults. *NeuroRx* 2004; 1(1): 101-10.
 16. Orgogozo JM, Rigaud AS, Stoffler A, Mobius HJ, Forette F. Efficacy and safety of memantine in patients with mild to moderate vascular dementia: a randomized, placebo-controlled trial (MMM 300). *Stroke* 2002; 33(7): 1834-9.
 17. Rabins PV, Blacker D, Rovner BW, Rummans T, Schneider LS, Tariot PN, et al. American Psychiatric Association practice guideline for the treatment of patients with Alzheimer's disease and other dementias. Second edition. *Am J Psychiatry* 2007; 164(12 Suppl): 5-56.
 18. Reisberg B, Doody R, Stoffler A, Schmitt F, Ferris S, Mobius HJ. Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2003; 348(14): 1333-41.
 19. Wilcock G, Mobius HJ, Stoffler A. A double-blind, placebo-controlled multicentre study of memantine in mild to moderate vascular dementia (MMM500). *Int Clin Psychopharmacol* 2002; 17(6): 297-305.
 20. Charles A, Flippen C, Romero RM, Brennan KC. Memantine for prevention of migraine: a retrospective study of 60 cases. *J Headache Pain* 2007; 8(4): 248-50.
 21. Bigal M, Rapoport A, Sheftell F, Tepper D, Tepper S. Memantine in the preventive treatment of refractory migraine. *Headache* 2008; 48(9): 1337-42.
 22. Andersen GO, Ritland S. Life threatening intoxication with sodium valproate. *J Toxicol Clin Toxicol* 1995; 33(3): 279-84.
 23. Hering R, Kuritzky A. Sodium valproate in the prophylactic treatment of migraine: a double-blind study versus placebo. *Cephalalgia* 1992; 12(2): 81-4.

Comparing the Effects of Memantine and Sodium Valproate in Prevention of Chronic and Episodic Migraine

Abbas Ghorbani MD¹, Vahid Shaygannejad MD², Yosef Arefi³, Behnaz Ansari MD⁴

Original Article

Abstract

Background: Considering high prevalence of treatment failure in migraine and resistance to common drugs and their side effects, trying to find new treatments in chronic and relapsing migraine is important. The aim of this study was comparing the effect on memantine and sodium valpruate in treatment of chronic and episodic migraine headaches.

Methods: In a cross-over clinical trial study, 70 patients with chronic or relapsing migraine were selected and randomly divided in two equal groups. The groups were treated using memantine or sodim valruate for 3 months and after 4 weeks of wash-out, the method of treatment was replaced and continued for 3 months. The number of headache attacks, pain intensity, analgesia consumption and duration of headache were compared between the two groups.

Findings: Time, intensity and duration of headaches were decreased in both groups significantly; but the number of attacks and duration of headache was not significantly different. The decrease of headache intensity in the memantine groups was significantly higher than the sodium valpruate groups ($P = 0.021$).

Conclusion: Both memantine and sodium valpruate had positive effects for prevention of relapsing migraine attack, headache intensity and duration of headache; but the side effects of memantine in lower and it is a better selection for prevention of migraine headache.

Keywords: Migraine, Memantine, Sodium valpruate

Citation: Ghorbani A, Shaygannejad V, Arefi Y, Ansari B. **Comparing the Effects of Memantine and Sodium Valproate in Prevention of Chronic and Episodic Migraine.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(343): 1157-67

1- Associate Professor, Department of Neurology, School of Medicine AND Isfahan Neuroscience Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Professor, Department of Neurology, School of Medicine AND Isfahan Neuroscience Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

4- Assistant Professor, Department of Neurology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Yosef Arefi, Email: yosef.am67@gmail.com

اثر درمانی پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) در جوان‌سازی پوست: مزایا و معایب

نیوشا نکویی مارنانی^۱، دکتر فریبا جعفری^۲، دکتر محمدعلی نیلفروش‌زاده^۳

مقاله مروری

چکیده

هدف اصلی اغلب روش‌های زیبایی، یافتن روشی مطمئن با کمترین عوارض جانبی برای رفع پیری و جوان‌سازی پوست می‌باشد. به دلیل شباهت مسیر بهبود زخم و جوان‌سازی پوست، روش‌های متنوعی مانند لیزر Ablative و Non-ablative در همین راستا برای جوان‌سازی پوست به کار رفته‌اند. یکی از روش‌هایی که در سال‌های اخیر مورد توجه عموم و متخصصین قرار گرفته است، تزریق پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) یا Platelet-rich plasma می‌باشد. در این مطالعه، با مروری بر مکانیسم‌های مولکولی فرایند پیری و جوان‌سازی پوست، شواهد و مستندات اثربخشی پلاسمای غنی از پلاکت بر این فرایند، به همراه عوارض جانبی و خطرهای احتمالی آن مورد بررسی قرار می‌گیرد. از آنجایی که پلاسمای غنی از پلاکت، حاوی غلظت بالایی از عوامل رشد می‌باشد، می‌تواند فرایند بهبود زخم را تسریع کند. با این وجود، غلظت بالای عوامل رشد، می‌تواند مسیرهای سیگنالی ایجاد تومورهای پوستی را القا نماید. از این نظر، تزریق پلاسمای غنی از پلاکت می‌تواند با خطر احتمالی ایجاد تومورهای پوستی همراه باشد و لازم است، آثار و عوارض دراز مدت آن در مطالعات آینده‌نگر گسترده مورد ارزیابی قرار گیرد.

واژگان کلیدی: پلاسمای غنی از پلاکت، جوان‌سازی، عوامل رشد، ترمیم زخم، سرطان

ارجاع: نکویی مارنانی نیوشا، جعفری فریبا، نیلفروش‌زاده محمدعلی. بررسی اثر درمانی پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) در جوان‌سازی

پوست. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۴۳): ۱۱۶۸-۱۱۸۵

مقدمه

فرایند پیری، یکی از مهم‌ترین و پیچیده‌ترین فرایندهایی است که به طور کامل شناخته نشده است و با شناخت کامل آن، می‌توان راه‌های پیش‌گیری و مقابله با پیری پوست را افزایش داد و از آن‌جا که راه‌های جوان‌سازی پوست می‌تواند امید به زندگی را افزایش دهد، در تمام جوامع بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱). به طور کلی، پوست از نظر ظاهری و مکانیسم عملکردی، تحت تأثیر تغییرات درون سلولی مرتبط با افزایش سن و تأثیر عوامل خارجی

همچون اشعه‌ی ماورای بنفش حاصل از نور خورشید و دود سیگار قرار می‌گیرد (۳-۱). تغییرات درون سلولی مرتبط با افزایش سن، شامل کوتاه شدن تلومرها، جهش‌های DNA میتوکندری، استرس‌های اکسیداتیو، جهش‌های ژنتیکی و کاهش سطح هورمونی می‌باشند (۱).

تمام این تغییرات، باعث ایجاد خطوط و چروک‌های پوستی و کاهش استحکام و قابلیت ارتجاعی پوست می‌گردند که از نشانه‌های پیری پوست می‌باشند. اشعه‌ی ماورای بنفش و دود سیگار،

۱- مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- استاد، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان و مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

می‌گردد که از نظر ساختار و عملکرد پوست بسیار مورد توجه است؛ چراکه تغییر در بازآرایی پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی، منجر به تغییر در ساختار و در نهایت پیری پوست می‌گردد (۴).

مکانیسم پیری پوست حاصل از افزایش سن

به دنبال افزایش متابولیسم اکسیداتیو سلولی، میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) یا Reactive oxygen species در سلول افزایش و تجمع می‌یابند که تأثیر به‌سزایی در تغییر بازآرایی پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی و پیری دارند (۴). هر چند در مقابل این فرایند، وجود آنتی‌اکسیدانت‌ها مانع از اثربخشی این گونه از رادیکال‌های آزاد می‌شوند، اما با افزایش سن و کاهش آنتی‌اکسیدانت‌ها، این تعادل به هم می‌خورد و اثرات حاصل از ROS افزایش می‌یابد. از نظر مولکولی، رادیکال‌های آزاد، منجر به القای عوامل رونویسی c-jun به واسطه‌ی مسیر سیگنالینگ MAPK (Mitogen-activated protein kinases) می‌گردند و در نهایت، القای Ap-1 (Activator protein-1) که بیان ماتریکس متالوپراکسیداز (Matrix metalloproteinase-9,3,1) یا MMP-9,3,1 تحریک و مانع از بیان پروکلاژن نوع I می‌گردد که حاصل آن، کاهش میزان کلاژن و پیری پوست می‌باشد (۴-۵، ۱). این اثر، می‌تواند با مهار تولید سیتوکین القا کننده‌ی سنتز پروکلاژن (Transforming growth factor beta یا TGF-B) توسط Ap-1 افزایش یابد (۶).

همچنین، این رادیکال‌ها منجر به تغییرات پروتئین لیپیدی و DNA میتوکندری می‌شوند که تأثیرات

بروز این گونه از نشانه‌ها را تسریع می‌کنند و باعث کاهش بیشتر قابلیت ارتجاعی پوست و به دنبال آن خطوط عمیق‌تر می‌گردند و بایستی در نظر گرفت که فرایندهای پیری، ماتریکس خارج سلولی را از نظر ساختار و عملکرد مورد هدف قرار می‌دهد (۱-۲). هدف از این مطالعه، نگاهی جامع به فرایندهای مولکولی پیری و جوان‌سازی پوست به همراه بررسی فواید و مضرات پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) یا Platelet-rich plasma در جوان‌سازی پوست می‌باشد.

ساختار مولکولی پوست

عملکرد پوست به واسطه‌ی ساختار لایه‌های اپی‌درم و درم صورت می‌گیرد که لایه‌ی اپی‌درم، غنی از سلول‌های کراتینوسیت می‌باشد. این سطح از سلول، همچون سد در جهت جلوگیری از هدر رفتن آب بافتی، گرما و ورود میکرو ارگانیسم‌های پاتوژنیک عمل می‌کند. در حالی که لایه‌ی درم، غنی از رگ‌های خونی و پروتئین‌های خارج سلولی و تعداد کمی فیروبلاست می‌باشد که این سلول‌ها، مسؤول تولید و ترشح پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی از جمله کلاژن نوع III و I و در نهایت، تأمین قابلیت ارتجاعی پوست می‌باشند.

محل الحاق این دو لایه، منجر به ایجاد سطحی به نام اتصال درم-اپی‌درم (DEJ) یا Dermal-epidermal junction می‌گردد که سلول‌های کراتینوسیت در سطح قاعده‌ی لایه‌ی اپی‌درم، در جهت تولید کلاژن نوع IV حایز اهمیت می‌باشند. لایه‌ی درم، از طریق کلاژن‌های VII و IV فیبریلین غنی از میکروفیبریل، به اپی‌درم متصل

می‌گردد. در حالی که UV-A دارای طول موج بلندتری است و بیشترین میزان جذب در درم و اپی‌درم را به همراه ایجاد ROS، تغییرات لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA به همراه دارد که از نقش مهمی در فرایند پیری برخوردار است.

همچنین، موتاسیون‌های DNA میتوکندری در پوست‌های تحت تأثیر اشعه‌ی UV، بسیار بیشتر از پوست‌های محافظت شده است و به دنبال آن، اثرات سوء بیشتر را به همراه دارد که حاصل تولید ROS می‌باشد (۱، ۴).

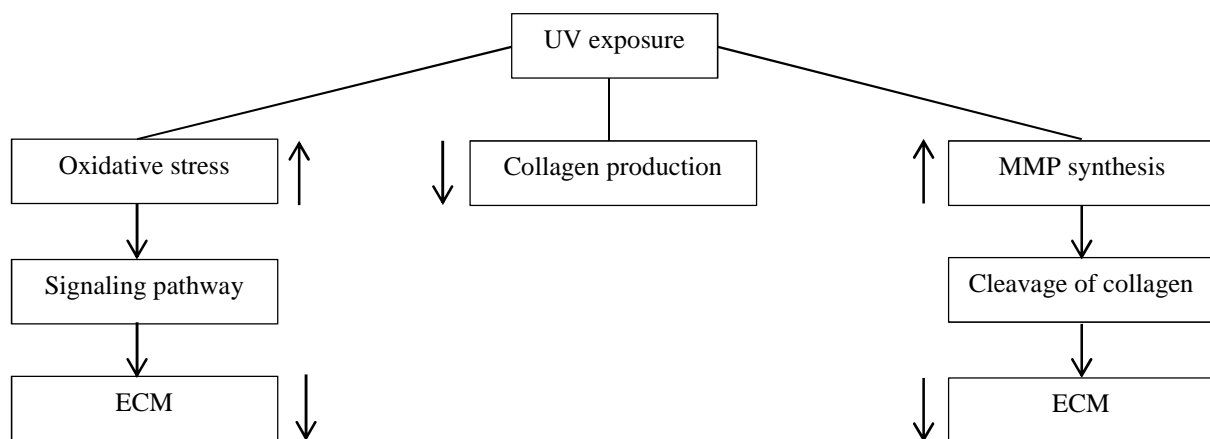
کوتاه شدن تلومرها، یکی دیگر از مکانیسم‌های القای پیری پوست می‌باشد که تحت تأثیر تقسیم سلولی، اشعه‌ی UV و آسیب‌های DNA صورت می‌گیرد و منجر به آپوپتوزیس و توقف سیکل سلولی و در نهایت پیری می‌گردد. از آن جا که ناحیه‌ی تلومری، غنی از بازهای T و G می‌باشند، نسبت به اشعه‌ی UV بسیار حساس هستند.

مخرب زیادی را به همراه دارند (۴، ۱). رادیکال‌های آزاد اکسیژن، نه تنها از طریق متابولیسم اکسیداتیو، بلکه از طریق اشعه‌ی ماورای بنفش نیز ایجاد می‌گردند و باعث تسریع فرایند پیری می‌شوند (۵-۴، ۱) (شکل ۱).

تغییرات هورمونی، یکی دیگر از عوامل درونی حاصل از افزایش سن می‌باشد که با کاهش تدریجی هورمون‌های استروژن و آندروژن‌ها، در مدت زمان طولانی، می‌تواند خشکی پوست، کاهش قابلیت ارتجاعی پوست، شکسته شدن کلاژن‌ها و چروک‌ها را به همراه داشته باشد (۱).

مکانیسم پیری پوست حاصل از عوامل خارجی

تأثیرات اشعه‌ی فرابنفش (UV یا Ultra violet)، به طول موج آن بستگی دارد. بر این اساس، UV-B دارای طول موج کوتاه است و در اپی‌درم، جذب و آسیب‌های DNA سلول‌های این لایه را موجب



شکل ۱. تأثیر اشعه‌ی فرابنفش: سلول‌هایی که تحت تأثیر اشعه‌ی فرابنفش (UV یا Ultra violet) قرار می‌گیرند، با افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی، موجب تولید بیشتر آنزیم ماتریکس متالوپراکسیداز و تجزیه‌ی بیشتر کلاژن‌ها و کاهش ماتریکس خارج سلولی می‌شوند. کاهش تولید کلاژن و افزایش تولید آنزیم ماتریکس متالوپراکسیداز، می‌تواند به طور مستقیم هم تحت تأثیر اشعه‌ی فرابنفش قرار گیرند (۵-۴، ۱).

UV: Ultraviolet; MMP: Matrix metalloproteinase; ECM: Extracellular matrix

پوست، شش‌ها و مفاصل می‌گذارد و توانایی کشسانی آن‌ها را کاهش می‌دهد (۴).

با افزایش ROS، MMP و پروتئین‌های اکسید شده، Ap-1 و کاهش تولید کلاژن در اثر افزایش سن یا وجود عوامل خارجی فیبرهای سیستم ارتجاعی کاهش می‌یابند. با تجمع قطعات تجزیه شده‌ی کلاژن‌ها و از بین رفتن اتصال بین کلاژن‌های سالم و فیروبلاست‌ها، قابلیت کشسانی مکانیکی بافت از بین می‌رود و در نهایت، منجر به ایجاد شکل‌گیری چروک‌های پوستی و پیری می‌شود (۱، ۴، ۶).

از سن ۳۰ سال به بالا، تعداد ملانوسیت‌ها به میزان ۲۰-۸ درصد کاهش می‌یابد و فاصله‌ی زمانی تقسیم سلولی افزایش می‌یابد که منجر به کاهش بازسازی اپی‌درم می‌گردد. این ویژگی در سلول‌های تحت تأثیر اشعه‌ی UV نیز دیده می‌شود که تعداد سلول‌های فیروبلاست و کراتینوسیت نسبت به سلول‌های محافظت شده، و به همان نسبت، سنتز کلاژن‌ها کاهش می‌یابد (۱). از طرفی، پیری سلولی نیز به واسطه‌ی توقف چرخه‌ی سلولی حاصل می‌شود که در نهایت، منجر به کاهش تقسیم سلولی می‌گردد (۷).

چرخه‌ی سلولی توسط برخی از پروتئین‌ها همچون سیکلین‌های D، E و A و کینازهای مرتبط با آن‌ها همچون CDK ۲،۴،۶ (Cyclin-dependent kinases) تنظیم می‌گردد. بر این اساس، CDK۲/cyclinE و CDK ۴،۶/cyclin D، از پروتئین‌های مهم برای انتقال سلول از مرحله‌ی G1 چرخه‌ی سلولی به مرحله‌ی S و تقسیم سلولی می‌باشند (۷-۸).

طبق شواهد موجود، در سلول‌های کراتینوسیت، تلومراز وجود دارد؛ چرا که طول تلومرها می‌بایست در این سلول‌ها به علت میزان بالای تقسیم سلولی حفظ شود؛ بر خلاف کراتینوسیت‌ها، فیروبلاست‌ها تقسیم سلولی کمی دارند و فاقد تلومراز می‌باشند. بنابراین، طول تلومر در این سلول‌ها در اثر تقسیم سلولی کاهش می‌یابد، اما به واسطه‌ی تقسیم سلولی کمی که در طول زندگی خود دارند، فاقد تغییرات تلومری چشمگیری می‌باشند. از این نظر، عدم کاهش چشمگیر تلومر در کراتینوسیت‌ها و فیروبلاست‌ها (به واسطه‌ی میزان پایین تقسیم سلولی)، از نظر فرایندهای پیری داخل سلولی با افزایش سن، در مقایسه با تأثیرات اشعه‌ی UV مورد توجه قرار نمی‌گیرد (۱).

سیستم فیبر ارتجاعی پوست که متشکل از میکروفیبریل‌های غنی از فیبریلین، گلیکو پروتئین‌ها و پروتئوگلیکان‌ها می‌باشند، در پوست‌های جوان، ساختار بسیار سازمان یافته و منظمی دارند که قابلیت کشسانی بافت را موجب می‌شوند. قابلیت بازآرایی و شکل‌گیری مجدد این سیستم، تحت تأثیر اشعه‌ی UV یا افزایش سن کاهش می‌یابد و به دنبال آن، افتادگی پوست حاصل می‌گردد (۱، ۴، ۶).

از آن جایی که پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی و سیستم فیبر ارتجاعی پوست، دارای نیمه‌ی عمر بالایی نزدیک به ۹۵-۱۵ سال می‌باشند، بسیار بیشتر از سایر پروتئین‌ها در معرض تغییرات مولکولی حاصل از افزایش سن از جمله تجمع چربی‌ها، قند، کلسیم و تغییرات وابسته به زمان اسید آسپارتیک قرار می‌گیرند که تأثیر به‌سزایی روی ویژگی‌های مکانیکی بافت‌های غنی از سیستم فیبر ارتجاعی همچون

شباهت مکانیسم ترمیم زخم و جوان‌سازی پوست

بسیاری از تغییرات بیوشیمیایی که برای از بین بردن اثرات داخلی و خارجی پیری پوست مورد نیاز هستند، با تغییراتی که در طی ایجاد و بهبود زخم حاصل می‌شوند، شباهت دارند. بنابراین، با شناخت کامل فرایند ترمیم زخم، می‌توان درک بهتری از مکانیسم پیری پوست و به دنبال آن، کاهش اثر این گونه از مکانیسم‌ها و جوان‌سازی پوست پیدا کرد (۶).

در پوست، عوامل رشد توسط پلاکت‌ها، کراتینوسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها و ماست‌سل‌ها تولید می‌گردند که عملکرد سلول از جمله رگ‌زایی بافت، کموتاکسی و ایجاد ماتریکس خارج سلولی را کنترل می‌کنند؛ چرا که این دسته از پروتئین‌ها، به عنوان پیامبرهای داخل سلولی عمل می‌کنند و منجر به القای سیگنال‌های داخل سلولی و به دنبال آن کنترل اعمال حیاتی سلول می‌شوند (۹، ۶).

زمانی که زخمی در پوست ایجاد می‌گردد، عوامل رشد در محل آسیب تجمع می‌یابند تا تأثیر آنزیم کلاژناز و التهاب را کاهش و میزان کلاژن محل آسیب را افزایش دهند. بنابراین، با افزایش سنتز کلاژن، زخم ایجاد شده بهبود می‌یابد که می‌تواند علائم پیری پوست از جمله خطوط و چروک پوست را نیز کاهش دهد (۶).

فرایند ترمیم زخم شامل مراحل ایجاد لخته و التهاب، مهاجرت و تکثیر سلولی و در نهایت، مرحله‌ی بازآرایی می‌باشد که تمامی این مراحل توسط عوامل رشد کنترل می‌گردند و عامل انتقال از یک مرحله به مرحله‌ی دیگری در فرایند ترمیم می‌باشند (۱۰، ۸-۶).

در مرحله‌ی التهاب، پلاکت‌ها برای تولید عوامل

رشد، سیتوکین‌ها و عوامل هموستازی در بافت آسیب دیده تحریک می‌شوند. در طی این مرحله، با ترشح هیستامین و سروتونین از پلاکت‌ها، نفوذ پذیری عروق داخل بافت آسیب دیده افزایش می‌یابد که منجر به مهاجرت سلول‌ها به سمت محل آسیب می‌گردد و التهاب بافتی صورت می‌گیرد (۱۰). در این مرحله، نوتروفیل‌ها اولین سلول‌های التهابی هستند که مانع از ورود عفونت و بقایای بافت آسیب دیده در محل می‌گردند (۱۱). مرحله‌ی مهاجرت و تکثیر سلولی و بازآرایی کراتینوسیت‌ها، به عنوان مرحله‌ی اصلی در تسریع ترمیم زخم در نظر گرفته می‌شود (۸-۷).

بنابراین، سلول‌های بنیادی مزانشیمال، به سمت محل آسیب هدایت می‌شوند که قادر به تمایز به انواع سلول‌های مرتبط با بافت از جمله فیبروبلاست‌ها، رگ‌های خونی و ... می‌باشند. تمایز مناسب بافتی، تحت تأثیر شرایط محیطی از جمله فشار اکسیژن، pH، عوامل رشد، سیتوکین‌ها، شرایط الکتریکی و مکانیکی بافت، هورمون‌ها و مواد غذایی قرار می‌گیرد (۱۱). مرحله‌ی تکثیر سلولی، شامل اپیتلاسیون، رگ‌زایی، بازآرایی ماتریکس خارج سلولی و فیبروپلازیا می‌باشد که توسط پروتئین‌های چرخه‌ی سلولی از جمله سیکلین‌های A، E و D و کینازهای مرتبط با آن از جمله ۲،۴،۶ CDK تنظیم می‌گردد (۱۲، ۹، ۷).

مرحله‌ی مهاجرت سلولی، به واسطه‌ی مولکول‌های چسبنده همچون فیبرونکتین، فیبرین و ویترونکتین موجود در پلاکت‌ها صورت می‌گیرد (۱۳، ۱۰).

در پایان مرحله‌ی مهاجرت و تکثیر سلولی، یک

از آن جا که ROS یکی از مهم‌ترین عوامل تسریع کننده‌ی فرایند پیری می‌باشد، استفاده از آنتی‌اکسیدانت‌ها به همراه کرم ضد آفتاب، نقش بسیار مهمی در پیش‌گیری و درمان پیری القا شده از اشعه‌ی UV دارد. مهم‌ترین آنتی‌اکسیدانت‌ها شامل کوآنزیم Q10، ویتامین‌های C، E و B، کاتئین، آسکوربیک اسید و نیاسین‌آمید می‌باشند. از آن جا که ویتامین C علاوه بر نقش آنتی‌اکسیدانتی، یک عامل مشترک مهم در سنتز کلاژن‌ها می‌باشد، در این امر بسیار حایز اهمیت است (۱).

چای سبز که حاوی پلی‌فنول، اپی‌کاتئین و اپی‌گالوکاتئین می‌باشد، یکی از مؤثرترین مواد جهت پیش‌گیری از پیری پوست است که اثر آنتی‌اکسیدانت و ضد التهابی دارد. همچنین، به علت دارا بودن پلی‌فنول‌ها، می‌تواند مسیر سیگنالینگ را که منجر به کاهش سنتز MMP می‌شود، القا نماید (۱).

بر اساس وجود شباهت بین مکانیسم‌های ترمیم زخم و جوان‌سازی پوست، راه‌های زیادی در این راستا وجود دارند. از جمله استفاده از انواع راه‌های درمانی Ablative laser همچون لیزر CO₂ و Er: YAG و نیز RF (Radio frequency) که با ایجاد زخم در سطح پوست، اپی‌درم داخلی را از بین می‌برند و تکثیر و ساخت مجدد پوست و بازسازی مؤثر ماتریکس خارج سلولی را القا می‌کنند؛ اما در کنار آن، عوارض جانبی همچون عفونت، قرمزی و التهاب زیاد را به همراه دارند (۱۷-۱۴، ۹).

لیزر (Ablative fractional photothermolysis) دارای اثرات جانبی کمتری است که با ایجاد آسیب‌های حرارتی در درم و بدون اثر بر روی لایه‌ی اپی‌درم، منجر به فعالیت فیروبلاست و در نتیجه،

بافت سالم و جدید جایگزین بافت نکروز شده و آسیب دیده می‌گردد (۱۱). بالغ‌سازی کلاژن و آپوتوز سلول‌های اضافی در مرحله‌ی پایانی ترمیم زخم، تحت عنوان بازآرایی بافت طی چند هفته تا چند ماه صورت می‌گیرد (۱۲). موقعیت ماتریکس خارج سلولی تحت تأثیر سنتز و تجزیه‌ی کلاژن نوع I به واسطه‌ی MMP-1 حاصل می‌شود (۸).

هدف اصلی در این مرحله، بازسازی و بازآرایی بیشتر بافت در جهت رسیدن به بیشترین میزان شباهت به بافت اصلی آسیب دیده، می‌باشد. ایجاد فرورفتگی یا اسکار حاصل از ترمیم بافت آسیب دیده از نظر بازآرایی کامل و تولید ماتریکس خارج سلولی و فیروبلاست‌ها، نسبت به بافت اصلی و بدون نقص متفاوت است (۱۱). فرایند کامل ترمیم زخم، تعادلی بین گسترش التهاب و از بین بردن اثر آن است که از طریق عوامل رشد و بازآرایی القا شده‌ی درم به واسطه‌ی سنتز کلاژن و گلیکوزآمینوگلیکان‌ها صورت می‌گیرد.

بنابراین، شباهت زیادی بین ترمیم زخم و جوان‌سازی وجود دارد که می‌توان پیری پوست را به عنوان الگویی از زخم در نظر گرفت که ترمیم آن دچار مشکل شده است و با تزریق عوامل رشد، فعالیت کاهش یافته‌ی پوست، تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۶).

راه‌های پیش‌گیری و درمان پیری پوست

یکی از مهم‌ترین راه‌های پیش‌گیری از پیری پوست، محافظت در برابر اشعه‌ی UV می‌باشد که می‌تواند به صورت فیزیکی یا شیمیایی با استفاده از کرم‌های ضد آفتاب مناسب صورت گیرد (۴، ۱).

سنتز کلاژن جدید می‌گردد. تمامی روش‌های درمانی لیزر نه تنها منجر به سنتز کلاژن می‌گردند، بلکه بیان پروتئین‌های شوک حرارتی Hsp70 (Heat shock protein 70) در اپی‌درم اطراف ناحیه‌ی آسیب دیده‌ی حرارتی را نیز القا می‌سازند. تمام سلول‌ها، وقتی در معرض گرما قرار می‌گیرند، پروتئین‌های شرایط استرس در آن‌ها افزایش می‌یابد که به سلول‌ها کمک می‌کند تا از این بحران عبور کنند و مانع از شکل‌گیری ناقص پروتئین‌های تحت تأثیر گرما می‌گردند. بر این اساس، این دسته از پروتئین‌ها بعد از اثر درمانی لیزر حایز اهمیت می‌باشند؛ چرا که در بازآرایی کلاژن‌های سنتز شده مورد نیاز هستند (۹).

نقش پلاکت‌ها در ترمیم زخم

زمانی که جراحی در بافت ایجاد می‌گردد، پلاکت‌ها به سمت رگ‌های خونی آسیب دیده هدایت می‌شوند و در آن‌ها تجمع می‌یابند و از شکل کروی به شکل چسبنده و بزرگ به عنوان فرم فعال شده تغییر شکل می‌دهند. در این حالت، پلاکت‌های فعال شده که حاوی α -گرنول‌های متصل شده به دیواره‌ی خود می‌باشند، محتویات خود را اعم از پروتئین‌ها و عواملی همچون آدنوزین، ترومبین و آدرنالین در محل آزاد می‌کنند و با ایجاد لخته‌های خونی، از خون‌ریزی ممانعت می‌نمایند (۱۱).

۱۰ دقیقه بعد از ایجاد لخته، پروتئین‌های فعال زیستی از پلاکت‌ها ترشح می‌شوند و عوامل رشد ترشح شده از پلاکت‌ها در محل جراحی تجمع می‌یابند. این عوامل رشد، نقش بسیار مهمی در ترمیم بافت آسیب دیده دارند؛ چرا که در خصوص تسریع

فرایند ترمیم زخم، ایفای نقش می‌کنند (۱۱، ۶). از مهم‌ترین عوامل رشد مؤثر در ترمیم زخم می‌توان به Platelet-derived growth factor (PDGF)، Transforming growth factor (TGF)، Platelet factor 4 (PF4)، IGF-1، (Insulin-like growth factor-1) VEGF، (Vascular endothelial growth factor) EGF، (Epidermal growth factor) PDEGF، (Platelet derived epidermal growth factor) ECGF (Endothelial cell growth factor) و نیز سیتوکین‌ها و کموکین‌ها اشاره کرد. این عوامل، با اتصال به گیرنده‌های خود در سطح سلول‌های هدف، مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی را القا می‌کنند و در نهایت، منجر به بیان چندین ژن می‌شوند. حاصل این فرایندها افزایش بیان کلاژن و تکثیر سلولی می‌باشد. این فرایند، می‌تواند با ترشح برخی از سیتوکین‌هایی که در سنتز پلاکت نقش دارند، ادامه یابد (۱۱-۱۰).

هر یک از عوامل رشد به تنهایی یا به همراه سایر عوامل، چندین نقش را در این فرایند ایفا می‌کنند، برای مثال PDGF نه تنها ویژگی کموتاکسی دارد؛ بلکه به همراه دو عامل دیگر TGF-B و IGF در تکثیر سلول‌های بنیادی و رگ‌زایی نقش دارد (۱۱). بعد از ایجاد جراحی، کراتینوسیت‌ها بایستی به محل جراحی مهاجرت کنند که این امر، به واسطه‌ی تغییر در اتصالات سلول به سلول، سلول-ماتریکس و بازآرایی اسکلت سلولی و نیز مولکول‌های چسبنده همچون فیبرین، فیبرونکتین و ویترونکتین موجود در پلاکت‌ها صورت می‌گیرد (۱۳، ۱۰).

ترمیم ناقص زخم‌های مزمن همچون زخم پای

حیاتی در ترمیم و بازسازی زخم را دارا می‌باشند. این اجسام، دارای نیمه‌ی عمر کوتاه، حدود ۱۰ روز، می‌باشند که توسط ماکروفاژها از خون پاک‌سازی می‌گردند (۱۱). اگر چه در طی فرایند ترمیم زخم، نیاز به عوامل داخلی و خارج سلولی است تا بتوانند مسیرهای سیگنالینگ را القا و کنترل کنند، اما پلاکت‌ها با ایفای نقش اصلی خود که ایجاد لخته‌ی خون می‌باشد، موجب هموستازی و فعالیت‌های زیستی می‌گردند (۱۸، ۱۱).

غلظت طبیعی پلاکت‌ها، ۳۵۰۰۰۰-۱۵۰۰۰۰ در هر میکرولیتر خون می‌باشد. منظور از PRP، افزایش ۳-۵ برابر غلظت پلاکت‌ها در هر میکرولیتر خون است (حدود ۱۰۰۰۰۰۰ پلاکت در هر میکرولیتر) (۱۰).

عوامل رشدی موجود در پلاکت‌ها از جمله PDGF، TGF، VEGF و EGF، نقش اصلی در ترمیم زخم و هموستازی دارند. بنابراین، با توجه به غلظت بالای عوامل رشد در PRP، این محصول می‌تواند در تسریع و بهبود فرایند ترمیم زخم مؤثر باشد (۱۰، ۸). این روش از سال ۱۹۷۰ به کار گرفته شده است که به واسطه‌ی افزایش عوامل رشد، منجر به افزایش تکثیر و تمایز سلولی می‌گردد (۱۰). از آن جا که از فرد داوطلب خون گرفته و بعد از غلیظ‌سازی به همان فرد تزریق می‌شود، هیچ گونه نگرانی از نظر انتقال بیماری‌هایی همچون ایدز، هپاتیت و سایر بیماری‌های ویروسی وجود ندارد (۲۰-۱۹، ۱۳، ۱۱).

این محصول، می‌تواند در ترمیم زخم بافت‌های نرم همچون ماهیچه‌ها، تاندون‌ها و بافت‌های سخت همچون استخوان آسیب دیده، جراحی ستون فقرات، جراحی‌های زیبایی و زخم‌های مزمن همچون زخم پای ناشی از دیابت بسیار مؤثر باشد (۲۱).

ناشی از دیابت، به واسطه‌ی توقف چرخه‌ی سلول در فیبروبلاست‌ها، عدم رگ‌زایی و نقص در مهاجرت کراتینوسیت‌ها و فیبروبلاست‌ها و وجود بیش از حد ماتریکس خارج سلولی صورت می‌گیرد (۸-۷). بنابراین، چرخه‌ی سلولی متوقف شده، می‌تواند با وجود چندین محرک همچون عوامل رشد فعال گردد. بدین منظور، فیبروبلاست‌ها در جوان‌سازی پوست به عنوان فرایند پیچیده‌ای که از بازآرایی مجدد کلاژن‌ها حاصل می‌گردد، نقش مؤثری در برهم‌کنش کراتینوسیت‌ها، ماست‌سل‌ها و سلول‌های چربی دارند. همچنین، این سلول‌ها به واسطه‌ی تولید ماتریکس خارج سلولی، گلیکوپروتئین‌ها، مولکول‌های چسبنده و سیتوکین‌ها نیز در این امر بسیار حایز اهمیت می‌باشند (۱۱). بر این اساس، می‌توان با تحریک تولید پروتئین‌ها و گلیکوپروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی، در کمک به فیبروبلاست‌ها برای برهم‌کنش سلول به سلول، استحکام پوستی را افزایش داد (۲). از آن جایی که بسیاری از عوامل رشد می‌توانند تکثیر کلاژن، فیبروبلاست‌ها و کراتینوسیت‌ها را تحت تأثیر قرار دهند، در جوان‌سازی پوست نقش به‌سزایی دارند (۶، ۲). از این رو، پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) می‌تواند در این امر مؤثر باشد.

تعریف پلاسمای غنی از پلاکت (PRP)

پلاکت‌ها اجسام بدون هسته‌ای هستند که از مغز استخوان منشأ می‌گیرند و حاوی گرانول‌ها و میتوکندری‌ها به همراه گیرنده‌های گلیکوپروتئینی در سطح خود می‌باشند. α - گرانول‌ها، حاوی پروتئین‌ها، سیتوکین‌ها و سایر عوامل فعال زیستی می‌باشند و به طور کل، نقش ذخیره‌ی داخل سلولی پروتئین‌ای

آن چه که بسیار حایز اهمیت است، نسبت غلظت پلاکت‌ها و روش جداسازی آن‌ها می‌باشد و میزان اثربخشی آن می‌تواند تحت تأثیر نسبت غلظت پلاکت، حجم PRP حاصل جهت تزریق، نوع و میزان جراحی ایجاد شده و ویژگی‌های فردی قرار گیرد. وجود تنوع در عوامل مؤثر در میزان اثربخشی این محصول، منجر به عدم وجود نتایج جامع از نظر تأثیرات پزشکی این محصول شده است (۲۲، ۱۱).

روش تهیه و آماده‌سازی پلاسمای غنی از پلاکت (PRP)

در مقالات مختلف، روش‌های گوناگونی برای تهیهی PRP گزارش شده است. جهت تهیهی PRP، خون فرد داوطلب به همراه مواد ضد انعقاد خون همچون EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) یا سیترات گرفته و با روش‌های تک سانتریفیوژ یا دابل سانتریفیوژ آماده می‌شود. در اولین مرحلهی تهیه یا مرحلهی تک سانتریفیوژ، جداسازی اجزای خونی صورت می‌گیرد که سه لایه در لوله ایجاد می‌گردد: پایین‌ترین سطح را سلول‌های قرمر خون تشکیل می‌دهند که توسط لایه‌ی بافی‌کوت که حاوی سلول‌های سفید و پلاکت‌ها هستند، از پلاسمای جدا می‌گردند. روش دابل سانتریفیوژ، تنها برای افزایش بیشتر غلظت پلاکت‌ها صورت می‌گیرد که به آن پلاسمای غلیظ شده از پلاکت نیز (PCP یا Platelet-concentrated plasma) گفته می‌شود (۱۱-۱۰).

تمام روش‌های ذکر شده در مقالات، در میزان سرعت سانتریفیوژ به کار گرفته شده متفاوت هستند. بنابراین عدم وجود یک روش استاندارد، خلأ بزرگی

در بررسی تأثیر واحد ایجاد کرده است. به این منظور، طی مطالعه‌ای که Araki و همکاران انجام دادند، بهترین میزان سرعت در اولین مرحلهی سانتریفیوژ را RCF (Relative centrifugal force) ۲۷۰-۲۳۰ مشخص کردند که در مقایسه با سایر روش‌ها، بیشترین میزان پلاکت را می‌تواند ایجاد کند. آن‌ها معتقد بودند که سرعت بالاتر (RCF ۲۳۳۰) سانتریفیوژ در مرحلهی دوم مورد نیاز است (۲۳).

مطالعه‌ی دیگری که توسط Castillo و همکاران صورت گرفت، وجود لوکوسیت‌ها در محصول نهایی PRP را به عنوان یک شاخص مهم در نظر گرفته است؛ چرا که لوکوسیت‌ها، ترشح عوامل رشد از پلاکت‌ها را القا و در نتیجه، در تسریع ترمیم زخم مؤثر هستند و نه تنها نقش ضد میکروبی دارند؛ بلکه در ایجاد التهاب موضعی نیز مؤثرند (۲۴). اما در مطالعه‌ی دیگری نشان می‌دهد که پلاکت‌ها علاوه بر عوامل رشد، مواد ضد التهابی از جمله RANTES (Regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted) و LXA₄ و Lipoxin A₄) و پپتیدهای ضد میکروبی نیز تولید می‌کنند. وجود لوکوسیت‌ها در محصول نهایی، می‌تواند منجر به افزایش التهاب و کاهش بازسازی بافت گردد (۲۲). نکته‌ی مهمی که در تهیهی PRP می‌بایست در نظر گرفت، این است که هر چه سرعت جداسازی بیشتر باشد، تعداد پلاکت‌های بیشتر و لوکوسیت‌های کمتری در محصول نهایی حاصل خواهد شد (۲۳).

به دنبال بررسی‌های صورت گرفته، استفاده از CaCl_۲ به عنوان فعال‌کنندهی پلاکت می‌تواند پاسخ سلولی اختصاصی ایجاد کند که به دنبال آن، منجر به

بنا بر نقش کلیدی عوامل رشدی در ترمیم زخم، مطالعات بسیاری تأثیر این محصول را در تسریع بهبود انواع زخم اعم از زخم‌های مزمن و حاد بررسی کردند. طی یک مطالعه‌ی سیستماتیک مروری، بررسی ۲۰ مطالعه‌ی RCT (Randomized controlled trial) اعم از ۱۱ مورد جراحی صورت، ۷ مورد زخم مزمن پوستی و ۲ جراحی دهان که از این تعداد، ۴ مطالعه RCT در مورد زخم‌های عمیق پیودنتیست و جراحی‌های دهان و ۶ مطالعه‌ی RCT در مورد بازسازی و بهبود زخم‌های مزمن پوستی بود، نشان داد که PRP در کاهش عمق زخم‌های پیودنتیست نقش دارد؛ اما در اپیتالاسیون کامل زخم‌های مزمن پوستی، نتایج قاطع و کاملی حاصل نشده و مطالعات بیشتری لازم است (۱۹).

مطالعه‌ی سیستماتیک مروری دیگری در زمینه‌ی جراحی پلاستیک و اثر PRP صورت گرفت که طی آن، ۱۵ مطالعه‌ی RCT، ۲۵ مطالعه‌ی مورد-شاهدی (Case-control) به همراه ۳۶ مطالعه با بررسی اثر PRP نشان داد که PRP میزان بقای چربی تزریق شده را افزایش و ترمیم زخم را بهبود می‌دهد (۲۸). همچنین، مطالعات دیگری نیز تأثیر مطلوب PRP در زمینه‌ی بهبود و ترمیم زخم را نشان داده‌اند (جدول ۱). در زمینه‌ی جوان‌سازی و زیبایی پوست، مطالعات کم با نتایج گوناگونی حاصل شده است که می‌توان در کل، اثر مطلوب پلاسمای غنی از پلاکت همراه با رضایتمندی داوطلبان را در نظر گرفت (جدول ۲). این مطالعات، نتیجه‌ی قطعی مبنی بر اثر ۱۰۰ درصد PRP در زیبایی را نشان نمی‌دهند، اما به کارگیری این روش همراه با سایر روش‌های جوان‌سازی از جمله لیزر درمانی و تزریق چربی، می‌تواند با افزایش

افزایش غلظت عوامل رشد مؤثر همچون PDGF و IGF و کاهش عوامل HGF و VEGF می‌شود که می‌تواند در زمینه‌ی رگ‌زایی اهمیت به‌سزایی داشته باشد (۲۵).

مطالعه‌ای دال بر ارتباط بین غلظت پلاکت‌ها در PRP و تأثیر بیشتر آن‌ها در فرایند ترمیم زخم وجود ندارد، اما تغییرات pH که به دنبال غلظت بالای PRP در محل تزریق حاصل می‌شود، به عنوان یک عامل داخلی مؤثر در تکثیر و ترمیم زخم در نظر گرفته شده است (۲۶). در بسیاری از مطالعات صورت گرفته، اثر درمانی PRP با غلظت $10^3 / \mu\text{L} \times 1000$ مطرح شده است. در حالی که سایر مطالعات، غلظت $10^3 / \mu\text{L} \times 200$ را به عنوان غلظت مطلوب برای کاربردهای درمانی PRP در نظر گرفته‌اند. هر چند در برخی از مقالات، اشاره به این داشتند که غلظت بیشتر از ۳/۵ برابر پلاکت‌ها، می‌تواند با عوارض جانبی بیشتری همراه باشد (۲۷).

کاربرد بالینی PRP در جوان‌سازی پوست و ترمیم زخم

پیدا کردن راه درمانی مناسب با کمترین آسیب پوستی، در جهت جوان‌سازی پوست و زیبایی، خواسته‌ی همه‌ی جوامع می‌باشد. بنابراین، پلاسمای غنی از پلاکت در زمینه‌ی جوان‌سازی پوست و تأثیر آن در جراحی‌های زیبایی به واسطه‌ی نقش آن در فرایند ترمیم زخم، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. با وجود مطالعات گسترده و عدم وجود نتیجه‌ی ثابت دال بر تأثیر درمانی PRP در ارتباط با جوان‌سازی پوست، همچنان اثر درمانی این محصول را به چالش می‌کشد.

استحکام و ثبات بیشتر پوست و کاهش التهاب و زمان بهبودی همراه باشد (جدول‌های ۱ و ۲).

بررسی اثر PRP در *In vitro*

زخم‌های مزمن با توقف چرخه‌ی سلولی و میزان پایین تکثیر سلولی همراه هستند. اپیتالاسیون در این زخم‌ها، به دلیل نقص در مهاجرت سلول‌های کراتینوسیت به محل آسیب، به تعویق می‌افتد و پروتئین‌های سیکلین E و CDK ۴ در مهاجرت سلولی نقش مؤثری دارند. بنابراین، مطالعه‌ای در خصوص اثر PRP در مهاجرت و فعال‌سازی سلول‌های کراتینوسیت صورت گرفته است که اثر این محصول را در غلظت‌های مختلف ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد بر روی سلول‌های کراتینوسیت بررسی کرده است و حاکی از افزایش مهاجرت و تکثیر این سلول‌ها تحت تأثیر PRP در محل آسیب بوده

است (۷). از طرف دیگر، Kim و همکاران نشان داد که غلظت ۵ درصد PRP نه تنها باعث افزایش تکثیر سلولی سلول‌های فیبروبلاست (HDF یا Human dermal fibroblasts) می‌شود، بلکه بیان پروتئین‌های کلاژن نوع I و MMP-۱ را نیز افزایش می‌دهد که می‌تواند اشاره به نقش پلاکت‌ها در بازآرایی ماتریکس خارج سلولی داشته باشد (۳). مطالعه‌ی دیگری اثر PRP در تنظیم کننده‌های چرخه‌ی سلولی را نشان داده است که بیان پروتئین‌های سیکلین E، A و CDK ۲ را در سلول‌های (HDF) افزایش می‌دهد (۸). در تأیید این نتایج، Kim و همکاران نشان داد که غلظت ۵ درصد PRP در مهاجرت و تکثیر سلولی (HDF) مؤثر می‌باشد و منجر به افزایش بیان سیکلین A و CDK ۴ می‌گردد (۷).

جدول ۱. بررسی اثر PRP Platelet-rich plasma در ترمیم زخم

نویسنده	تعداد بیمار	مدل مطالعه	مدت زمان مطالعه	روش درمانی	نتایج
Kim و همکاران (۷)	۱۶	بیماران با زخم‌های مزمن و حاد در نقاط مختلف بدن	چکاپ هر هفته و دنبال‌سازی مطالعه تا بهبودی کامل	تزریق PRP دو بار یا یک بار در هفته و استفاده از پانسمان فوم بعد از تزریق	۱۰۰-۹۰ درصد اپیتالاسیون زخم‌های مزمن در ۱۸ و ۱۵ روز و بهبودی ۱۰۰-۸۰ درصد زخم‌های حاد بعد از ۲۰-۴ روز
Na و همکاران (۲۹)	۲۵	بیماران با زخم Bilateral inner arms	۲۸ روز	به طور تصادفی قسمت‌هایی از زخم تحت تأثیر لیزر FxCR و PRP و قسمتی دیگر تحت تأثیر محلول سالین به عنوان شاهد قرار گرفتند.	بهبود سریع‌تر زخم‌های تحت تأثیر PRP و کاهش التهاب در مقایسه با قسمت‌های شاهد
Willemsen و همکاران (۳۰)	۸۲	Case-report	۴ گروه بیمار که گروه اول تنها تزریق چربی، گروه دوم PRP و تزریق چربی، گروه سوم تزریق چربی به همراه ریتایدکتومی و گروه چهارم ریتایدکتومی و PRP دریافت کردند.	کاهش مدت زمان بهبودی در هر دو گروه تحت تأثیر PRP در مقایسه با دو گروه دیگر و نتیجه‌ی بهتر زیبایی در گروه سه و چهار در مقایسه با گروه‌های یک و دو	

PRP: Platelet-rich plasma; FxCR: Fractional carbon dioxide laser resurfacing

جدول ۲. اثر Platelet-rich plasma (PRP) در جوان‌سازی پوست

نویسنده	تعداد بیمار	مدت زمان مطالعه	روش درمانی	مدل مطالعه	نتایج
مهریان و همکاران (۳۱)	۱۰	۳ ماه	۱۰ بیمار با میانگین سنی ۴۱/۲ سال با چروک و سیاهی دور چشم و یک بار تزریق PRP	پابلوت	نتیجه‌ی معنی‌داری از نظر آماری در میزان بهبودی خطوط دور چشم حاصل نشد؛ در حالی که از نظر رفع سیاهی پای چشم، به طور کامل معنی‌دار و رضایت‌مندی بیماران ۲/۲ در دامنه‌ی ۰-۳ بود.
Mikhael و El-Esawy (۳۲)	۲۰	۶ ماه	هر ماه تزریق PRP در طی ۳ ماه	بیماران با خطوط افقی و عمودی صورت و اطراف چشم با میانگین سنی ۳۰-۵۵ سال	بهبودی ۵۸ درصد در خط خنده و خطوط پای چشم بیماران و بهبودی ۳۸/۸ درصد در خطوط عمیق اطراف بینی مشاهده شد.
Yuksel و همکاران (۳۳)	۱۰	۳ ماه	۳ بار تزریق PRP در طی ۲ هفته	با میانگین سنی ۵۰ سال با خطوط پیشانی، گونه‌ها و اطراف چشم	نتیجه‌ی معنی‌داری در خصوص استحکام پوست و کاهش خطوط حاصل شد، اما از نظر خال و لک‌های پوستی، تغییری ایجاد نشد.
Shin و همکاران (۳۴)	۲۰		۱۱ بیمار به طور تصادفی انتخاب و تحت تأثیر PRP و لیزر فرکشنال قرار گرفتند.	با میانگین سنی ۴۳/۷ سال با وجود نشانه‌های پیری در پوست	روش ترکیبی لیزر و PRP با افزایش استحکام و ثبات پوستی و کاهش التهاب و قرمزی همراه بود.
Redaelli و همکاران (۳۵)	۲۳	۳ ماه	هر ماه تزریق PRP	با میانگین سنی ۴۷ سال با وجود نشانه‌های پیری پوست در صورت و گردن	بهبود ۱۵-۳۰ درصد در خطوط صورت و گردن به همراه رضایت‌مندی بیماران مشاهده شد.

PRP: Platelet-rich plasma

داد که این محصول، می‌تواند سرعت ترمیم زخم را به همراه سنتز پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی و جوان‌سازی پیری القا شده توسط اشعه‌ی UV افزایش دهد (۲). مطالعه‌ی دیگری در خصوص ترمیم زخم در اندام تحتانی اسب صورت گرفت که اثر پلاسمای غنی از پلاکت‌ها را در تسریع ترمیم و بازسازی زخم تأیید کرد (۳۷).

عدم وجود روشی استاندارد و بهینه در زمینه‌ی کاربرد PRP در ترمیم زخم حیوانات نیز از مشکلات این روش می‌باشد که در این خصوص Nagata و

مطالعه‌ای در خصوص تأثیر رگ‌زایی این محصول بر روی سلول‌های اندوتلیال انسانی (HUVECs) یا Human umbilical vein endothelial cells انجام گرفت که حاکی از تأثیر PRP در القای فسفریلاسیون عوامل رونویسی ERK و AKT مؤثر در رگ‌زایی بود (۳۶).

اثر PRP در In vivo

تأثیر PRP به مدت ۴ هفته در جوان‌سازی پوست‌های آسیب دیده‌ی موش‌های تحت تأثیر اشعه‌ی UV نشان

رونویسی سایر ژن‌ها همچون STAT و SMAD می‌باشند. بنابراین، عوامل رشد با اثر در تنظیم فعالیت سلولی، می‌توانند در چند مرحله‌ی گسترش تومور نقش داشته باشند (۴۰).

ارتباط میان برخی از عوامل رشد و انکوژن‌ها، نقش PRP را در ایجاد سرطان پررنگ‌تر می‌سازد. شباهت زیاد بین محصولات ویروس سارکوما (SSV یا Simian sarcoma virus) و عامل رشد PDGF-B (Platelet-derived growth factor) و نیز گیرنده‌ی EGF (EGFR/ERB-1) به ژن erb در ویروس اریترو بلاستوسیس اثبات شده است. همچنین، عوامل رشد بیان برخی از پرو-انکوژن‌ها همچون myc و fos را افزایش می‌دهند (۴۱).

یکی از انکوژن‌هایی که نقش اساسی در مسیر سیگنالینگ دارد، پروتئین P21-Ras می‌باشد که توسط عوامل رشد، القا می‌گردد (۴۳). در میان عوامل رشد، PDGF به عنوان یک میتوژن نام برده می‌شود که پاسخ کموتاکسی را در فیروبلاست‌ها و سلول‌های SMC (Smooth muscle cell) القا می‌کند و نه تنها سنتز DNA را القا می‌کند، بلکه منجر به فعال‌سازی چرخه‌ی سلولی حتی در نبود سایر عوامل می‌شود. هر چند وجود چندین عامل رشد برای میتوژن کردن سلول لازم است، اما عوامل رشد می‌توانند با ایجاد جهش در انکوژن‌ها، سلول‌های زیادی را برای توموری شدن مستعد کنند (۴۰-۴۱).

با اتصال عامل رشد به گیرنده‌ی اختصاصی خود، مسیرهای سیگنالینگ القا می‌شوند که در نهایت، منجر به تکثیر سلول و فعال‌سازی برخی از اجزای داخل سلولی می‌گردند. پاسخ‌های سلولی در این مسیر به این ترتیب می‌باشند: (۱) ایجاد تغییراتی در گیرنده‌ها که بعد

همکاران، مطالعه‌ای بر روی خرگوش‌ها انجام و نشان دادند که روش دابل سانتریفیوژ، در مقایسه با روش تک سانتریفیوژ، از نظر غلظت پلاکت‌ها بسیار بهینه و مؤثر می‌باشد (۳۸).

عوارض احتمالی کاربرد بالینی

تاکنون مطالعه‌ی جامعی در خصوص بررسی ایمن بودن این محصول صورت نگرفته است؛ مگر در چند مورد که عوارضی همچون عفونت آماس و ورم را گزارش دادند (۳۹). در اکثر مطالعات، به دلیل عدم انتقال بیماری‌های ویروسی خطرناک از جمله ایدز و هپاتیت، آن را ایمن در نظر دارند. اما در کنار ایمن بودن این محصول، نگرانی در خصوص نقش احتمالی PRP در ایجاد سرطان وجود دارد که در این مطالعه سعی شد به آن پرداخته شود.

از آن جایی که عوامل رشد، القا کننده‌ی چرخه و تکثیر سلولی در بافت‌ها و سلول‌هایی هستند که این چرخه در آن‌ها متوقف شده است، بنابراین پلاسمای غنی از پلاکت، به عنوان منبع غنی از این عوامل، می‌تواند ایجاد تومور را القا کند. وجود این گونه نگرانی‌ها، می‌تواند تأثیر به‌سزایی در تمایل استفاده از این محصول در مصارف بالینی داشته باشد.

ایجاد و گسترش کارسینوما به چندین مرحله و موتاسیون نیاز دارد که با عوامل رشد شروع می‌گردند. به محض اتصال عوامل رشد به گیرنده‌های اختصاصی خود و فعال‌سازی کینازها، قادر به القای چندین مسیر سیگنالی داخل سلولی از جمله MAPK، فسفاتیدیل اینوزیتول ۳- فسفات PI3P (Phosphatidylinositol³-phosphate)، فسفولیپاز C- γ ، عوامل رونویسی القا کننده و فعال کننده‌ی

پای ناشی از دیابت به طور گسترده‌ای مورد مصرف قرار می‌گیرد، می‌تواند منجر به افزایش نگرانی در خصوص خطر سرطان گردد. مطالعات گسترده‌ای در خصوص بررسی ایمن بودن این دارو صورت گرفته است، از جمله مطالعه‌ی هم‌گروهی که به مدت ۶ سال انجام شد و ایمن بودن این دارو را ثابت کرد که از نظر آماری معنی‌دار بود (۴۴).

مطالعه‌ی دیگری، نتایجی دال بر عدم وجود نقش کارسینوژنی این دارو را نشان داد (۴۵). با این وجود، در مورد بیماری‌هایی که در معرض این دارو به میزان بیشتر از ۳ تیوب قرار می‌گیرند، نگرانی احتمال افزایش خطر ایجاد تومور وجود دارد (۴۶).

عوامل رشد حاصل از پلاکت‌های فعال شده، تأثیر پاراکرینی دارند و تنها بر روی سلول‌های محل ترشح می‌توانند اثر کنند و خاصیت اندوکرینی همچون هورمون‌ها را ندارند (۴۵، ۴۱). از طرف دیگر، فعالیت پاراکرینی PDGF توسط برخی از عوامل داخلی محدود می‌شود. وجود پروتئین‌های پلاسمایی متصل شونده به PDGF از جمله α_2 -ماکرو گلوبولین، می‌تواند پاک‌سازی این مواد را از داخل خون تسریع کند. در پاسخ به وجود پروتئازها و التهاب در محل جراحی، این پروتئین‌های پلاسمایی ظاهر می‌شوند و پاک‌سازی این عوامل را تسریع می‌کنند. به دنبال مطالعات *In vivo*، ۶۰-۷۰ درصد از PDGFها طی ۱ ساعت از محل القا آزاد می‌گردند (۴۵).

علاوه بر تأثیر عوامل رشد در ایجاد تومور، نقش پلاکت‌ها نیز در گسترش و متاستاز سرطان مشخص شده است. وجود ترومبین به عنوان مهم‌ترین فعال کننده‌ی پلاکت‌ها در سلول‌های توموری و به دنبال آن، افزایش بیان مولکول‌های چسبنده در سطح

از اتصال لیگاند القا می‌شود، (۲) فسفریلاسیون برخی از اجزای داخل سلولی همچون پروتئین‌های وابسته به کلسیم، وینکولین، موتاس و گلیکوتیک انول‌ها، (۳) افزایش IP_3 (Inositol triphosphate) و DAG (Diacylglycerol) و کلسیم آزاد به همراه فعال‌سازی پروتئین PKC (Protein kinase C) و بازآرایی اسکلت سلولی، (۴) شروع بیان ژن طی ۲۰ دقیقه تا ۴ ساعت بعد از فعال‌سازی این مسیر سیگنالینگ، و در نهایت، (۵) القای تکثیر سلولی (۴۲-۴۰).

در طی فرایند آبخاری پیش‌گفته، مرحله‌ی فعال‌سازی عوامل رونویسی اهمیت به‌سزایی دارند؛ چرا که می‌توانند منجر به بیان c-انکوژن‌ها گردند. این فرایند، می‌تواند در فیبروبلاست‌ها دیده شود که تحت تأثیر PDGF می‌میزان mRNA (Messenger RNA) ژن‌های c-fos و c-myc ۴۰ برابر افزایش پیدا می‌کند. میزان mRNA مربوط به c-myc، می‌تواند تحت تأثیر EGF و FGF در فیبروبلاست‌ها نیز افزایش یابد. کثرت mRNA ژن‌های c-fos و c-myc، با میزان تکثیر سلولی مرتبط می‌باشد. بنابراین، هیچ شکمی وجود ندارد که تحریک مداوم انکوژن‌ها تحت تأثیر عوامل رشد، منجر به ایجاد سرطان بورکیت لیمفوما می‌گردد (۴۱).

سلول‌های جدا شده از تومورهای انسانی و سلول‌های سرطانی شده توسط ویروس‌ها یا مواد شیمیایی، می‌توانند میزان تکثیر سلولی خود را با عوامل رشد که خود ایجاد می‌کنند، به عنوان Self-stimulator افزایش دهند (۴۳، ۴۰).

پتانسیل عوامل رشد در ایجاد تومورها یک موضوع بحث برانگیز است. داروی Becaplermin که یک عامل رشد نو ترکیب می‌باشد و برای درمان زخم

پلاکت‌ها، منجر به اتصال پلاکت‌ها به این سلول‌ها می‌شود. بر این اساس، میزان بالای پلاکت‌ها در بیماران مبتلا به سرطان دیده می‌شود (۴۷).

نتیجه‌گیری

عدم وجود نتیجه‌ی قطعی از اثر درمانی PRP را می‌توان به دلیل نبود روشی استاندارد و بهینه استنباط کرد. با وجود مطالعات اخیر در راستای بهینه‌سازی تولید این محصول (۲۲)، می‌توان به نتایج بهتر و جامعی در این خصوص دست یافت که نیاز به مطالعات طولانی در طی سال‌های متمادی دارد.

همان‌طور که گفته شد، با توجه به افزایش PDGF-BB/PDGF α در برخی از بافت‌های توموری، می‌توان به ارتباط PDGF با خطر سرطان پی برد. ایجاد تومورهای وابسته به PDGF، مستلزم تولید مداوم این عامل رشد برای تغییر سلول‌ها به فرم سرطانی می‌باشد و با حذف این عوامل از محل، می‌توان اثر آن‌ها را مبنی بر القای تومور به سلول‌ها از بین برد (۴۵).

همچنین، از طول عمر کوتاه این پروتئین‌ها (۴۵) به همراه فعالیت پاراکرینی (۴۱-۴۰) آن‌ها، می‌توان این گونه استنباط کرد که عوارض جانبی عوامل رشد با PRP درمانی رابطه‌ای ندارد و بیمارانی که در معرض مداوم PRP قرار می‌گیرند، در معرض خطر هستند. اما از طرف دیگر، نقش عوامل رشد در القای پروتئوکوزن‌ها می‌تواند اثر احتمالی پلاکت‌های غلیظ شده، به عنوان منبع غنی از این گونه میتوزن‌ها را هشدار دهد. در حالی که بایستی در نظر گرفته شود که برای تبدیل سلول‌های سالم به سلول‌های مبتلا به تومور، نیاز به چندین عامل رشد برای تکثیر و تجمع زیاد تغییرات ژنتیکی لازم می‌باشد.

بنابراین، روش پیش گفته می‌تواند برای افراد مستعد سرطان با سابقه‌ی فامیلی یا افرادی که دارای تومورهای سرطانی بودند، یک هشدار مهم تلقی شود.

با این وجود، نیاز به مطالعات بیشتری مبنی بر بررسی اثر احتمالی PRP در ایجاد تومور اعم از مطالعات *In vitro*، *In vivo* و هم‌گروهی می‌باشد.

References

- Kohl E, Steinbauer J, Landthaler M, Szeimies RM. Skin ageing. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011; 25(8): 873-84.
- Cho JM, Lee YH, Baek RM, Lee SW. Effect of platelet-rich plasma on ultraviolet b-induced skin wrinkles in nude mice. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2011; 64(2): e31-e39.
- Kim DH, Je YJ, Kim CD, Lee YH, Seo YJ, Lee JH, et al. Can Platelet-rich Plasma Be Used for Skin Rejuvenation? Evaluation of Effects of Platelet-rich Plasma on Human Dermal Fibroblast. *Ann Dermatol* 2011; 23(4): 424-31.
- Naylor EC, Watson RE, Sherratt MJ. Molecular aspects of skin ageing. *Maturitas* 2011; 69(3): 249-56.
- Banihashemi M, Nakhaeizadeh S. An introduction to application of Platelet Rich Plasma (PRP) in skin rejuvenation. *Rev Clin Med* 2014; 1(2): 38-43.
- Fabi S, Sundaram H. The potential of topical and injectable growth factors and cytokines for skin rejuvenation. *Facial Plast Surg* 2014; 30(2): 157-71.
- Kim SA, Ryu HW, Lee KS, Cho JW. Application of platelet-rich plasma accelerates the wound healing process in acute and chronic ulcers through rapid migration and upregulation of cyclin A and CDK4 in HaCaT cells. *Mol Med Rep* 2013; 7(2): 476-80.
- Cho JW, Kim SA, Lee KS. Platelet-rich plasma induces increased expression of G1 cell cycle regulators, type I collagen, and matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts. *Int J Mol Med* 2012; 29(1): 32-6.

9. Helbig D, Paasch U. Molecular changes during skin aging and wound healing after fractional ablative photothermolysis. *Skin Res Technol* 2011; 17(1): 119-28.
10. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med* 2009; 37(11): 2259-72.
11. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118(6): 147e-59e.
12. Akhundov K, Pietramaggiore G, Waselle L, Darwiche S, Guerid S, Scaletta C, et al. Development of a cost-effective method for platelet-rich plasma (PRP) preparation for topical wound healing. *Ann Burns Fire Disasters* 2012; 25(4): 207-13.
13. Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Jimbo R, Barbe G, Del CM, Inchingolo F, et al. Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Curr Pharm Biotechnol* 2012; 13(7): 1145-52.
14. Jaffary F, Nilforoushzadeh MA, Zarkoob H. Patient satisfaction and efficacy of accent radiofrequency for facial skin wrinkle reduction. *J Res Med Sci* 2013; 18(11): 970-5.
15. Nilforoushzadeh MA, Jaffary F, Ansari N, Moradi S, Siadat AH. The comparison between trichloroacetic Acid 50% and co(2) laser in the treatment of cutaneous leishmaniasis scar. *Indian J Dermatol* 2011; 56(2): 171-3.
16. Nilforoushzadeh MA, Faghihi G, Jafari F, Haftbaradaran E, Hoseini SM, Mazaheri N. Comparison of fractional carbon dioxide laser alone and in combination with subcision in improving atrophic acne scars. *J Isfahan Med Sch* 2013; 31(226): 131-7. [In Persian].
17. Nilforoushzadeh MA, Jaffary F, Derakhshan R, Haftbaradaran E. Comparison between intralesional meglumine antimoniate and combination of trichloroacetic acid 50% and intralesional meglumine antimoniate in the treatment of acute Cutaneous lishmaniasis. *Skin & Leishmaniasis* 2010; 1(1): 18-22.
18. Prakash S, Thakur A. Platelet concentrates: past, present and future. *J Maxillofac Oral Surg* 2011; 10(1): 45-9.
19. Martinez-Zapata MJ, Marti-Carvajal A, Sola I, Bolibar I, Angel EJ, Rodriguez L, et al. Efficacy and safety of the use of autologous plasma rich in platelets for tissue regeneration: a systematic review. *Transfusion* 2009; 49(1): 44-56.
20. Langer A, Rogowski W. Systematic review of economic evaluations of human cell-derived wound care products for the treatment of venous leg and diabetic foot ulcers. *BMC Health Serv Res* 2009; 9: 115.
21. Kakudo N, Kushida S, Minakata T, Suzuki K, Kusumoto K. Platelet-rich plasma promotes epithelialization and angiogenesis in a splitthickness skin graft donor site. *Med Mol Morphol* 2011; 44(4): 233-6.
22. Amable PR, Carias RB, Teixeira MV, da CP, I, Correa do Amaral RJ, Granjeiro JM, et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther* 2013; 4(3): 67.
23. Araki J, Jona M, Eto H, Aoi N, Kato H, Suga H, et al. Optimized preparation method of platelet-concentrated plasma and noncoagulating platelet-derived factor concentrates: maximization of platelet concentration and removal of fibrinogen. *Tissue Eng Part C Methods* 2012; 18(3): 176-85.
24. Castillo TN, Pouliot MA, Kim HJ, Dragoo JL. Comparison of growth factor and platelet concentration from commercial platelet-rich plasma separation systems. *Am J Sports Med* 2011; 39(2): 266-71.
25. Hamilton B, Tol JL, Knez W, Chalabi H. Exercise and the platelet activator calcium chloride both influence the growth factor content of platelet-rich plasma (PRP): overlooked biochemical factors that could influence PRP treatment. *Br J Sports Med* 2015; 49(14): 957-60.
26. Graziani F, Ivanovski S, Cei S, Ducci F, Tonetti M, Gabriele M. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clin Oral Implants Res* 2006; 17(2): 212-9.
27. Mazzocca AD, McCarthy MB, Chowaniec DM, Cote MP, Romeo AA, Bradley JP, et al. Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability. *J Bone Joint Surg Am* 2012; 94(4): 308-16.
28. Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema H, Verbelen J, Stillaert FB, Monstrey S. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: a systematic review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2013; 66(3): 301-11.
29. Na JI, Choi JW, Choi HR, Jeong JB, Park KC, Youn SW, et al. Rapid healing and reduced erythema after ablative fractional carbon dioxide laser resurfacing combined with the application of autologous platelet-rich plasma. *Dermatol Surg* 2011; 37(4): 463-8.
30. Willemsen JC, van der Lei B, Vermeulen KM,

- Stevens HP. The effects of platelet-rich plasma on recovery time and aesthetic outcome in facial rejuvenation: preliminary retrospective observations. *Aesthetic Plast Surg* 2014; 38(5): 1057-63.
31. Mehryan P, Zartab H, Rajabi A, Pazhoohi N, Firooz A. Assessment of efficacy of platelet-rich plasma (PRP) on infraorbital dark circles and crow's feet wrinkles. *J Cosmet Dermatol* 2014; 13(1): 72-8.
 32. Mikhael NW, El-Esawy FM. Skin rejuvenation with autologous concentrated platelet-rich plasma. *Egypt J Dermatol Venereol* 2014; 34(1): 5-9.
 33. Yuksel EP, Sahin G, Aydin F, Senturk N, Turanli AY. Evaluation of effects of platelet-rich plasma on human facial skin. *J Cosmet Laser Ther* 2014; 16(5): 206-8.
 34. Shin MK, Lee JH, Lee SJ, Kim NI. Platelet-rich plasma combined with fractional laser therapy for skin rejuvenation. *Dermatol Surg* 2012; 38(4): 623-30.
 35. Redaelli A, Romano D, Marciano A. Face and neck revitalization with platelet-rich plasma (PRP): clinical outcome in a series of 23 consecutively treated patients. *J Drugs Dermatol* 2010; 9(5): 466-72.
 36. Kakudo N, Morimoto N, Kushida S, Ogawa T, Kusumoto K. Platelet-rich plasma releasate promotes angiogenesis in vitro and in vivo. *Med Mol Morphol* 2014; 47(2): 83-9.
 37. Carter CA, Jolly DG, Worden CE, Sr., Hendren DG, Kane CJ. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Exp Mol Pathol* 2003; 74(3): 244-55.
 38. Nagata MJ, Messoria MR, Furlaneto FA, Fucini SE, Bosco AF, Garcia VG, et al. Effectiveness of two methods for preparation of autologous platelet-rich plasma: an experimental study in rabbits. *Eur J Dent* 2010; 4(4): 395-402.
 39. Senet P, Bon FX, Benbunan M, Bussel A, Traineau R, Calvo F, et al. Randomized trial and local biological effect of autologous platelets used as adjuvant therapy for chronic venous leg ulcers. *J Vasc Surg* 2003; 38(6): 1342-8.
 40. Witsch E, Sela M, Yarden Y. Roles for growth factors in cancer progression. *Physiology (Bethesda)* 2010; 25(2): 85-101.
 41. Goustein AS, Leof EB, Shipley GD, Moses HL. Growth factors and cancer. *Cancer Res* 1986; 46(3): 1015-29.
 42. Hunter T. The proteins of oncogenes. *Scientific American* 1984; 251(2): 70-9.
 43. Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev* 2008; 22(10): 1276-312.
 44. Ziyadeh N, Fife D, Walker AM, Wilkinson GS, Seeger JD. A matched cohort study of the risk of cancer in users of becaplermin. *Adv Skin Wound Care* 2011; 24(1): 31-9.
 45. Solchaga LA, Hee CK, Roach S, Snel LB. Safety of recombinant human platelet-derived growth factor-BB in Augment((R)) Bone Graft. *J Tissue Eng* 2012; 3(1): 2041731412442668.
 46. Papanas N, Maltezos E. Benefit-risk assessment of becaplermin in the treatment of diabetic foot ulcers. *Drug Saf* 2010; 33(6): 455-61.
 47. Labelle M, Begum S, Hynes RO. Direct signaling between platelets and cancer cells induces an epithelial-mesenchymal-like transition and promotes metastasis. *Cancer Cell* 2011; 20(5): 576-90.

Platelet-Rich Plasma (PRP) Therapy in Skin Rejuvenation: Benefits and Adverse Influences

Nioosha Nekooie-Marnany¹, Fariba Jaffary MD², Mohammad Ali Nilforoushzadeh MD³

Review Article

Abstract

A safe and effective rejuvenation method with few side effects is one of the main purposes of most of the aesthetic procedures. As wound healing process is similar to rejuvenation mechanisms, diverse methods such as ablative and non-ablative laser have been applied to meet this target. A recent method that has remarkably taken experts' and technicians' attention is platelet-rich plasma (PRP) injection. This article reviews molecular mechanisms of aging and rejuvenation. It also evaluates clinical documents regarding the effects of platelet-rich plasma in rejuvenation beside its possible side effects. Because of high concentration of growth factors in platelet-rich plasma, it potentially can accelerate wound healing. However, there is a concern about the relation between the high level of growth factors and induction of signaling cascades of tumors. Long-term platelet-rich plasma outcomes need to be more investigated in cohort studies.

Keywords: Platelet-rich plasma, Rejuvenation, Wound healing, Growth factors, Cancer

Citation: Nekooie-Marnany N, Jaffary F, Nilforoushzadeh MA. **Platelet-Rich Plasma (PRP) Therapy in Skin Rejuvenation: Benefits and Adverse Influences.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(343): 1168-85

1- Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Professor, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan AND Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Associate Professor, Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Fariba Jaffary MD, Email: jaffary@pharm.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:

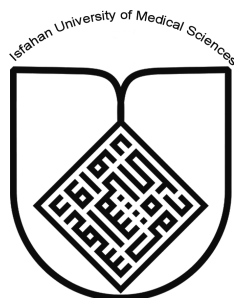
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations 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. 343, 3rd Week, September 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.