دارای رتبه علمی-پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

شماره استاندارد بین المللی: ۱۰۲۷-۷۵۹۵
شماره استاندارد آن لاین: ۱۷۳۵-۸۵۴x

هفته‌نامه سال سی و دوم/ شماره ۳۰۷/ هفته چهارم آذر ۱۳۹۳

Print ISSN: 1027-7595
Online ISSN: 1735-854x

Weekly Vol. 32, No. 307, 4th Week, December 2014

مقاله‌های پژوهشی

بررسی تأثیر باکتریوفاژ جداشده از نمونه‌های آب بیمارستان بر سویه‌های مقاوم به درمان (MDR) سودوموناس آئروژینوزا ... ۱۸۰۵
دکتر بهرام نصر اصفهانی، محسن روشنایی، دکتر حسین فاضلی، دکتر سید اصغر هوایی، دکتر شراره مقیم، دکتر حاجیه قاسمیان صفایی، ریحانه جعفری، حسن قجاوند

تأثیر داروی سیلیمارین بر تکثیر لنفوسیت‌های T فعال شده‌ی انسانی در شرایط آزمایشگاهی (In vitro) ۱۸۱۶
احسان الماسی، دکتر ناهید اسکندری، دکتر مرجان قراگوزلو، افشین الماسی، وجیهه استادی

بررسی بیوانفورماتیکی ارتباط اندازه‌ی ژنوم با خصوصیات ژنتیکی و رفتاری باکتری‌های بیماری‌زا ۱۸۲۴
دکتر محمدرضا پورمند، زهرا پاکباز، دکتر عباس رحیمی فروشانی، سولماز اوحدیان مقدم

مقاله کوتاه

اثرات حفاظت کلیوی متفورمین ۱۸۳۲
دکتر محمود رفیعیان کوپایی، دکتر فاطمه قائد امینی، دکتر حمید نصری

نامه به سردبیر

بیماری مادرزادی قلب همراه با پرفشاری شریان ریوی: جراحی یا درمان دارویی؟ ۱۸۳۸
دکتر احمد میردامادی، سمیرا اشرفی

Original Articles

The Effect of Isolated Bacteriophage on Multi-Drug Resistant (MDR) Pseudomonas Aeruginosa 1815
Bahram Nasr-Esfahani PhD, Mohsen Roshnaei, Hossein Fazeli PhD, Asghar Havaei PhD, Sharareh Moghim PhD, Hajieh Ghasemian-Safaei PhD, Reyhaneh Jafari, Hasan Ghajavand

The Effect of Silymarin on the Proliferating of the Activated Human T Cells in Vitro 1823
Ehsan Almasi, Nahid Eskandari PhD, Marjan Gharagozloo PhD, Afshin Almasi MSc, Vajiheh Ostadi MSc

Evaluating the Correlation of Genome Size and Behavioral and Ecological Characteristics in Pathogenic Bacteria 1831
Mohammad Reza Pourmand PhD, Zahra Pakbaz MSc, Abbas Rahimi-Foroushani PhD, Solmaz Ohadian-Moghadam MSc

Short Communication

Metformin and Renal Protection 1837
Mahmoud Rafieian-Kopaei PhD, Fatemeh Ghaed-Amini MD, Hamid Nasri MD

Letter to Editor

Congenital Heart Disease with Pulmonary Hypertension; Surgery or Medical Treatment? 1843
Ahmad Mirdamadi MD, Samira Ashrafi MSc

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۳۰۷)، هفته چهارم آذر ۱۳۹۳

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

ناشر:
انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
E-mail: publications@mui.ac.ir
دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶
مسؤول دفتر: گلناز رجبی
تلفن: ۶۶۹۴۷۳۷-۰۳۱۱ **دورنگار:** ۷۹۲۲۲۹۱-۰۳۱۱
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
وب سایت مجله: http://www.journals.mui.ac.ir/jims

امور نشر:
(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)
شرکت فرزانگان راداندیش
اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵
تلفن و دورنگار: ۶۶۸۶۳۰۲-۰۳۱۱

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 ایمونولوی، 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 عادلی	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۲۶- دکتر سعید عندلیب	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لویس 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، امریکا
۳۲- دکتر منصور کارآموز	استاد، متخصص اورولوژی، کالیفرنیا، امریکا
۳۳- دکتر رویا کلیشادی	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 اتیه مغیثی	استاد، متخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، امریکا
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، ایران
۴۴- دکتر علی محمد هنجنی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

۱- **اهداف و چشم انداز:** مجله دانشکده پزشکی اصفهان به صورت هفته‌نامه و تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد.

۲- این مجله مقالات اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را منتشر می‌نماید و همچنین فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین را بر روی وب سایت مجله قرار می‌دهد.

۳- **پذیرش دست‌نوشته:** پذیرش دست نوشته‌ها و پیگیری‌های بعدی در این مجله فقط از طریق وب سایت اختصاصی آن به آدرس http://www.journals.mui.ac.ir/jims و پس از ثبت نام (Registration) در آن ممکن می‌باشد. همراه دست نوشته باید یک نامه تایپ شده (Covering letter) به سردبیر، شامل عنوان و اسامی نویسنده یا نویسندگان و اعلام این که این دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است و یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد، ارسال گردد.

۴- دست‌نوشته باید توسط نرم‌افزار MS Word در سایز A_4 و فاصله خطوط دو برابر (Double Spaced) با حاشیه‌های ۲/۵ سانتی‌متری تهیه شوند. جداول بدون حاشیه خارجی و تصاویر در فرمت GIF و JPEG و در تعداد محدود باشند. ارسال مدارک با فرمت PDF به هیچ عنوان پذیرفته نیست.

۵- دست نوشته باید شامل صفحه عنوان، چکیده، مقدمه ، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع باشد.
صفحه عنوان: این صفحه بایدشامل 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 ۵-۳ 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): Inser N. Treatment of calcific aortic stenosis. Am J Cardiol 1987; 59(6): 314-7.

(FA): Zini F, Basiri Jahromo 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 مسؤول 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 عبارت های 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 مسؤول ارسال خواهد شد.

۱۹- **ملاحظات اخلاقی:** این ملاحظات باید در بخش روش‌ها اشاره گردند. اخذ رضایت‌نامه از کلیه‌ی افراد بالغ شرکت کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأیید کننده‌ی 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:** هیچ گونه 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 مسؤول در کوتاه‌ترین زمان در جریان تصمیم سردبیر 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 مسؤول 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

بررسی تأثیر باکتریوفاژ جدا شده از نمونه‌های آب بیمارستان بر سویه‌های مقاوم به درمان (MDR) سودوموناس آئروژینوزا.....۱۸۰۵

دکتر بهرام نصر اصفهانی، محسن روشنایی، دکتر حسین فاضلی، دکتر سید اصغر هوایی، دکتر شراره مقیم، دکتر حاجیه قاسمیان صفایی، ریحانه جعفری، حسن قجاوند

تأثیر داروی سیلیمارین بر تکثیر لنفوسیت‌های T فعال شده‌ی انسانی در شرایط آزمایشگاهی (In vitro) ۱۸۱۶

احسان الماسی، دکتر ناهید اسکندری، دکتر مرجان قراگوزلو، افشین الماسی، وجیهه استادی

بررسی بیوانفورماتیکی ارتباط اندازه‌ی ژنوم با خصوصیات ژنتیکی و رفتاری باکتری‌های بیماری‌زا.....۱۸۲۴

دکتر محمدرضا پورمند، زهرا پاکباز، دکتر عباس رحیمی فروشانی، سولماز اوحدیان مقدم

مقاله کوتاه

اثرات حفاظت کلیوی متفورمین.....۱۸۳۲

دکتر محمود رفیعیان کوپایی، دکتر فاطمه قائد امینی، دکتر حمید نصری

نامه به سردبیر

بیماری مادرزادی قلب همراه با پرفشاری شریان ریوی: جراحی یا درمان دارویی؟.....۱۸۳۸

دکتر احمد میردامادی، سمیرا اشرفی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۷/هفته چهارم آذر ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۲۰

بررسی تأثیر باکتریوفاژ جدا شده از نمونه‌های آب بیمارستان بر سویه‌های مقاوم به درمان (MDR) سودوموناس آئروژینوزا

دکتر بهرام نصر اصفهانی[۱]، محسن روشنایی[۲]، دکتر حسین فاضلی[۱]، دکتر سید اصغر هوایی[۳]، دکتر شراره مقیم[۱]، دکتر حاجیه قاسمیان صفایی[۳]، ریحانه جعفری[۴]، حسن قجاوند[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مقاومت عفونت‌های باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌ها به علت مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها و مکانیسم‌های متعدد مقاومت به آن‌ها توسط باکتری‌ها رو به افزایش است. باکتری‌های مقاوم به چند دارو (MDR یا Multi-drug resistance) در بخش‌های مختلف بیمارستان از جمله بخش مراقبت‌های ویژه (ICU یا Intensive care unit)، باعث بروز عفونت‌های مهم بیمارستانی شده‌اند که درمان آن‌ها با آنتی‌بیوتیک‌ها را با مشکل مواجه ساخته است. استفاده از روش‌های جایگزین مانند استفاده از باکتریوفاژها، یکی از راه‌های حل این معضل است. باکتریوفاژها یکی از عوامل مهم ضد باکتریایی می‌باشند که به طور اختصاصی به باکتری‌های میزبان خود حمله می‌کنند و باعث انهدام آن‌ها می‌شوند. هدف از این مطالعه، جداسازی فاژهای اختصاصی سودوموناس آئروژینوزا و بررسی تأثیر آن‌ها بر روی سویه‌های مقاوم به چند دارو سودوموناس آئروژینوزا بود.

روش‌ها: در یک مطالعه‌ی مقطعی در سال ۱۳۹۲، جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های کلینیکی بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه به روش بیوشیمیایی تعیین هویت شد. سپس، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها با استفاده از روش کربی بائر بر طبق دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) تعیین و به عنوان اندیکاتور میزبان جهت جستجوی فاژ از منابع آب استفاده گردید.

یافته‌ها: ۴۲ سویه‌ی سودوموناس آئروژینوزا از بخش مراقبت‌های ویژه به دست آمد. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که ۸۸ درصد ایزوله‌ها به آمیکاسین، ۹۰ درصد به سفی‌پیم، ۸۵ درصد به سفتازیدیم، ۹۰ درصد به جنتامایسین، ۷۵ درصد به ایمی‌پنم و مروپنم و همچنین ۹۵ درصد جدایه‌ها به سیپروفلوکسازین مقاوم بودند. در آزمایش‌های جداسازی فاژ، تنها از نمونه‌ی آب فاضلاب بیمارستان باکتریوفاژ لیتیک جداسازی شد و باکتریوفاژ جداسازی شده بر روی سودوموناس آئروژینوزاهای غیر مقاوم به چند دارو و ۳ سویه‌ی باکتری گرم منفی دیگر تأثیری نداشت.

نتیجه‌گیری: با توجه به مقاومت سودوموناس آئروژینوزا به آنتی‌بیوبیک‌های رایج استفاده از روش‌های درمانی جدید مانند فاژدرمانی افق جدیدی را در درمان عفونت‌های باکتری که به تمامی آنتی بیوتیک‌ها مقاومند باز می‌کند.

واژگان کلیدی: سودوموناس آئروژینوزا، باکتریوفاژ، فاژتراپی، مقاوم به چند دارو

ارجاع: نصر اصفهانی بهرام، روشنایی محسن، فاضلی حسین، هوایی سید اصغر، مقیم شراره، قاسمیان صفایی حاجیه، جعفری ریحانه، قجاوند حسن. **بررسی تأثیر باکتریوفاژ جدا شده از نمونه‌های آب بیمارستان بر سویه‌های مقاوم به درمان (MDR) سودوموناس آئروژینوزا.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۸): ۱۸۱۵-۱۸۰۵

۱- دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استاد، گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاوجان، اصفهان، ایران
۵- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر شراره مقیم
Email: moghim@med.mui.ac.ir

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا، باسیل هوازی گرم منفی است که عامل بسیاری از عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در بیماران بستری در بیمارستان است (۳-۱). این عفونت‌ها به نحو چشمگیری موجب افزایش شیوع بیماری و مرگ و میر در بیماران شده است (۵-۴). سودوموناس آئروژینوزا در ۱۶ درصد پنومونی بیمارستانی (۶)، ۱۲ درصد عفونت‌های مجاری ادراری (۷)، ۸ درصد عفونت زخم‌ها (۸) و ۱۰ درصد عفونت‌های خونی (۹) دخالت دارد. این باکتری همچنین در بیماران دارای نقص ایمنی مانند بیماران دریافت کننده ی داروهای سرکوب کننده‌ی ایمنی، بیماران سرطانی و پیوند مغز استخوان، عامل ۳۰ درصد از مرگ‌های ناشی از سپتی‌سمی و پنومونی است (۱۱-۱۰) و در پنومونی ناشی از دستگاه تهویه‌ی مکانیکی (ونتیلاتور)، موجب ۳۸ درصد مرگ می‌شود (۱۲). در بیماران سوانح سوختگی، عامل ۶۸ درصد مرگ های ناشی از عفونت زخم است (۱۳). استفاده‌ی گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها و مکانیسم های متعدد مقاومت دارویی توسط این باکتری، درمان سودوموناس آئروژینوزا را با مشکل مواجه ساخته است. به عنوان مثال، توانایی تولید و گرفتن پلاسمید حاوی ژنوم بتالاکتاماز از رده های دیگر باکتریایی، لایه‌ی خارجی نفوذ ناپذیر به واسطه‌ی نداشتن پروتئین‌های OprD، فعالیت کارآمد پمپ‌های برون‌ریز (Efflux systems)، تولید آنزیم‌های تخریب کننده‌ی آمینوگلیکوزیدها (مانند فسفریل ترانسفراز، استیل ترانسفراز و آدنیل ترانسفراز)، تغییر ساختار توپوایزومرازهای IV و II و بازسازی سفالوپورینز، از مکانیسم‌هایی هستند که سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به چند دارو، برای ایجاد مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌کند (۱۴).

امروزه اصطلاح سودوموناس آئروژینوزا (Pseudomonas aeruginosa) مقاوم به چند دارو (MDR یا Multi-drug resistant) به سودوموناس آئروژینوزایی اطلاق می‌شود که حداقل به ۳ نوع آنتی‌بیوتیک شامل آمینوگلیکوزیدها، بتالاکتام‌ها و فلوروکینولون‌ها مقاوم باشد (۱۵). سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به چند دارو، یکی از معضلات مهم در درمان عفونت‌های بیمارستانی به خصوص در بخش‌های مراقبت‌های ویژه، نوزادان و غیره است. از این رو، استفاده از روش‌های جایگزین برای درمان ضروری به نظر می‌رسد. ویروس‌های باکتریایی (باکتریوفاژها) یکی از عوامل مهم ضد باکتریایی می‌باشند که به طور اختصاصی به باکتری‌های میزبان خود حمله می‌کنند و باعث انهدام آن‌ها می‌شوند، اما بر روی سلول‌های انسانی یا حیوانی تأثیری نمی‌گذارند. تخمین زده می‌شود فاژها گسترده‌ترین و متنوع‌ترین موجوداتی هستند که در کره‌ی زمین وجود دارند. فاژهای لیتیک درون باکتری تکثیر می یابد و تعداد زیادی فاژ تولید می شود که در نهایت موجب مرگ باکتری می‌شوند (۱۶).

ایده‌ی استفاده از فاژ در درمان عفونت‌های باکتریایی (Phage therapy) به سال ۱۹۲۰ در شوروی سابق بر می‌گردد. آن زمان درمان مؤثر دارویی با آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف، عدم اطلاعات کافی در مورد بیولوژی فاژها و گران بودن هزینه‌ی فاژتراپی، موجب عدم استقبال از آن شد (۱۷).

امروزه، افزایش مقاومت باکتریایی و عدم کارایی

روش‌های پیشین، موجب مطرح شدن دوباره‌ی فاژتراپی به عنوان راه حلی برای حل این معضل شده است. استفاده از فاژها در درمان بیماری‌های عفونی، چندین مزیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها دارد که از آن جمله، می‌توان به این موارد اشاره کرد. فاژها دشمن طبیعی باکتری‌ها هستند، تا زمانی که میزبان وجود داشته باشد، تکثیر می‌یابند و با حذف باکتری میزبان از بین می‌رود. در حالی که آنتی‌بیوتیک‌ها به طور سنتتیک تهیه می‌شوند و در بدن متالولیزه می‌شوند. با توجه به این که میزبان باکتریوفاژها اختصاصی است، بر خلاف آنتی‌بیوتیک‌ها تأثیری بر نرمال فلور بدن و تعادل آن‌ها ندارند و به این ترتیب، امکان رشد پاتوژن‌های فرصت طلب را نمی‌دهند. همچنین فاژها تنها در حضور باکتری میزبان تکثیر می‌یابند و تکثیر آن‌ها کنترل شونده است؛ در حالی که غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها با گذشت زمان کاهش می‌یابد (۱۸). این مطالعه با هدف جداسازی و بررسی مقدماتی تأثیر باکتریوفاژ بر سویه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا MDR اجرا گردید. با مطالعات بیشتر بر روی فاژ جداسازی شده و افزایش تأثیر کارایی آن بر روی این باکتری، می‌توان به کاربرد آن در درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس‌ها توسط فاژها تحقق بخشید.

روش‌ها

این مطالعه از نوع مقطعی بود که در سال ۱۳۹۲ در گروه میکروب‌شناسی دانشکده ی پزشکی انجام شد. تعداد ۴۲ نمونه (شامل تمامی مایعات بدن، خلط، خون، زخم و ...) مشکوک به سودوموناس از بخش ICU (Intensive care unit) بیمارستان الزهرا (س) گرفته شد. آزمون‌های آماری به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۴ (version 14, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد و با استفاده از آزمون χ^2 و ضریب کاپا (Kappa coefficient) تجزیه و تحلیل گردید. مقادیر $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان شاخص معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد. بر روی ۴۲ نمونه‌ی دریافتی، آزمایش‌های فنوتیپی به منظور تشخیص سودوموناس آئروژینوزا صورت گرفت. سودوموناس یک باسیل گرم منفی نان فرمانتاتیو است و در محیط (Triple sugar iron agar) TSI به صورت $\frac{AlK}{AlK}$ در آمد و پس از آن، رشد در محیط ^{o}C ۴۲، آزمایش اکسیداز و بررسی ایجاد پیگمان سبز در محیط مولر- هینتون آگار (Mueller Hinton agar) انجام گرفت. پس از تأیید و تشخیص فنوتیپی سودوموناس آئروژینوزا، آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن صورت گرفت. ایزوله های سودوموناس آئروژینوزا که به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکسازین، آمیکاسین، جنتامایسین، سفتازیدیم، ایمی‌پنم، مروپنم و سفیپیم مقاومت داشتند، به عنوان MDR در نظر گرفته شدند. جهت بررسی نتایج حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها، از جدول CLSI ۲۰۱۰ (Clinical and Laboratory Standards Institute) استفاده شد و دیسک‌های مورد آزمایش از شرکت ROSCO دانمارک تهیه شده بودند و بر روی تمامی دیسک‌ها با سوش‌های ATCC (American type culture collection) از قبل کنترل کیفی صورت گرفته بود. ۵ سویه باکتری MDR به عنوان اندیکاتور برای جداسازی فاژهای ویرولانت انتخاب شدند. جهت جداسازی باکتریوفاژ اختصاصی، ۵ نمونه از منابع آب محیطی بیمارستان الزهرا (س) شامل آب لوله‌کشی، آب بخش ICU، آب

شوینده‌ی وسایل مربوط به ICU، آب فاضلاب ICU و آب فاضلاب بیمارستان جمع آوری و جهت حضور فاژ از تکنیک غنی‌سازی فاژ استفاده گردید.

تکنیک غنی‌سازی فاژ

نمونه‌های آب در ابتدا در دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. ۵۰ ml مایع رویی از آب سانتریفوژ شده با ۵۰ ml محیط نوترینت براث (Nutrient broth) ۲x مخلوط شد. ۱ ml نیز کشت سوسپانسیون ۲۴ ساعته‌ی باکتری سودوموناس آئروژینوزا با غلظتی معادل ۰/۵ مک فارلند و چند قطره $MgSO_4$ اضافه گردید. این مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ °C شیکردار در دور ۱۶۰ rpm انکوبه گردید. بعد از ۲۴ ساعت، ارلن حاوی محیط، آب و باکتری از انکوباتور خارج شد و چند قطره کلروفرم به آن اضافه گردید و پس از ۱۵-۱۰ دقیقه، مخلوط در لوله‌های فالکون ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. سپس مایع رویی در میکروتیوپ‌های ۱/۵ ml ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و در نهایت، تمامی نمونه‌های رویی میکروتیوپ ها در یک ارلن استریل ریخته و با فیلتر ۰/۴۵ محلول فیلتر گردید (۱۹).

جهت بررسی ایجاد پلاک از تکنیک دبل لایر آگار (Double-layer agar) استفاده گردید.

روش آگار دو لایه (Double-layer agar method)

در یک لوله ی آزمایش، ۰/۲ ml از مایع فیلتر شده به همراه ۰/۱ ml کشت ۲۴ ساعته‌ی سویه‌ی سودوموناس آئروژینوزا با ۲/۵ ml نوترینت آگار (۰/۷ درصد آگار) که در ۴۵ °C ذوب شده بود، مخلوط گردید و سپس در محیط جامد شده‌ی نوترینت آگار (۱/۵ درصد آگار) برده شد (۱۹).

بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ °C، پلاک های ایجاد شده در پلیت برداشته شد. جهت برداشت پلاک ها، از لوپ استریل استفاده شد و پلاک ها در یک ارلن استریل ریخته و ۵۰ ml نوترینت براث و ۰/۵ cc سوسپانسیون باکتری با رشد ۲۴ ساعته اضافه گردید و بار دیگر در انکوباتور شیکردار به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت، محلول حاوی فاژ و باکتری، ابتدا در دور ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی، با فیلتر ۰/۴۵ فیلتر شد. نمونه‌ی فیلتر شده، بار دیگر جهت مشاهده‌ی پلاک به روش دبل لایر آگار و روش Spot بررسی گردید. این کار چندین بار صورت گرفت تا میزان فاژ خالص زیادی تولید شود (۱۹).

آنالیز طیف میزبان (Host range)

طیف میزبان فاژ شناسایی شده در مقابل میکروارگانیسم‌های گرم منفی دیگر مانند اسینتوباکتربومانی، انتروباکتر کلوآکه و کلبسیلاپنومونیه بررسی صورت گرفت. جهت بررسی طیف میزبان فاژ آزمایش به صورت Spot انجام گردید.

روش Spot test

۰/۱ ml از سوسپانسیون باکتری با رشد ۲۴ ساعته با ۲/۵ ml نوترینت آگار ۰/۷ درصد مخلوط شد و این مخلوط بر روی پلیت‌هایی که حاوی نوترینت با ۱/۵ درصد آگار بود، ریخته شد. پلیت‌هایی با دو لایه ایجاد گردید و وقتی آگار لایه ی بالایی بسته شد، ۵ µl از محلول فاژ به صورت Spot به داخل پلیت هر باکتری ریخته شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ C° به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. هاله‌ی شفاف مشاهده شده، نشان دهنده‌ی حساسیت آن باکتری به فاژ بود (۲۰).

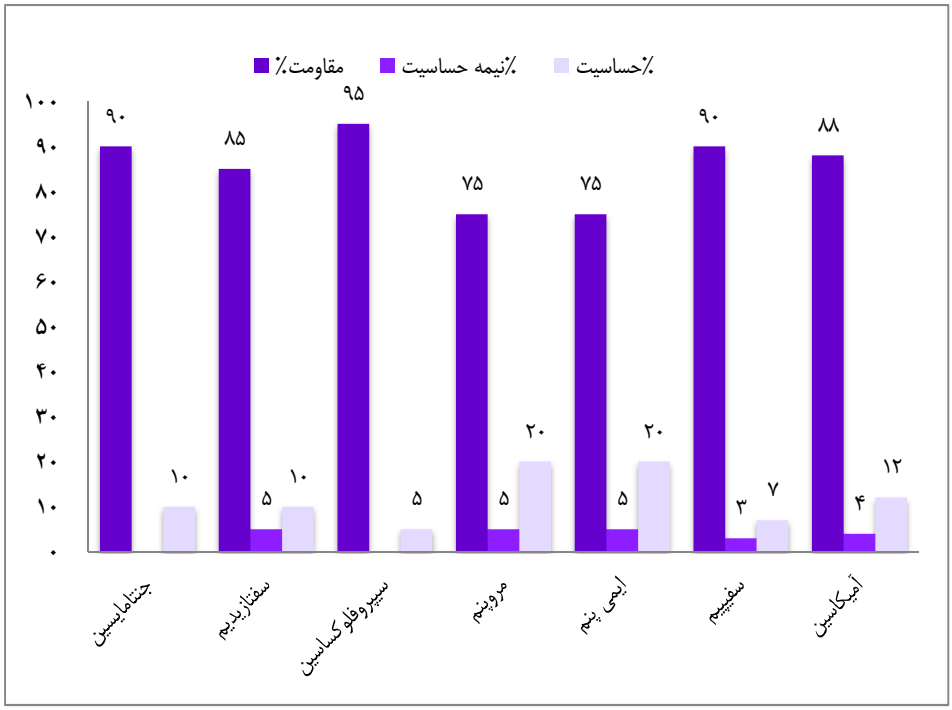
یافته‌ها

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که ۸۸ درصد ایزوله‌ها به آمیکاسین، ۹۰ درصد به سفی‌پیم، ۸۵ درصد به سفتازیدیم، ۹۰ درصد به جنتامایسین، ۷۵ درصد به ایمی‌پنم و مروپنم و همچنین ۹۵ درصد جدایه‌ها به سیپروفلوکسازین مقاوم بودند.

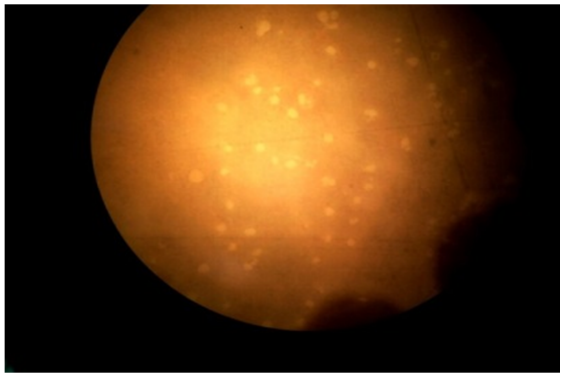
از ۵ نمونه‌ی آب بیمارستانی، تنها از نمونه‌ی مربوط به فاضلاب بیمارستان باکتریوفاژ جدا گردید. شکل ۲ پلاک تشکیل شده توسط فاژ به روش Double layer agar را نشان می‌دهد. در مرحله‌ی بعد، باکتریوفاژ بر روی پلیت سودوموناس غیر MDR،آسینتوباکتر بومانی، کلبسیلا پنومونیه و انتروباکتر کلوآکه مورد آزمایش قرار گرفت که در هیچ کدام از پلیت‌ها، پلاک تشکیل نشد و بی‌تأثیر بود.

بحث

در این مطالعه، میزان مقاومت سودوموناس آئروژینوزا استخراج شده از بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان الزهرا (س) در برابر ۷ آنتی بیوتیک مختلف بررسی شد. این بررسی از نظر تفاوت مقاومت های دارویی در نقاط مختلف دنیا و همچنین تفاوت مقاومت دارویی در یک نقطه در زمان های مختلف حایز اهمیت است. در مورد میزان مقاومت سودوموناس به کارباپنم‌ها، مطالعات زیادی انجام شده است. در مطالعه ی رگان و همکاران میزان مقاومت به ایمی پنم ۱۲/۳ درصد بود (۲۱). همچنین در مطالعه‌ی Gonlugur و همکاران در ترکیه، میزان مقاومت به ایمی‌پنم ۱۲/۶ درصد بود (۲۲). Niitsuma و همکاران میزان مقاومت به ایمی‌پنم و مروپنم را به ترتیب ۱۵/۷ و ۸/۸ درصد گزارش کردند (۲۳).



شکل ۱. توزیع فراوانی الگوی مقاومت دارویی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا



شکل ۲. تصویر پلاک [فاژ اختصاصی سودوموناس آئروژینوزا MDR (Multi-drug resistance)] با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰

همچنین مطالعات مشابهی در نقاط مختلف ایران انجام شده است. مهاجری نشان داد که میزان مقاومت سودوموناس در برابر ایمی‌پنم در کرمانشاه ۱۰ درصد می‌باشد (۲۴). عظیمی و همکاران در تنکابن میزان مقاومت به ایمی‌پنم را ۱۶ درصد ذکر کردند (۲۵) که این عدد در مطالعه‌ای در تهران ۶ درصد بود (۲۶). در همه‌ی این مطالعات، میزان مقاومت به کاربا‌پنم‌ها کمتر از ۱۶ درصد بود. این در حالی است که میزان مقاومت به ایمی پنم و مروپنم طبق نتایج مطالعه‌ی حاضر ۷۵ درصد می باشد که در مقایسه با سایر مطالعات مشابه، بسیار بالا است. البته مطالعات اندکی نیز نتیجه‌ی این مطالعه را تأیید می‌کند. رنجبر و همکاران نشان دادند که میزان مقاومت به ایمی‌پنم در تهران ۹۷/۵ درصد بوده است (۲۷).

از طرف دیگر، در مطالعه‌ی مشابهی که ۴ سال پیش در بیمارستان الزهرا (س) اصفهان انجام شد، میزان مقاومت به ایمی پنم ۴۲ درصد ذکر گردید (۲۸) که این مطلب نشان دهنده‌ی افزایش میزان مقاومت سودوموناس به این آنتی‌بیوتیک در این بیمارستان در سال‌های اخیر است. در مطالعه‌ی حاضر، میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین ۹۵ درصد بود. این در حالی است که در مطالعه‌ی مشابهی که ۴ سال پیش در این بیمارستان انجام گرفت، میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین ۴۲/۸۵ درصد ذکر شد که این امر، نشان دهنده ی افزایش مقاومت به این آنتی‌بیوتیک در شهر اصفهان می‌باشد (۲۸). در مطالعه‌ای در تهران، میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین ۲۳ درصد ذکر شد (۲۷). در حالی که در مطالعه ی دیگری در این شهر، این مقدار ۱۹//۷ درصد بود (۲۶) و همچنین این مقدار، در مطالعه ی نهایی و همکاران (۲۹) در تبریز ۲۲ درصد بود که در تأیید نتایج این مطالعه نیست و میزان مقاومت نسبت به این دارو در اصفهان بسیار بیشتر از سایر مطالعات موجود در ایران است.

همچنین این عدد در مطالعه‌ی Gonlugur و همکاران در ترکیه، ۱۶/۱ درصد می‌باشد که نشان دهنده‌ی پایین‌تر بودن میزان مقاومت در برابر سیپروفلوکساسین در این کشور است. میزان مقاومت آنتی بیوتیک جنتامایسین در این مطالعه، ۹۰ درصد بود که این میزان، نسبت به مطالعات مشابه در کشورهای دیگر و همچنین در ایران بیشتر بود. در مطالعه‌ی رنجبر و همکاران این عدد ۶۷/۵ درصد (۲۷) و در مطالعه‌ی شاهچراغی و همکاران در تهران، ۳۱ درصد ذکر شده است (۲۶). همچنین در مطالعات مشابهی در تبریز و کرمانشاه، این عدد به ترتیب ۵۱ و ۵۲ درصد گزارش شد (۲۹، ۱۹) که نشان دهنده‌ی بالا بودن میزان مقاومت نسبت به جنتامایسین در بیمارستان الزهرا (س)، نسبت به دیگر نقاط ایران می باشد. تنها مطالعه ای که در ایران در تأیید نتایج این مطالعه وجود دارد، در تنکابن انجام شد که مقاومت

۱۰۰ درصدی نسبت به جنتامایسین را نشان داد (۲۵). در مطالعات مشابهی در ترکیه (۲۲) و بنگلادش (۳۰)، میزان مقاومت به جنتامایسین به ترتیب ۵۷/۵ و ۷۵/۸ درصد گزارش شد.

در رابطه با سفتازیدیم، مطالعات متعددی در ایران و سایر نقاط دنیا انجام شده و نتایج متفاوتی به دست آمده است. برای نمونه این میزان مقاومت در مطالعه‌ای در ژاپن ۴/۶ درصد (۲۳)، در بنگلادش ۸۵/۸ (۲۴) درصد و در ترکیه ۵۰/۸ (۲۲)درصد ذکر شده است. در مطالعات مشابه در ایران، این عدد در تهران در سال ۲۰۰۹، ۳۱ درصد و در سال ۲۰۱۱، ۵۷/۵ درصد بوده است که نشان دهنده‌ی افزایش این مقاومت در این شهر می‌باشد (۲۶-۲۵). همچنین میزان مقاومت نسبت به سفتازیدیم در تبریز و کرمانشاه ۶۹ و ۵۰ درصد گزارش شد (۲۴، ۲۳). این در حالی است که میزان مقاومت ۸۵ درصدی به دست آمده در این مطالعه، نسبت به این دارو از سایر مطالعات بیشتر است. در مقایسه با مطالعه‌ای که ۴ سال پیش در بیمارستان الزهرا (س) اصفهان انجام شد، میزان مقاومت در برابر سفتازیدیم در این مطالعه بیش از ۳۶ درصد افزایش داشته است (۲۸).

در این مطالعه، تعداد نمونه ها با توجه به مشکلات موجود محدود بود و توصیه می‌شود مطالعات مشابه با حجم نمونه‌ی بالاتری انجام شود. در این مطالعه، با توجه به محدودیت امکانات، نوع باکتریوفاژ مورد استفاده مشخص نشد. مشخص بودن نوع باکتریوفاژ در مطالعات مشابه، مفید خواهد بود. همچنین در این مطالعه مقاومت سودوموناس نسبت به ۷ آنتی بیوتیک سنجیده شد که توصیه می شود در مطالعات آتی، سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مورد بررسی قرار گیرند. درمان با استفاده از باکتریوفاژها در برابر باکتری های مقاوم به درمان می‌تواند بسیار مؤثر باشد. در این مطالعه، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که یک ایزوله‌ی جدید باکتریوفاژ می‌تواند به طور فعال سودوموناس آئروژینوزا در حال رشد را لیز کند. فاژها به طور طبیعی و به مدت طولانی ساکن سلول میزبان اختصاصی خود در آب دریا و آب فاضلاب هستند (۳۱). فاضلاب اغلب حاوی تعداد زیادی میکروب به دلیل آلودگی از مدفوع و منابع آب بیمارستان می‌باشد. فاژ موقعی می‌تواند یک میزبان را عفونی کند که بتواند بعد از واکنش با گیرنده‌ی باکتریایی وارد آن شود (۳۲). اکثر فاژهای یافت شده، اختصاصیت زیادی برای گیرنده‌های موجود در میزبانشان داشته‌اند. فاژها نشان داده‌اند که هیچ واکنشی با گیرنده‌های دارای ساختار متفاوت، نمی‌دهند. اختصاصیت فاژها اساس فاژ تایپینگ را تشکیل می‌دهد که در تشخیص سویه‌های باکتریایی به کار می‌رود.

نتیجه‌ی مطالعه‌ی حاضر نشان داد که فاژ سودوموناس آئروژینوزا دارای اختصاصیت بالا بوده و فقط یک سویه از ۵ سویه‌ی سودوموناس آئروزینوزای MDR را لیز نموده و بر سایر باکتری‌های مورد مطالعه نیز اثری نداشته است. در این مطالعه، استفاده از فاژ در برابر سودوموناس در محیط آزمایشگاه صورت گرفت. هر چند استفاده در نمونه های حیوانی و انسانی نتایج قابل قبولی داشته است (۳۳).

با توجه به مطالعات گذشته، از قبل از طریق محیط چه به صورت تماسی و چه از طریق دستگاه گوارش، فاژها با انسان تماس داشته‌اند که این امر خود می تواند بیانگر حداقل عوارض استفاده از فاژها

باشد (۳۵). همچنین مطلب دیگری که می‌تواند بیانگر ایمن بودن استفاده‌ی کلینیکی از فاژها باشد، آلوده شدن واکسن ها در سال ۱۹۷۰ با فاژها است که در نتیجه ی آن، هیچ مشکل یا بیماری خاصی برای افراد آلوده شده پیش نیامد (۳۶-۳۵). مطالعه‌ی Betts و همکاران بر روی استفاده از فاژها در درمان سودوموناس نتایج این مطالعه را تأیید می کند. در این مطالعه، استفاده از فاژ باعث از بین بردن کامل سودوموناس مقاوم به درمان شد (۳۷). علاوه بر سودوموناس، مطالعات زیادی بر روی باکتری‌های دیگر نیز صورت گرفت که فاژ درمانی را به عنوان یک روش مؤثر در درمان گونه های باکتریایی مقاوم تأیید می‌کند. برای مثال، در مطالعات مختلف، استفاده از فاژ در برابر سالمونلا گالیناروم (۳۸)، مایکوباکتریوم اولسرانس (۳۹) و حتی استافیلوکوک مقاوم به متی‌سیلین (MRSA یا Methicillin-resistant Staphylococcus aureus) (۴۰) بررسی و تأثیرگذاری باکتریوفاژ در از بین بردن باکتری مقاوم مورد تأیید قرار گرفته است (۴۰-۳۸).

توصیه می‌شود با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات مشابه، این درمان در بیماران مبتلا به عفونت‌های مقاوم به درمان، به عنوان یک گزینه‌ی درمانی مد نظر قرار گیرد. همچنین در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در مورد سودوموناس آئروژینوزا و دیگر پاتوژن‌های مقاوم، با توجه به نتایج حساسیت آنتی‌بیوتیکی در مورد انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب تصمیم‌گیری شود تا نه تنها عفونت به خوبی درمان شود بلکه تا حدی از مقاومت بیشتر پاتوژن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها جلوگیری شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای محسن روشنایی به شماره‌ی طرح پژوهشی ۳۹۰۶۴۲ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

References

1. Gaynes R, Edwards JR. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. Clin Infect Dis 2005; 41(6): 848-54.
2. Fluit AC, Jones ME, Schmitz FJ, Acar J, Gupta R, Verhoef J. Antimicrobial susceptibility and frequency of occurrence of clinical blood isolates in Europe from the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997 and 1998. Clin Infect Dis 2000; 30(3): 454-60.
3. Streit JM, Jones RN, Sader HS, Fritsche TR. Assessment of pathogen occurrences and resistance profiles among infected patients in the intensive care unit: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America, 2001). Int J Antimicrob Agents 2004; 24(2): 111-8.
4. Crouch BS, Wunderink RG, Jones CB, Leeper KV, Jr. Ventilator-associated pneumonia due to Pseudomonas aeruginosa. Chest 1996; 109(4): 1019-29.
5. Osmon S, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. Hospital mortality for patients with bacteremia due to Staphylococcus aureus or Pseudomonas aeruginosa. Chest 2004; 125(2): 607-16.
6. Wiblin RT. Nosocomial pneumonia. In: Wenzel RP, editors. Prevention and control of nosocomial infections.3rd ed. Baltimore, MD: Williams and Wilkins; 1997. p. 807-19.
7. Pollack M. Pseudomonas aeruginosa. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R, editors. Principles and practice of infectious diseases. 4th ed. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995. p. 1980-2003.
8. Kluytmans J. Surgical infections including burns. In: Wenzel RP, editor. Prevention and control of nosocomial infections. 3rd ed.

Baltimore, MD: Williams and Wilkins; 1997. p. 841-65.
9. Gordon SM, Serkey JM, Keys TF, Ryan T, Fatica CA, Schmitt SK, et al. Secular trends in nosocomial bloodstream infections in a 55-bed cardiothoracic intensive care unit. Ann Thorac Surg 1998; 65(1): 95-100.
10. Fergie JE, Shema SJ, Lott L, Crawford R, Patrick CC. Pseudomonas aeruginosa bacteremia in immunocompromised children: analysis of factors associated with a poor outcome. Clin Infect Dis 1994; 18(3): 390-4.
11. Bergen GA, Shelhamer JH. Pulmonary infiltrates in the cancer patient. New approaches to an old problem. Infect Dis Clin North Am 1996; 10(2): 297-325.
12. Crouch BS, Wunderink RG, Jones CB, Leeper KV, Jr. Ventilator-associated pneumonia due to Pseudomonas aeruginosa. Chest 1996; 109(4): 1019-29.
13. Richard P, Le FR, Chamoux C, Pannier M, Espaze E, Richet H. Pseudomonas aeruginosa outbreak in a burn unit: role of antimicrobials in the emergence of multiply resistant strains. J Infect Dis 1994; 170(2): 377-83.
14. Gorgani N, Ahlbrand S, Patterson A, Pourmand N. Detection of point mutations associated with antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa. Int J Antimicrob Agents 2009; 34(5): 414-8.
15. Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa. J Med Microbiol 2006; 55(Pt 12): 1619-29.
16. Livermore DM. The need for new antibiotics. Clin Microbiol Infect 2004; 10(Suppl 4): 1-9.
17. Ackermann HW, DuBow MS. Viruses of Prokaryotes: General properties of bacteriophages. Boca Raton, FL:CRC Press; 1987.
18. Kunisaki H, Tanji Y. Intercrossing of phage genomes in a phage cocktail and stable coexistence with Escherichia coli O157:H7 in anaerobic continuous culture. Appl Microbiol Biotechnol 2010; 85(5): 1533-40.
19. Clokie MRJ, Kropinski A. Bacteriophages: Methods and protocols, Vol 1: Isolation, characterization, and interactions. New York, NY: Humana Press; 2009. p. 15-23, 69-113.
20. Jin J, Li ZJ, Wang SW, Wang SM, Huang DH, Li YH, et al. Isolation and characterization of ZZ1, a novel lytic phage that infects Acinetobacter baumannii clinical isolates. BMC Microbiol 2012; 12: 156.
21. Regal RE, DePestel DD, VandenBussche HL. The effect of an antimicrobial restriction program on Pseudomonas aeruginosa resistance to beta-lactams in a large teaching hospital. Pharmacotherapy 2003; 23(5): 618-24.
22. Gonlugur U, Bakici MZ, Ozdemir L, Akkurt I, Icagasioglu S, Gultekin F. Retrospective analysis of antibiotic susceptibility patterns of respiratory isolates of Pseudomonas aeruginosa in a Turkish University Hospital. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2003; 2: 5.
23. Niitsuma K, Saitoh M, Kojimabara M, Kashiwabara N, Aoki T, Tomizawa M, et al. Antimicrobial susceptibility of Pseudomonas aeruginosa isolated in Fukushima Prefecture. Jpn J Antibiot 2001; 54(2): 79-87.
24. Mohajeri P. Antibiotic susceptibility and resistance patterns of pseudomonas aeruginosa strains isolated from different clinical specimens in patients referred to the teaching hospitals in Kermanshah(2001-2). J Kermanshah Univ Med Sci 2004; 7(4): 11-20. [In Persian].
25. Azimi, Z, Ghane, M, Heshmatipour, Z. The antibiotic resistance of pseudomonas spp. isolated from different wards of Shahid Rajai Hospital in Tonekabon, 2010-2011. Medica Laboratory Journal. 2013; 7(2): 23-9. [In Persian].
26. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Feizabadi MM. Prevalence of ESBLs genes among multidrug-resistant isolates of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients in Tehran. Microb Drug Resist 2009; 15(1): 37-9.
27. Ranjbar R, Owlia P, Saderi H, Mansouri S, Jonaidi-Jafari N, Izadi M, et al. Characterization of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burned patients hospitalized in a major burn center in Tehran, Iran. Acta Med Iran 2011; 49(10): 675-9.
28. Kianpour F, Havaei SA, Hosseini MM. Evaluation of Pseudomonas aeroginosa isolated from cutaneous infections and determination of drug resistance pattern in patients of Alzahra hospital in Esfahan. J Isfahan Med Sch 2010; 28(110): 503.
29. Nahaei MR, Bohloli-Khiavi R, Asgarzadeh M, Hasani A, Sadeghi J, Akbari Dibavar M. Antibiotic resistance and plasmid profile of Pseudomonas aeruginosa strain isolated from hospitalized patients. J Ardabil Univ Med Sci 2007; 7(1): 90-8. [In Persian].
30. Rahman M, Shamsuzzaman AK, Sirajee A, Miah AG, Hossain MA. Pattern of bacteria and their antimicrobial susceptibility isolated from inanimate objects and hospital personnel. Mymensingh Med J 2003; 12(2): 104-7.

31. Rolston KV, Bodey GP. Pseudomonas aeruginosa infection in cancer patients. Cancer Invest 1992; 10(1): 43-59.
32. Richards FF. The genetics of bacteria and their viruses. Yale J Biol Med 1969; 42(2): 120-1.
33. Mihaljev-Martinov J, Nikolic I. Migraine--diagnostic problems. Med Pregl 1986; 39(7-8): 351-4.
34. Kutter E, Sulakvelidze A. Bacteriophages: Biology and applications: Molecular biology and applications. Boca Raton, FL: CRC Press; 2005.
35. Merril CR, Friedman TB, Attallah AF, Geier MR, Krell K, Yarkin R. Isolation of bacteriophages from commercial sera. In Vitro 1972; 8(2): 91-3.
36. Merril CR. Phage in human vaccines. Science 1975; 188(4183): 8.
37. Betts A, Vasse M, Kaltz O, Hochberg ME. Back to the future: evolving bacteriophages to increase their effectiveness against the pathogen Pseudomonas aeruginosa PAO1. Evol Appl 2013; 6(7): 1054-63.
38. Hong SS, Jeong J, Lee J, Kim S, Min W, Myung H. Therapeutic effects of bacteriophages against Salmonella gallinarum infection in chickens. J Microbiol Biotechnol 2013; 23(10): 1478-83.
39. Trigo G, Martins TG, Fraga AG, Longatto-Filho A, Castro AG, Azeredo J, et al. Phage therapy is effective against infection by Mycobacterium ulcerans in a murine footpad model. PLoS Negl Trop Dis 2013; 7(4): e2183.
40. Gilmer DB, Schmitz JE, Euler CW, Fischetti VA. Novel bacteriophage lysin with broad lytic activity protects against mixed infection by Streptococcus pyogenes and methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57(6): 2743-50.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 29.07.2014
Vol. 32, No. 307, 4th Week, December 2014
Accepted: 11.11.2014

The Effect of Isolated Bacteriophage on Multi-Drug Resistant (MDR) Pseudomonas Aeruginosa

Bahram Nasr-Esfahani PhD[1], Mohsen Roshnaei[2], Hossein Fazeli PhD[1], Asghar Havaei PhD[3], Sharareh Moghim PhD[1], Hajieh Ghasemian-Safaei PhD[3], Reyhaneh Jafari[4], Hasan Ghajavand[5]

Original Article

Abstract

Background: Bacterial drug resistance, due to overuse of antibiotics and several mechanisms of resistance by bacteria, is increasing. Multi-drug resistant bacteria (MDR) in different parts of the hospital including the intensive care unit (ICU), cause nosocomial infections and resistance to antibiotics made them difficult to treat. Alternative methods of treatment are one way to solve this problem. Bacteriophages are antibacterial agents that specifically attack their host. In this study, Pseudomonas specific lytic phages isolated from the clinical environment and its effect on multi-drug resistant Pseudomonas aeruginosa was investigated.

Methods: In a cross sectional study in 2013, isolates of Pseudomonas aeruginosa from clinical specimens of patients admitted to the intensive care unit were identified via biochemical methods. Then, antibiotic resistance patterns were determined via standard disk diffusion method according to CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) and were used as indicator hosts to screen phages from water samples.

Findings: 42 strains of Pseudomonas aeruginosa wre isolated from the intensive care units. The antibiotic resistant patterns of bacterial isolates were as follows: 88% to amikacin, 90% to cefepime, 85% to ceftazidime, 90% to gentamicin, 75% to imipenem and meropenem and 95% to ciprofloxacin. Lytic bacteriophage was isolated only from hospital wastewater. The isolated bacteriophage had no effect on non- multi-drug resistant Pseudomonas aeruginosa and other Gram-negative bacteria.

Conclusion: Bacterial resistance to antibiotics is increasing. New alternative methods, such as phage therapy, would open new insights in treatment of multidrug resistant bacterial infections.

Keywords: Pseudomonas aeruginosa, Bacteriophage, Phage therapy, Multi-drug resistant

Citation: Nasr-Esfahani B, Roshnaei M, Fazeli H, Havaei A, Moghim Sh, Ghasemian-Safaei H, et al. **The Effect of Isolated Bacteriophage on Multi-Drug Resistant (MDR) Pseudomonas Aeruginosa.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(307): 1805-15

1- Associate Professor, Department of Microbiology, 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
3- Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- MSc Student, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran
5- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Sharareh Moghim PhD, Email: moghim@med.mui.ac.ir

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۷/هفته چهارم آذر ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۲۷

تأثیر داروی سیلیمارین بر تکثیر لنفوسیت‌های T فعال شده‌ی انسانی در شرایط آزمایشگاهی (In-vitro)

احسان الماسی[۱]، دکتر ناهید اسکندری[۲]، دکتر مرجان قراگوزلو[۲]، افشین الماسی[۳]، وجیهه استادی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: استفاده‌ی گسترده از داروهای گیاهی به دلیل اثرات حفاظتی آن‌ها بر ارگان‌های مختلف بدن در مطالعات بسیاری نشان داده شده است. سیلیمارین یک کمپلکس فلاونولیگنان مشتق از گیاه خار مریم (Milk thistle) با نام علمی Silybum marianum است. از این ترکیب، به علت داشتن اثرات ضد التهابی و حفاظتی در بیماری‌های کبدی (Hepatoprotective) در کلینیک استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر، اثرات تعدیل ایمنی (Immunomodulatory) این گیاه از سوی محققین مورد توجه قرار گرفته و در این خصوص مطالعاتی صورت پذیرفته است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر سیلیمارین و DMSO (Dimethyl sulfoxide) بر تکثیر لنفوسیت‌های T انسانی در شرایط کشت سلولی بود.

روش‌ها: جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMCs یا Peripheral blood mononuclear cells) از افراد سالم داوطلب و سپس تحریک آن با کانکاناوالین A (Con A یا Concanavalin A) انجام گرفت و میزان تکثیر سلول‌ها پس از نشان‌دار کردن سلول‌ها با ماده‌ی فلورسنت CFSE (Carboxyfluorescein succinimidyl ester) بررسی و ارزیابی آن با فلوسیتومتری نسبت به شاهد مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: سیلیمارین در غلظت‌های ۱۰۰ µM و ۲۰۰ µM نسبت به Dimethyl sulfoxide به طور قابل ملاحظه‌ای تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی را مهار می‌کند.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثر مهاری سیلیمارین بر تکثیر سلول‌های T، شاید بتوان از آن به عنوان جایگزین داروهای شیمیایی مهار کننده‌ی ایمنی و یک داروی حیات بخش در شرایط نیاز به سرکوب ایمنی، استفاده نمود.

واژگان کلیدی: سیلیمارین، سلول‌های T، سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی، دی‌متیل سولفوکساید

ارجاع: الماسی احسان، اسکندری ناهید، قراگوزلو مرجان، الماسی افشین، استادی وجیهه. **تأثیر داروی سیلیمارین بر تکثیر لنفوسیت‌های T فعال شده‌ی انسانی در شرایط آزمایشگاهی (In vitro).** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۷): ۱۸۲۳-۱۸۱۶

مقدمه

تحقیقات بسیاری در دهه‌های اخیر نشان داده‌اند که برخی گیاهان دارای اثرات محافظت کنندگی-شیمیایی (Chemopreventive) هستند. در این میان، سیلیمارین یک مشتق پلی‌فنلیک فلاونولیگنان جدا شده از میوه‌ها و دانه‌های گیاه خار مریم (Milk thistle) با نام علمی Silybum marianum است که شامل مقادیر زیادی از فلاونولیگنان‌ها از

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دانشجوی دکتری، گروه آمار زیستی، واحد توسعه‌ی تحقیقات بالینی، بیمارستان امام رضا (ع)، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۴- دانشجوی دکتری، آزمایشگاه فلوسیتومتری و گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر ناهید اسکندری
Email: neskandari@med.mui.ac.ir

قبیل Silybin (کـه فعـال‌تـرین ترکیـب آن اسـت)، Isosilybin، Silydianin و Silychristin اسـت (۱). امروزه از سیلیمارین به طور گسترده‌ای به عنوان عامل محافظ کبـدی در درمـان بیمـاری‌هـای کبـدی نظیـر سـیروز، هپاتیـت و ارتشـاح اسـید چـرب (Fatty change) ناشـی از مصـرف الکـل و مـواد شیمیایی سمی استفاده می‌گردد. همچنین سـیلیمارین دارای خواص ضـد التهـابی، اثـرات ضـد سـرطانی و آنتی‌اکسیدانی است. برخی مطالعات روی مدل انسانی اثرات تعدیل ایمنی (Immunomodulary) این گیاه را گزارش کرده‌اند و گزارش‌هایی نیز در ایـن زمینـه بـه چـاپ رسـیده اسـت (۳-۲). مطالعـات دیگـر نشـان داده‌انـد کـه سـیلیمارین یـک آنتـی‌اکسـیدان قـوی و Hypolipidaemic agent بـا اثـر آنتـی‌کارسـینوژیک است (۵-۴).

بر خلاف اثرات توکسیک داروهای مهـار کننـده‌ی ایمنـی، مطالعـات فارماکولوژیـک نشـان داده‌انـد کـه سیلیمارین حتی در دوزهای فیزیولوژیـک بـه نسـبت بالا، غیر سمی است. در نتیجه، پیشنهاد شده است کـه اسـتفاده از آن در درمـان بیمـاری‌هـای گونـاگون ایمونولوژیکی مورد تأکید و مطالعـه قـرار گیـرد (۶). همچنین در مطالعات دیگری بیان گردیـده اسـت کـه سیلیمارین و مشتقات آن می‌تواند اثـرات مفیـدی بـر روی برخی از عوامل خطرزای اترواسکلروزیز داشـته باشد (۷). با توجه به ویژگی سیلیمارین در مهار رشد سلولی و القای آپوپتوز در سرطان پروسـتات انسـانی (۸)، پیشـنهاد شـده اسـت کـه ایـن اثـر سـیلیمارین، می‌تواند مربـوط بـه فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانی و مهـار رادیکال‌های آزاد آن باشد (۹).

فعال شدن لنفوسـیت‌هـای T موجـب آغـاز یـک سری مسیرهای سیگنال‌دهی داخل سلولی مـی‌شـود و در کنترل اعمال مختلف سلولی از جمله بیان ژن‌هـای تنظـیم سیسـتم ایمنـی (Immunoregulatory genes) دخالت دارد. از این رو، عملکرد آن برای شروع پاسخ ایمنی ضروری است. علاوه بر این، فرایند فعال شـدن لنفوسیت T همراه با تغییرات در مولکول‌های سطحی است که بسیاری از آن‌ها در پیشـرفت پاسـخ‌هـا و یـا محدود کردن آن‌ها نقش مهمی بازی می‌کنند. افـزایش کلونی و تمایز سلولی به دلیل حضـور تعـداد زیـادی ساز و کارهای همراه بـا بـازخورد مثبـت و افزاینـده، بسیار سریع اتفاق می‌افتـد. بـه عنـوان مثـال، تولیـد و رهاسازی سایتوکاین‌های ناشی از سلول T فعال شده، تکثیر و تمایز سلول‌هـای T بـه سـلول‌هـای اجرایـی کارآمد را می‌توان ذکر کرد (۱۰).

از آن جایی که اثر سیلیمارین بر سلول‌های ایمنـی از جمله لنفوسیت‌های T تا اندازه‌ی زیـادی ناشـناخته است، به استناد گزارش‌هـای متفـاوت، مقـادیر مـورد استفاده‌ی سیلیمارین هم می‌تواند اثر مهاری بر تکثیـر سلول‌های T داشـته باشـد کـه بـا مهـار تولیـد IFNγ (Interferon gamma) و IL-۲ (Interleukin-۲) همراه است (۶) و هـم باعـث تکثیـر سـلول‌هـای T، ترشح IFN-γ، IL-۴، IL-۱۰ توسـط لنفوسـیت‌هـای فعال شود (۱۱). این در حالی است که مکانیسـم‌هـای ویژه‌ای برای اثرات نسبت داده شده به سیلیمارین بـه خوبی مشخص نیست (۲).

بر این اساس، سیلیمارین تنظیم کننـده‌ی قدرتمنـد پاسخ سیستم ایمنی است و فعالیت تحریک کنندگی و یا مهار کنندگی سیستم ایمنی آن ممکن است وابسـته به غلظت و یا روش‌هـای درمـانی باشـد. بـه عـلاوه، سیلیمارین اگر چه دارای فعالیت ضـد التهـابی اسـت،

اما مکانیسم این اثر سیلیمارین هنوز شناخته نشده است (۱۴-۱۲).

به منظور روشن شدن این تناقض و با توجه به حاشیه‌ی امنیتی بالا، این دارو می‌تواند کاربردی مفید و مؤثر در بیماری‌های ایمونولوژیکی داشته باشد که بر ضرورت این تحقیق دلالت دارد. بنابراین، هدف این مطالعه، استفاده از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (Peripheral blood mononuclear cells یا PBMCs) داوطلبین سالم و فعال‌سازی آن‌ها از طریق تحریک با کانکاناوالین A بود. همچنین اثر سیلیمارین بر تکثیر سلول‌های T فعال شده‌ی انسانی در شرایط In vitro مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

۰/۰۵ g از پودر سیلیمارین (C۰۲۹۲ ،MW: ۵۰۰/۷ g :Sigma, USA, product No) در ۱ ml دی‌متیل سولفوکساید (DMSO یا Dimethyl sulfoxide) خالص به منظور ایجاد محلول ذخیره (Stock solution) ۱۰۰ mM حل شد. محلول ذخیره در ویال‌های کوچک تقسیم و در ۲۰ ^{o}C- تا موقع استفاده نگهداری شد و مدت کوتاهی پیش از استفاده از فریزر خارج شد تا به دمای محیط آزمایشگاه برسد.

۵ mg از پودر کانکاناوالین (L۶۳۹۷: Sigma, USA, catalog No) به ۱ ml PBS (Phosphate buffered saline) استریل (pH = ۷/۴) یا ۱ ml محیط کشت اضافه شد تا محلول ذخیره‌ی ۵ mg/ml ایجاد شود. محلول ذخیره در ویال‌های کوچک تقسیم‌بندی گردید و در دمای ۲۰ ^{o}C- تا موقع استفاده نگهداری شد.

سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی از خون هپارینه‌ی افراد سالم داوطلب با تکنیک سانتریفیوژ روی فایکول جدا شدند. ۱۰ ml از خون هپارینه با حجم برابر از محلول فسفات بافر سالین (PBS) (pH = ۷/۴) مخلوط شد. محلول حاصل به آرامی بر روی فایکول برده شد و در ۲۸۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ گردید و در مرحله‌ی بعد، سلول‌های PBMC با استفاده از پیپت پاستور جمع‌آوری و سپس دو مرتبه با PBS سلول‌های جمع‌آوری شده شستشو داده شد. به دنبال آن، سلول‌ها شمارش شد و زیست پذیری آن‌ها با تریپان بلو (۰/۰۴ درصد در PBS) ارزیابی گردید و سلول‌هایی با زیست پذیری بیش از ۹۵ درصد در مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند (n = ۳).

سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی جدا شده، جهت ارزیابی ظرفیت تکثیرشان توسط ماده‌ی CFSE (Carboxyfluorescein succinimidyl ester) نشان‌دار شدند و به منظور تحریک تکثیر لنفوسیت‌های T به آن‌ها کانکاناوالین A (Con A یا Concanavalin A) (۵ µg/ml) اضافه شد. سپس سلول‌های T با غلظت‌های مختلف داروی سیلیمارین (۲۰۰، ۱۰۰، ۱۰، ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ µM) به مدت ۵ روز در محیط کشت RPMI۱۶۴۰ (Roswell Park Memorial Institute۱۶۴۰) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS یا Fetal bovine serum) و در شرایط استاندارد (CO_2 ۵-۷ درصد و دمای ۳۷ ^{o}C) انکوبه شدند. همچنین از DMSO به عنوان شاهد منفی در این آزمایش استفاده گردید. پس از ۵ روز، سلول‌ها جمع‌آوری و دو بار با محلول PBS شستشو و سانتریفوژ شدند. سپس میزان

تکثیر سلول‌ها با دستگاه فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت.

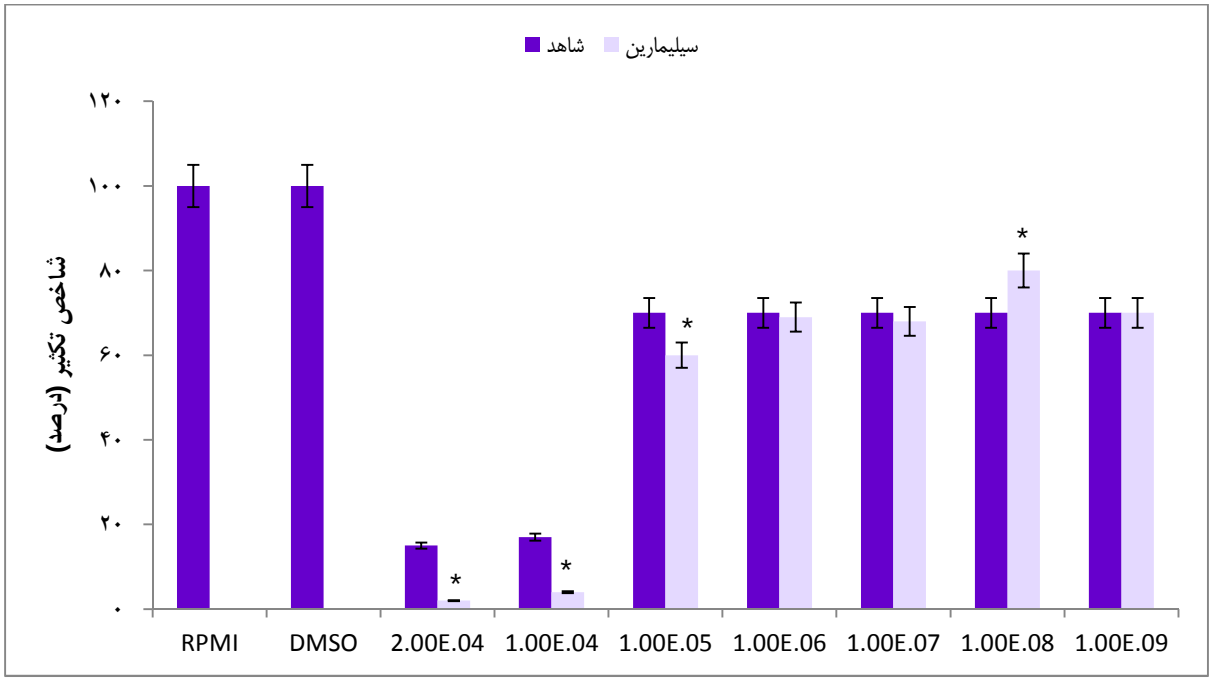
از این روش جهت تعیین میزان دوز دارویی (دوز مؤثر) که می‌تواند در مدت ۵ روز باعث آپوپتوز (Apoptosis) یا مرگ سلولی ۵۰ درصد سلول‌های PBMC شود، برای هر یک از داروها به صورت مجزا استفاده شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار Graph pad prism، درصد سلول‌های زنده بر اساس دوز محاسبه گردید و میزان IC_{50} (Half maximal inhibitory concentration) برای داروی سیلیمارین به عنوان دوز مؤثر محاسبه گردید.

تمامی آزمون‌ها حداقل سه مرتبه تکرار شدند. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار آمده است. تفاوت‌های آماری با آزمون ANOVA (Analysis of variance) مورد بررسی قرار گرفتند. $P < ۰/۰۰۱$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اثر سیلیمارین بر تکثیر سلول‌های T

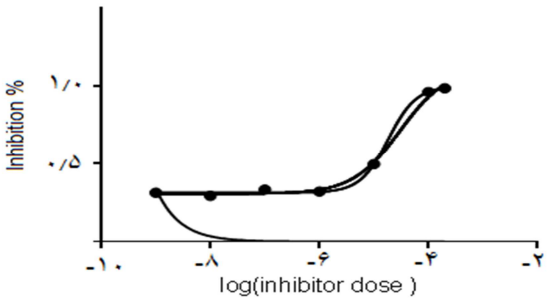
به منظور روشن شدن اثر مهاری سیلیمارین بر روی سلول‌های T، این سلول‌ها با ماده‌ی فلورسنت CFSE نشان‌دار شدند و تکثیر آن‌ها در مجاورت با غلظت‌های مختلف سیلیمارین در مقایسه با DMSO به عنوان شاهد منفی پس از انکوباسیون ۵ روزه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که سیلیمارین در غلظت‌های ۱۰۰ µM و ۲۰۰ µM به طور قابل توجهی باعث مهار سلول‌های T می‌شود. این مهار در مقایسه با میزان مهار همین سلول‌ها در مجاورت با DMSO از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۰۱$) (شکل ۱).



شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف سیلیمارین بر تکثیر سلول‌های T پس از ۵ روز انکوباسیون. نتایج نشان داد که سیلیمارین در غلظت‌های ۱۰۰ µM و ۲۰۰ µM به طور قابل ملاحظه‌ای تکثیر سلول‌های T را مهار می‌کند که از نظر آماری نیز معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۰۱$). غلظت نهایی DMSO (Dimethyl sulfoxide) (شاهد) در چاهک‌های شاهد معادل غلظت آن در چاهک‌های مورد مطالعه بود ($n = ۳$)

محاسبه‌ی IC_{50}

نتایج این روش پس از بررسی نمودار درصد سلول‌های زنده بر حسب دوز دارویی (نمودار IC_{50}) نشان داد که دوز مؤثر داروی سیلیمارین در مدت ۵ روز بر روی سلول‌های T، ۳×۱۰^{-۵} µM/ml محاسبه شد (شکل ۲).



شکل ۲. نمودار IC_{50} (Half maximal inhibitory concentration) جهت محاسبه‌ی دوز مؤثر داروی سیلیمارین بر روی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی با استفاده از نرم‌افزار Graph pad prism (نسخه‌ی ۶) که مقدار آن ۳×۱۰^{-۵} µM/ml به دست آمد

بحث

هدف این مطالعه استفاده از سلول‌های T خون محیطی داوطلبین سالم و فعال‌سازی آن‌ها از طریق تحریک با کانکاناوالین A بود. به علاوه، اثر سیلیمارین بر تکثیر سلول‌های T فعال شده‌ی انسانی در شرایط In vitro مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت.

پیوند عضو، یکی از پیچیده‌ترین و چالش برانگیزترین مباحث در علم پزشکی است. رد پیوند با به کارگیری از داروهای سرکوب کننده‌ی سیستم ایمنی از جمله راپامایسین می‌تواند کاهش پیدا کند. اگر چه ممکن است گاهی با عوارض جانبی نیز همراه باشد (۱۵). بر همین اساس، امروزه محققان درصدد هستند تا با استفاده از داروهای مکمل و جایگزین که دارای اثرات جانبی کمتر و اثربخشی بیشتری هستند، این مشکل را مرتفع سازند.

محصولات گیاهی- دارویی متعددی تاکنون به عنوان عوامل ضد التهابی و تنظیم کننده‌ی سیستم ایمنی شناخته شده‌اند که در این میان، سیلیمارین به علت داشتن اثرات محافظت کنندگی کبدی (Hepatoprotective) در درمان بیماری‌های مختلف کبدی در پاسخ‌های التهابی نظیر مسمومیت الکلی یا دارویی، مسمومیت قارچی و هپاتیت ویروسی به شکل گسترده‌ای در درمان مورد استفاده قرار می‌گیرند. هر چند که در این رابطه، خواص ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی و تعدیل ایمنی سیلیمارین را نمی‌توان از نظر دور داشت (۱۶).

به منظور تعیین اثر سیلیمارین بر روی تکثیر لنفوسیت‌های T، پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های T جدا شده از خون محیطی را پس از تحریک با کانکاناوالین A و پس از نشان‌دار کردن با CFSE مورد ارزیابی قرار داده شد. آنالیز نتایج نشان داد که سیلیمارین در بالاترین غلظت‌هایش (۱۰۰ µM و ۲۰۰ µM) پس از انکوباسیون ۵ روزه به میزان زیاد و قابل توجهی اثرات مهار کنندگی بر تکثیر سلول‌های T در مقایسه با شاهد از خود نشان داد که این یافته از نظر آماری نیز معنی‌دار بود.

همچنین محاسبه‌ی IC_{50} نشان داد که سیلیمارین در دوز ۳×۱۰^{-۵} µM/ml می‌تواند باعث مهار ۵۰ درصدی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی شود. نتایج حاصل از این تحقیق با برخی از مطالعات مشابه انجام شده همخوانی دارد؛ به طوری که در آن‌ها ضمن بررسی اثر سیلیمارین بر روی عملکرد و

تکثیر لنفوسیت‌های بر این نکته تأکید می‌کند که سیلیمارین و ترکیباتش دارای اثرات ضد التهابی و سرکوب کننده‌ی ایمنی هستند (۱۷، ۶، ۲). در مدل موشی مبتلا به هپاتیت (که در آن سلول‌های T با کانکاناوالین A تحریک شده بودند) اثر مهار کنندگی سیلیمارین بر آسیب کبدی ناشی از سلول T، مهار بیان TNF-α (Tumor necrosis factor-alpha)، IFN-γ، IL-۲ و IL-۴ و مهار نیتریک اکساید سنتاز القایی (iNOS یا Inducible nitric oxide synthase) به اثبات رسیده است (۱۸).

در مطالعه‌ی مشابه دیگری گزارش شده است که Silybin (جزء بیولوژیکی فعال و مهم سیلیمارین) در شرایط In vitro باعث مهار بلاستوژنز لنفوسیت‌های T القا شده با Anti-CD۳ و یا القا شده با میتوژن‌هایی از قبیل فیتوهماگلوتینین، کانکاناوالین A و Powekeed می‌شود (۱۹). در مطالعه‌ی دیگری که بر روی موش‌های BALB/c صورت گرفت، نشان داده شد که سیلیمارین موجب مهار بیان IL-۲ و IL-۴ می‌شود (۲۰). اگر چه تمامی مطالعات و شواهد حاکی از این است که سیلیمارین دارای اثرات ضد التهابی است، اما مکانیسم ایجاد این اثر سیلیمارین به خوبی مشخص نگردیده است. روی هم رفته، با توجه به مطالعات دیگران و تحقیق حاضر، اثرات تعدیل کنندگی ایمنی و سرکوب کنندگی سیلیمارین به غلظت آن و روش درمانی به کار رفته بستگی دارد (۱۲-۱۴).

در مجموع، نتایج بیان شده در این مطالعه نشان می‌دهد که سیلیمارین موجب مهار فعال شدن و تکثیر سلول‌های T می‌شود و در نتیجه، می‌تواند به عنوان یک عامل مهار کننده‌ی سیستم ایمنی در بیماری‌های پیوند اعضا مورد توجه قرار بگیرد. جا دارد که سیلیمارین گیاهی به عنوان یک کاندیدای جذاب برای توسعه‌ی داروهای تعدیل کننده‌ی ایمنی در مطالعات آینده مورد پژوهش و تحقیق بیشتر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد احسان الماسی به شماره‌ی طرح پژوهشی ۳۹۲۵۷۳ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. از تمامی افرادی که ما را در این تحقیق یاری نمودند، سپاسگزاری می‌شود. همچنین از شورای تحصیلات تکمیلی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جهت پشتیبانی مالی از مطالعه‌ی حاضر قدردانی گردد.

References

1. Manna SK, Mukhopadhyay A, Van NT, Aggarwal BB. Silymarin suppresses TNF-induced activation of NF-kappa B, c-Jun N-terminal kinase, and apoptosis. J Immunol 1999; 163(12): 6800-9.
2. Gharagozloo M, Amirghofran Z. Effects of silymarin on the spontaneous proliferation and cell cycle of human peripheral blood leukemia T cells. J Cancer Res Clin Oncol 2007; 133(8): 525-32.
3. Gazak R, Walterova D, Kren V. Silybin and silymarin--new and emerging applications in medicine. Curr Med Chem 2007; 14(3): 315-38.
4. Ramakrishnan G, Raghavendran HR, Vinodhkumar R, Devaki T. Suppression of N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis by silymarin in rats. Chem Biol Interact 2006; 161(2): 104-14.
5. Ramakrishnan G, Elinos-Baez CM, Jagan S, Augustine TA, Kamaraj S, Anandakumar P, et al. Silymarin downregulates COX-2 expression and attenuates hyperlipidemia during NDEA-

induced rat hepatocellular carcinoma. Mol Cell Biochem 2008; 313(1-2): 53-61.
6. Gharagozloo M, Velardi E, Bruscoli S, Agostini M, Di SM, Donato V, et al. Silymarin suppress CD4+ T cell activation and proliferation: effects on NF-kappaB activity and IL-2 production. Pharmacol Res 2010; 61(5): 405-9.
7. Sobolova L, Skottova N, Vecera R, Urbanek K. Effect of silymarin and its polyphenolic fraction on cholesterol absorption in rats. Pharmacol Res 2006; 53(2): 104-12.
8. Flaig TW, Su LJ, Harrison G, Agarwal R, Glode LM. Silibinin synergizes with mitoxantrone to inhibit cell growth and induce apoptosis in human prostate cancer cells. Int J Cancer 2007; 120(9): 2028-33.
9. Soto C, Recoba R, Barron H, Alvarez C, Favari L. Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 2003; 136(3): 205-12.
10. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology. Philadelphia, PA: Saunders; 201i. p. 365.
11. Wilasrusmee C, Kittur S, Shah G, Siddiqui J, Bruch D, Wilasrusmee S, et al. Immunostimulatory effect of Silybum Marianum (milk thistle) extract. Med Sci Monit 2002; 8(11): BR439-BR443.
12. Cruz T, Galvez J, Crespo E, Ocete MA, Zarzuelo A. Effects of silymarin on the acute stage of the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. Planta Med 2001; 67(1): 94-6.
13. Polyak SJ, Morishima C, Shuhart MC, Wang CC, Liu Y, Lee DY. Inhibition of T-cell inflammatory cytokines, hepatocyte NF-kappaB signaling, and HCV infection by standardized Silymarin. Gastroenterology 2007; 132(5): 1925-36.
14. Ramasamy K, Agarwal R. Multitargeted therapy of cancer by silymarin. Cancer Lett 2008; 269(2): 352-62.
15. Frohn C, Fricke L, Puchta JC, Kirchner H. The effect of HLA-C matching on acute renal transplant rejection. Nephrol Dial Transplant 2001; 16(2): 355-60.
16. Hussain SA, Jassim NA, Numan IT, Al-Khalifa II, Abdullah TA. Anti-inflammatory activity of silymarin in patients with knee osteoarthritis. A comparative study with piroxicam and meloxicam. Saudi Med J 2009; 30(1): 98-103.
17. Gharagozloo M, Jafari S, Esmaeil N, Javid EN, Bagherpour B, Rezaei A. Immunosuppressive effect of silymarin on mitogen-activated protein kinase signalling pathway: the impact on T cell proliferation and cytokine production. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2013; 113(3): 209-14.
18. Schumann J, Prockl J, Kiemer AK, Vollmar AM, Bang R, Tiegs G. Silibinin protects mice from T cell-dependent liver injury. J Hepatol 2003; 39(3): 333-40.
19. Meroni PL, Barcellini W, Borghi MO, Vismara A, Ferraro G, Ciani D, et al. Silybin inhibition of human T-lymphocyte activation. Int J Tissue React 1988; 10(3): 177-81.
20. Johnson VJ, He Q, Osuchowski MF, Sharma RP. Physiological responses of a natural antioxidant flavonoid mixture, silymarin, in BALB/c mice: III. Silymarin inhibits T-lymphocyte function at low doses but stimulates inflammatory processes at high doses. Planta Med 2003; 69(1): 44-9.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 07.08.2014
Vol. 32, No. 307, 4th Week, December 2014
Accepted: 18.11.2014

The Effect of Silymarin on the Proliferating of the Activated Human T Cells in Vitro

Ehsan Almasi[1], Nahid Eskandari PhD[2], Marjan Gharagozloo PhD[2], Afshin Almasi MSc[3], Vajiheh Ostadi MSc[4]

Original Article

Abstract

Background: The widespread use of herbal medicines, because of their protective effects on various organs, has been shown in many studies. Silymarin is a flavonolignan complex isolated from the milk thistle (Silybum marianum L. Gaertn), has been clinically used for its anti-inflammatory and hepatoprotective effects. Recently, immunomodulating effects of this plant have considered by the researchers. This study aimed to investigate the effect of silymarin and dimethyl sulfoxide (DMSO) on the human T lymphocyte proliferation under the cell culture conditions.

Methods: Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from the healthy individuals were activated with Con A (10 µg/ml) and treated with silymarin at different concentrations (0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 and 200 µM). Then, cells were incubated for five days at 37° C with 5% CO_2 for proliferation assay using the carboxyfluorescein succinimidyl ester (CFSE) dye and for viability analysis using flow cytometry. We analyzed the data using the Graph pad prism (version 6) software.

Findings: Silymarin had the ability to inhibit the T cell proliferation in vitro. Moreover, 100 µM and 200 µM of silymarin had more inhibitory effect on T cells ($P < 0.001$).

Conclusion: We conclude that silymarin exerts immunosuppression effects, and it could be used in therapeutic situations with fewer side effects compared with the other immunosuppressive drugs.

Keywords: Silymarin, Carboxyfluorescein succinimidyl ester, T cells, Peripheral blood mononuclear cell, Dimethyl sulfoxide

Citation: Almasi E, Eskandari N, Gharagozloo M,Almasi A, Ostadi V. **The Effect of Silymarin on the Proliferating of the Activated Human T Cells in Vitro.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(307): 1816-23

1- MSc Student, Department of Immunology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor. Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- PhD Student, Clinical Research Development Unit, Imam Reza Hospital, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
4- PhD Student, Flow Cytometry Lab AND Department of Immunology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Nahid Eskandari PhD, Email: neskandari@med.mui.ac.ir

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۷/هفته چهارم آذر ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۶/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۲

بررسی بیوانفورماتیک ارتباط اندازه‌ی ژنوم با خصوصیات ژنتیکی و رفتاری باکتری‌های بیماری‌زا

دکتر محمدرضا پورمند[۱]، زهرا پاکباز[۲]، دکتر عباس رحیمی فروشانی[۳]، سولماز اوحدیان مقدم[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: با افزایش تعداد باکتری‌هایی که توالی‌یابی می‌شوند، نیاز به بهره‌برداری از این داده‌ها نیز بیشتر می‌شود. استفاده از این اطلاعات ژنومی از طریق به کارگیری هم‌زمان علوم بیوانفورماتیک و باکتری‌شناسی امکان پذیر می‌باشد. مطالعه‌ی بیوانفورماتیک اندازه‌ی ژنوم باکتری‌های بیماری‌زا، تنوع قابل توجهی را نشان می‌دهد. فرضیات زیادی در مورد علت این تنوع و همچنین ارتباط اندازه‌ی ژنوم و فرایندهای اساسی باکتری مطرح است. هدف از انجام این مطالعه بررسی ارتباط اندازه‌ی ژنوم با تعدادی از خصوصیات ژنتیکی و رفتاری باکتری‌های بیماری‌زا بود.

روش‌ها: اطلاعات توالی ژنوم ۱۰۰ گونه باکتری بیماری‌زا از منابع گوناگون جمع‌آوری شد. ارتباط اندازه‌ی ژنوم با چند خصوصیت باکتری‌های بیماری‌زا مورد ارزیابی قرار گرفت. برای آنالیز داده‌ها، از نرم‌افزاری SPSS نسخه‌ی ۱۹ استفاده شد.

یافته‌ها: اندازه‌ی ژنوم در باکتری‌های بیماری‌زا، ارتباط معنی‌داری با تعدادی از خصوصیات ژنومی مانند درصد G + C، تعداد کلی ژن‌ها، پروتئین‌ها، Pseudogeneها، ژن‌های کسب شده و برخی از خصوصیات رفتاری و اکولوژیکی باکتری مانند تحرک، محدوده‌ی میزبان و تنفس نشان داد. هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین اندازه‌ی ژنوم، تراکم ژن در طول ژنوم و همچنین درصد DNA غیر کد کننده وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: در باکتری‌های بیماری‌زا، DNA انعطاف‌پذیری بالایی دارد و در طی تکامل، دچار کاهش اندازه می‌شود. در طی این روند، باکتری‌ها تعدادی از ژن‌های خود را از دست می‌دهند و تعداد کمتری نیز ژن کسب می‌کنند. این عوامل با کاهش تعداد پروتئین‌ها، کاهش درصد G + C و محدود ماندن زیستگاه باکتری همراه است.

واژگان کلیدی: اندازه‌ی ژنوم، بیوانفورماتیک، توالی بازها

ارجاع: پورمند محمدرضا، پاکباز زهرا، رحیمی فروشانی عباس، اوحدیان مقدم سولماز. **بررسی بیوانفورماتیک ارتباط اندازه‌ی ژنوم با خصوصیات ژنتیکی و رفتاری باکتری‌های بیماری‌زا.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۷): ۱۸۳۱-۱۸۲۴

مقدمه

باکتری‌ها تنوع زیادی را در خصوصیات ژنومی مانند اندازه‌ی ژنوم، میزان DNA غیر کد کننده (Nongenic DNA)، درصد G + C (گوانین + سیتوزین)، تعداد ژن‌ها و سودوژن‌ها (ژن‌های کاذب) نشان می‌دهند (۱). ژنوم باکتری‌ها به طور معمول شامل یک کروموزوم حلقوی با محدوده‌ی اندازه‌ی ۱۳۹ کیلو جفت باز (در ترمبلایا پرینسپس یا Tremblaya princeps) تا بیش از ۱۳ مگا جفت باز (در کتدونوباکتری راسمیفر یا

۱- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- دانشجوی دکتری، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- دانشیار، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمدرضا پورمند
Email: mpourmand@tums.ac.ir

Ktedonobacter racemifer) است (۳-۲). البته موارد استثنایی نیز وجود دارد؛ به طوری که برخی از باکتری‌ها دارای DNA خطی و تعدادی نیز دارای دو یا تعداد بیشتری کروموزوم هستند. در اغلب موارد، اندازه‌ی DNA در میان سویه‌های یک گونه دارای تنوع است و گاهی این اختلاف اندازه بسیار زیاد است (۴). به عنوان مثال، در میان سویه‌های مختلف باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس (Staphylococcus aureus)، پروکلوروکوکوس مارینوس (Prochlorococcusmarinus) و استروپتومایسس کوئلی‌کالر (Streptomyces coelicolor) بیش از ۱ مگا جفت باز اختلاف وجود دارد (۷-۵).

علت اصلی کوچک بودن ژنوم باکتری‌ها نسبت به یوکاریوت‌ها، کمتر بودن میزان DNA غیر کد کننده در باکتری‌ها است. در یوکاریوت‌ها، میزان DNA غیر کد کننده‌ی پروتئین می‌تواند حتی تا ۹۸ درصد کل ژنوم را در بر بگیرد؛ در حالی که در پروکاریوت‌ها، ژنوم فشرده‌تر است و این میزان در اغلب باکتری‌ها حدود ۱۵-۵ درصد می‌باشد (۸).

بعضی از قسمت‌های DNA غیر کد کننده به RNAهای غیر کد کننده (مانند rRNAs، tRNAs، Small nucleolar RNAs و Spliceosomal RNAs) رونویسی می‌شوند. در حالی که سایر قسمت‌های آن مانند ژن‌های کاذب (ژن‌هایی که عملکرد خود را از دست داده‌اند) و توالی‌های تکرار شونده، رونویسی نمی‌شوند. ادعا می‌شود نسبت DNA غیر کد کننده‌ی پروتئین به کل DNA، ارتباط مستقیمی با میزان پیچیدگی و تکامل موجودات زنده دارد (۹).

روند تکاملی غالب در باکتری‌های بیماری‌زا، کاهش اندازه‌ی ژنوم است که ناشی از میزان بالای غیر فعال‌سازی و از دست دادن ژنوم و میزان پایین کسب ژن می‌باشد (کسب ژن توسط باکتری‌ها از سایر پروکاریوت‌ها و حتی یوکاریوت‌ها را انتقال افقی ژن (HGT یا Horizontal gene transfer) می‌نامند) (۱۰). در ابتدا این فرضیه مطرح بود که باکتری‌هایی که ژنوم کوچک دارند، از باکتری‌هایی با ژنوم کوچک مشتق شده‌اند (۱۱)، اما امروزه مشخص شده است که اجداد این باکتری‌ها، دارای ژنوم بزرگی بوده‌اند که در گذر زمان تعدادی از ژن‌های غیر ضروری خود را از دست داده‌اند (۱۳-۱۲). با این حال، در بعضی از باکتری‌های بیماری‌زا، اندازه‌ی ژنوم بزرگ باقی مانده است. یک مثال مشهور در این زمینه، مایکوباکتریوم لپره است که ژنوم آن ۳/۲۷ مگا جفت باز دارد. انتظار می‌رود که یک باکتری با این اندازه‌ی ژنوم، بتواند حدود ۳۰۰۰ پروتئین کد کند، اما این باکتری حدود ۱۶۰۰ ژن کد کننده‌ی پروتئین دارد. تعداد زیادی از ژن‌های این باکتری، عملکرد خود را از دست داده‌اند؛ به طوری که ۱۱۱۶ عدد ژن کاذب دارد (۱۴).

تحقیقات گسترده‌ای در مورد ژنوم باکتری‌های بیماری‌زا انجام و هزینه‌های بسیاری برای این منظور صرف شده است (۱۵). در صورتی که اطلاعات به دست آمده از تعیین توالی کامل این باکتری‌ها در شناسایی دقیق‌تر خصوصیات آن‌ها مورد استفاده قرار نگیرد، تمامی تلاش‌ها و سرمایه‌گذاری‌ها در این زمینه به هدر رفته است. استفاده از این اطلاعات ژنومی، بستگی به آموزش و توانایی محققان در پردازش این خصوصیات دارد.

در مطالعه‌ی حاضر، چندین پتانسیل توالی ژنوم

باکتری‌های بیماری‌زا مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به این که اندازه‌ی ژنوم تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند شرایط محیطی، متابولیکی و انتقال افقی ژن‌ها قرار دارد، بنابراین ارتباط بین اندازه‌ی ژنوم باکتری‌های بیماری‌زا و یک سری از خصوصیات ژنتیکی (مانند تعداد کلی ژن‌ها، ژن‌های کاذب و پروتئین‌ها، تراکم ژن‌ها، درصد DNA غیر کد کننده و تعداد HGT)، اکولوژیکی (مانند تنوع میزبان و شرایط زیستگاهی که باکتری‌ها در آن زندگی می کنند) و رفتاری (مانند متحرک یا غیر متحرک بودن و همچنین نوع تنفس باکتری) مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش‌ها

جهت انجام این مطالعه، اطلاعات ژنومی ۱۰۰ گونه باکتری بیماری‌زا به صورت تصادفی از سایت NCBI (National Center for Biotechnology Information) جمع‌آوری شد. به دلیل این که چندین سویه از هر گونه توالی‌یابی شد، در مجموع اطلاعات ۶۱۸ سویه به دست آمد که به صورت تصادفی از هر گونه یک سویه انتخاب و سایر سویه‌های متعلق به آن گونه، از مطالعه خارج شدند. اطلاعات جمع‌آوری شده از هر گونه‌ی باکتری شامل اندازه‌ی ژنوم، تعداد ژن، تعداد پروتئین و ژن‌های کاذب، درصد DNA غیر کد کننده، تراکم ژن‌ها (تعداد ژن‌ها در هر مگا جفت باز)، تحرک، محدوده‌ی میزبانی و تنفس (هوازی، بی‌هوازی اجباری، بی‌هوازی اختیاری و میکروائروفیل) بود. از سایت http://genomes.urv.es/HGT-DB برای جمع‌آوری اطلاعات مربوط به تعداد HGT در هر باکتری استفاده شد و اطلاعات مربوط به اندازه‌ی DNA غیر کد کننده برای گونه‌های مورد مطالعه نیز از منابع مرتبط به دست آمد.

داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) وارد شد و با استفاده از روش‌های آماری ضریب همبستگی Pearson، t مستقل و One-way ANOVA (One-way analysis of variance) مورد تحلیل و بررسی قرار گرفت. $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین اندازه‌ی ژنوم ۱/۸۰ ± ۳/۱۸ مگا جفت باز بود و مایکوپلاسما ژنیتالوم کوچک‌ترین (۵۸۰ جفت باز) و نوکاردیا برازیلینیس بزرگ‌ترین اندازه‌ی ژنوم (۹/۴۴ مگا جفت باز) را دارا بودند. میانگین درصد G + C نیز ۱۳/۰۰ ± ۴۵/۳۳ درصد بود که از ۲۵/۸ درصد در اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم تا ۷۰/۸ درصد در نوکاردیا فارسینیکا متغیر بود. ارتباط معنی‌داری بین اندازه‌ی ژنوم و درصد G + C مشاهده گردید ($P < ۰/۰۰۱$)؛ به طوری که با افزایش اندازه‌ی ژنوم، درصد G + C نیز افزایش یافت و بالعکس.

تعداد ژن‌ها از ۵۲۴ عدد در مایکوپلاسما ژنیتالوم تا ۸۴۷۴ عدد در نوکاردیا فارسینیکا متغیر بود. میانگین تعداد ژن‌ها نیز ۱۶۵۰ ± ۳۰۱۳ بود. با بررسی ارتباط بین تعداد ژن و اندازه‌ی ژنوم، ارتباط معنی‌داری بین این دو متغیر مشاهده گردید ($P < ۰/۰۰۱$). محدوده‌ی تعداد پروتئین‌ها از ۴۷۵ عدد در مایکوپلاسما ژنیتالوم تا ۸۴۱۴ عدد در نوکاردیا برازیلینیس متغیر بود. میانگین تعداد پروتئین‌ها نیز ۱۶۵۲ ± ۲۷۷۲ عدد بود. ارتباط

معنی‌داری بین اندازه‌ی ژنوم و تعداد پروتئین‌های کد شده توسط باکتری‌ها مشاهده گردید (P < ۰/۰۰۱).

پراکندگی تعداد ژن‌های کاذب در باکتری‌ها بسیار زیاد است؛ به طوری که بیشترین تعداد آن، ۱۱۱۵ عدد بود که در مایکوباکتریوم لپره وجود داشت و در ۲۳ نمونه، هیچ ژن کاذبی وجود نداشت. میانگین تعداد ژن‌های کاذب ۷۸/۴ ± ۱۵۶/۰ بود و ارتباط معنی‌داری بین اندازه‌ی ژنوم و تعداد ژن کاذب به دست آمد (P = ۰/۰۱۲). درصد DNA غیر کد کننده نیز پراکندگی زیادی را نشان داد؛ به طوری که کمترین آن، ۵ درصد (در استرپتوکوکوس موتانس) و بیشترین آن نیز ۵۰ درصد (در مایکوباکتریوم لپره) بود و میانگین آن ۷ ± ۱۴ درصد به دست آمد. ارتباط معنی‌داری بین این متغیر و اندازه‌ی ژنوم مشاهده نگردید (P = ۰/۵۶۰). میانگین تراکم ژن‌ها در طول ژنوم ۷۲ ± ۹۴۹ ژن در هر مگا جفت باز بود و کمترین و بیشترین تراکم به ترتیب ۷۸۶ در بارتونلا کوئین‌تانا و ۱۲۲۶ در نایسریا گونوره بود. تراکم ژن‌ها ارتباط معنی‌داری با اندازه‌ی ژنوم نشان نداد (P = ۰/۳۸۰). بدین معنی که نمی‌توان گفت با افزایش اندازه‌ی ژنوم، تراکم ژن‌ها در طول ژنوم کم یا زیاد می‌شود.

تعداد HGT در ۸۲ نمونه به دست آمد و مشاهده شد که تعداد این متغیر نیز پراکندگی زیادی دارد؛ به طوری که بیشترین تعداد، ۵۹۵ عدد (در سودوموناس ائروژینوزا) و کمترین آن نیز ۶ عدد (در مایکوپلاسما پنترانس) بود. ارتباط معنی‌داری بین این متغیر و اندازه‌ی ژنوم مشاهده شد (P < ۰/۰۰۱).

ارتباط اندازه‌ی ژنوم و خصوصیات رفتاری و اکولوژیکی باکتری نیز مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که ارتباط معنی‌داری بین اندازه‌ی ژنوم و خصوصیات اکولوژیکی باکتری وجود دارد (P = ۰/۰۱۴)؛ به طوری که میانگین اندازه‌ی ژنوم در باکتری‌هایی که محدوده‌ی میزبانی وسیعی داشتند (شرایط اکولوژیکی متنوعی را می‌پسندند) (۳/۸۷ ± ۱/۹۲)، بیشتر از باکتری هایی بود که محدوده ی میزبانی محدودی داشتند (باکتری هایی که در یک شرایط اکولوژیکی ثابت زندگی می کنند و اغلب در ارتباط با میزبان خود هستند) (۱/۶۰ ± ۲/۷۰). میانگین اندازه‌ی ژنوم در باکتری های متحرک (۱/۹۰ ± ۳/۸۰) بیشتر از باکتری‌های غیر متحرک (۱/۵۰ ± ۲/۸۰) است.

آنالیز آماری نشان داد که بین اندازه‌ی ژنوم و تحرک باکتری ارتباط معنی‌داری وجود دارد (P = ۰/۰۰۶). میانگین اندازه‌ی DNA در باکتری‌هایی که تنفس هوازی اجباری (۱/۵۰ ± ۳/۳۰) و بی‌هوازی اختیاری (۱/۷ ± ۳/۳) داشتند، به طور تقریبی برابر است و بیشتر از باکتری‌هایی با تنفس بی‌هوازی اجباری (۱/۰۰ ± ۲/۸۰) و میکروائروفیل (۰/۴۰ ± ۱/۵۰) است. ارتباط معنی‌داری نیز بین نوع تنفس و اندازه‌ی DNA باکتری‌ها به دست آمد (P = ۰/۰۲۰). جدول ۱، سنجش آزمون متغیرهای رفتاری در برابر اندازه‌ی ژنوم و میانگین اندازه‌ی DNA در این متغیرها را نشان می‌دهد.

بحث

بعد از تعیین توالی DNA تعداد زیادی از باکتری‌های بیماری‌زا، محققان پی بردند که تنوع زیادی در اندازه‌ی ژنوم گونه‌های مختلف وجود دارد. به نظر می‌رسد که ارتباط مشهودی بین اندازه‌ی ژنوم و برخی از خصوصیات باکتری وجود دارد. در این مطالعه، به بررسی وجود یا عدم وجود ارتباط بین

جدول ۱. سنجش آزمون متغیرهای رفتاری در برابر اندازه‌ی ژنوم

خصوصیات باکتری		تعداد گونه‌های باکتریایی	میانگین اندازه‌ی DNA (Mbp)	سنجش آزمون
تحرک	متحرک	۳۷	۳/۸۰ ± ۱/۹۰ (۱/۰۳–۸/۷۴)	P = ۰/۰۰۶ T = ۱/۸۳۰
	غیر متحرک	۶۳	۲/۸۰ ± ۱/۵۰ (۰/۵۸–۹/۴۴)	
محدوده‌ی میزبانی	محدود	۴۱	۲/۷۰ ± ۱/۶۰ (۰/۵۸–۷/۲۲)	P = ۰/۰۱۴ T = ۲/۰۰۰
	وسیع	۴۹	۳/۸۷ ± ۱/۹۲ (۱/۵۸–۹/۴۴)	
تنفس	هوازی اجباری	۳۸	۳/۵۰ ± ۲/۱۰ (۰/۸۲–۹/۴۴)	P = ۰/۰۲۰ F = ۳/۲۰۰
	بی‌هوازی اختیاری	۴۶	۳/۳۰ ± ۱/۵۷ (۰/۵۸–۵/۹۷)	
	بی‌هوازی اجباری	۸	۳/۰۰ ± ۰/۷۰ (۲/۱۷–۴/۱۱)	
	میکروائروفیل	۸	۱/۵۰ ± ۰/۴۰ (۰/۹۰–۲/۳۴)	

اندازه‌ی ژنوم باکتری‌های بیماری‌زا با تعدادی از خصوصیات باکتری پرداخته شد و مشخص گردید که بین اندازه‌ی ژنوم این باکتری‌ها و متغیرهایی مانند درصد G + C، تعداد ژن‌ها، پروتئین‌ها، سودژن‌ها و ژن‌های کسب شده، تحرک، تنفس و زیستگاه باکتری ارتباط معنی‌داری وجود دارد.

یکی از دلایل اصلی تفاوت در اندازه‌ی ژنوم باکتری‌ها، تفاوت در تعداد ژن‌های کد کننده‌ی پروتئین است. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که ارتباط معنی‌داری بین اندازه‌ی ژنوم و تعداد ژن‌های عملکردی باکتری وجود دارد (۱۷–۱۶). علت کاهش اندازه‌ی ژنوم در باکتری‌هایی که ژنوم کوچکی دارند، از دست دادن کامل تعدادی از ژن‌ها است و به همین علت است که کاهش اندازه‌ی ژنوم، منجر به افزایش تراکم ژن‌ها نمی‌شود (۱۸).

محدوده‌ی میزان G + C در باکتری‌ها از ۲۵ درصد (در مایکوپلاسما) تا ۷۵ درصد (در میکروکوکوس‌ها) متغیر است (۱۰). در طی چندین مطالعه، ارتباط واضحی بین اندازه‌ی ژنوم و درصد G + C نشان داده شده است و این توضیح وجود دارد که باکتری‌هایی که به صورت انگل اجباری میزبان هستند، اغلب غنی از بازهای آدنین (A) و تیمین (T) هستند. میانگین درصد G + C در باکتری‌هایی با زندگی آزاد حدود ۴۹ درصد و در باکتری‌هایی که انگل اجباری میزبان هستند، حدود ۳۸ درصد است (۱۹).

باکتری‌های اخیر، DNA کوچک‌تری دارند و تمایل دارند ژن‌های درگیر در تعمیر DNA (DNA repair) را از دست بدهند. بنابراین احتمال ایجاد جهش‌هایی مانند دآمیناسیون سیتوزین و

اکسیداسیون گوانین افزایش می‌یابد. این جهش‌ها منجر به افزایش میزان آدنین و تیمین می‌شوند (۲۰).

مایکوپلاسما ژنیتالیوم کوچک‌ترین ژنوم را در بین باکتری‌ها دارا می‌باشد و ژن‌های مربوط به کد نمودن آنزیم‌های لازم برای بیوسنتز اسیدهای آمینه، تولید دیواره‌ی سلولی، چرخه‌ی تری‌کربوکسیلیک اسید و تعداد زیادی از دیگر ژن‌های مربوط به بیوسنتز را ندارد. در مقابل، باکتری‌هایی با زندگی آزاد تعداد زیادی ژن به منظور کد نمودن آنزیم‌های لازم برای بیوسنتز ترکیبات گوناگون و همچنین انتقال مواد مختلف را دارا می‌باشند. اندازه‌ی DNA در کوچک‌ترین باکتری‌های با زندگی آزاد، بیش از ۱۰۰۰ کیلو جفت باز است. بنابراین یافته‌های مطالعه‌ی حاضر بر این ارتباط معنی‌دار صحه می‌گذارد (۲۱).

باکتری‌هایی که اندازه‌ی ژنوم کوچکی دارند، تمایل دارند در یک شرایط اکولوژیکی ثابت زندگی کنند و اغلب در ارتباط با میزبان خود باشند؛ در حالی که باکتری‌هایی که ژنوم بزرگی دارند، شرایط اکولوژیکی متنوعی را می‌پسندند (۲۲). کسب ژن می‌تواند تأثیر بسیار زیادی روی الگوی زندگی میکروارگانیسم‌ها داشته باشد؛ چرا که به باکتری‌ها توانایی متابولیکی جدیدی می‌دهد. باکتری‌های بیماری‌زا با طیف میزبانی محدود، شانس کمتری برای کسب ژن دارند و به همین دلیل، کسب ژن در این باکتری‌ها بسیار کم رخ می‌دهد (۲۴-۲۳). یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نیز بر یافته‌های قبل منطبق است.

گونه‌های باکتریایی که در یک جنس قرار دارند و حتی تعداد زیادی از جنس‌هایی که از نظر فیلوژنتیکی ارتباط نزدیکی با هم دارند، درصد DNA غیر کد کننده‌ی مشابهی دارند. در یک مطالعه، به این فرضیه دست یافتند که هر چه موجودات زنده متکامل‌تر باشند، درصد DNA غیر کد کننده‌ی آن‌ها بیشتر است؛ به طوری که انسان بیشترین و باکتری‌ها کمترین میزان را دارا می‌باشند (۱۰). با توجه به این که اندازه‌ی ژنوم باکتری‌ها در طی تکامل کوچک می‌شود، بنابراین انتظار می‌رود که باکتری‌هایی با DNA کوچک درصد DNA غیر کد کننده‌ی بیشتری داشته باشند، اما آنالیز آماری نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین اندازه‌ی DNA و درصد DNA غیر کد کننده وجود ندارد.

مکانیسم‌های زیادی برای تکامل باکتری‌ها وجود دارد. به طور کلی می‌توان گفت که تکامل و پیشرفت باکتری‌های بیماری‌زا با کاهش عناصر متحرک، نوترکیبی، تعداد ژن‌های کسب شده و پروتئین همراه است. این عوامل، منجر به کاهش اندازه‌ی ژنوم می‌شوند. از طرفی، کمتر بودن میزان پروتئین‌های تنظیمی در باکتری‌هایی با ژنوم کوچک نیز باعث کاهش درصد G + C می‌شود. تعداد زیادی از باکتری‌ها به طور کامل توالی‌یابی شده‌اند و در موارد زیادی، حتی چندین سویه از هر گونه تعیین توالی شده است. اطلاعات مربوط به توالی باکتری‌ها در حال افزایش و تغییر است. مطالعه‌ی حاضر، ارتباط معنی‌دار تعدادی از خصوصیات باکتریایی را با اندازه‌ی ژنوم در باکتری‌های بیماری‌زا نشان داد. دانش و آگاهی نسبت به این رابطه‌ها، در مورد پیش‌بینی مشخصات باکتری از طریق بررسی ژنوم آن‌ها کمک کننده خواهد بود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تهران کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Ochman H. Bacterial evolution: chromosome arithmetic and geometry. Curr Biol 2002; 12(12): R427-R428.
2. McCutcheon JP, von Dohlen CD. An interdependent metabolic patchwork in the nested symbiosis of mealybugs. Curr Biol 2011; 21(16): 1366-72.
3. Chang YJ, Land M, Hauser L, Chertkov O, Del Rio TG, Nolan M, et al. Non-contiguous finished genome sequence and contextual data of the filamentous soil bacterium Ktedonobacter racemifer type strain (SOSP1-21). Stand Genomic Sci 2011; 5(1): 97-111.
4. Krawiec S, Riley M. Organization of the bacterial chromosome. Microbiol Rev 1990; 54(4): 502-39.
5. Rocap G, Larimer FW, Lamerdin J, Malfatti S, Chain P, Ahlgren NA, et al. Genome divergence in two Prochlorococcus ecotypes reflects oceanic niche differentiation. Nature 2003; 424(6952): 1042-7.
6. Weaver D, Karoonuthaisiri N, Tsai HH, Huang CH, Ho ML, Gai S, et al. Genome plasticity in Streptomyces: identification of 1 Mb TIRs in the S. coelicolor A3(2) chromosome. Mol Microbiol 2004; 51(6): 1535-50.
7. Pourmand MR, Foster S. A novel bioinformatic approach for staphylococcal vaccine development. Tehran Univ Med J 2006; 64(6): 19-26. [In Persian].
8. Westhof E. The amazing world of bacterial structured RNAs. Genome Biol 2010; 11(3): 108.
9. Taft RJ, Mattick JS. Increasing biological complexity is positively correlated with the relative genome-wide expansion of non-protein-coding DNA sequences. Genome Biol 2003; 5(1): 423-68.
10. Lawrence JG. Common themes in the genome strategies of pathogens. Curr Opin Genet Dev 2005; 15(6): 584-8.
11. Wallace DC, Morowitz HJ. Genome size and evolution. Chromosoma 1973; 40(2): 121-6.
12. Woese CR, Maniloff J, Zablen LB. Phylogenetic analysis of the mycoplasmas. Proc Natl Acad Sci U S A 1980; 77(1): 494-8.
13. Weisburg WG, Woese CR, Dobson ME, Weiss E. A common origin of rickettsiae and certain plant pathogens. Science 1985; 230(4725): 556-8.
14. Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J, James KD, Thomson NR, Wheeler PR, et al. Massive gene decay in the leprosy bacillus. Nature 2001; 409(6823): 1007-11.
15. Havaei S, Ohadian Moghadam S, Pourmand MR, Faghri J. Prevalence of genes encoding bi-component leukocidins among clinical isolates of methicillin resistant staphylococcus aureus. Iran J Public Health 2010; 39(1): 8-14. [In Persian].
16. Daubin V, Moran NA. Comment on "The origins of genome complexity". Science 2004; 306(5698): 978.
17. Koonin EV. Evolution of genome architecture. Int J Biochem Cell Biol 2009; 41(2): 298-306.
18. Moran NA. Microbial minimalism: genome reduction in bacterial pathogens. Cell 2002; 108(5): 583-6.
19. Rocha EP, Danchin A. Base composition bias might result from competition for metabolic resources. Trends Genet 2002; 18(6): 291-4.
20. Lind PA, Andersson DI. Whole-genome mutational biases in bacteria. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105(46): 17878-83.
21. Glass JI, Assad-Garcia N, Alperovich N, Yooseph S, Lewis MR, Maruf M, et al. Essential genes of a minimal bacterium. Proc Natl Acad Sci U S A 2006; 103(2): 425-30.
22. Barre A, de Daruvar A, Blanchard A. MolliGen, a database dedicated to the comparative genomics of Mollicutes. Nucleic Acids Res 2004; 32(Database issue): D307-D310.
23. Garcia-Vallve S, Romeu A, Palau J. Horizontal gene transfer of glycosyl hydrolases of the rumen fungi. Mol Biol Evol 2000; 17(3): 352-61.
24. Garcia-Vallve S, Simo FX, Montero MA, Arola L, Romeu A. Simultaneous horizontal gene transfer of a gene coding for ribosomal protein l27 and operational genes in Arthrobacter sp. J Mol Evol 2002; 55(6): 632-7.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 14.09.2014
Vol. 32, No. 307, 4th Week, December 2014
Accepted: 23.11.2014

Evaluating the Correlation of Genome Size and Behavioral and Ecological Characteristics in Pathogenic Bacteria

Mohammad Reza Pourmand PhD[1], Zahra Pakbaz MSc[2], Abbas Rahimi-Foroushani PhD[3], Solmaz Ohadian-Moghadam MSc[2]

Original Article

Abstract

Background: Increasing number of bacteria, which their genome is sequenced, leads to wide spread utilization of this data. Use of genomic information is possible through the simultaneous application of bioinformatics and bacteriology. Bioinformatics study of pathogenic bacteria indicates significant variation in genome size. There are several hypotheses about the reason of this variety as well as the relationship of fundamental processes of bacteria and genome size. This study aimed to investigate the relationship of genetic characteristics and behavior of pathogenic bacteria and genome size.

Methods: The genome sequence data of 100 species of pathogenic bacteria were collected from different sources. The association of genome size and some characteristics of pathogenic bacteria was evaluated. Data were analyzed using $SPSS_{19.0}$ statistical software.

Findings: A significant relation was observed between the genome sizes of pathogenic bacteria with regard to some genomic features including the percentage of G + C content, the total number of genes, proteins, pseudogenes, acquired genes and some behavioral and ecological characteristics of bacteria, such as mobility, host range and breathing. Gene distribution and percent of non-protein-coding DNA had no correlation with genome size.

Conclusion: There is a high DNA flexibility in pathogenic bacteria, and the size of the DNA is decreased during the evolution. This may lead to loss of some genes and less often acquire genes. These factors cause a reduction in the number of proteins and G + C percentage of bacteria which may account for their habitat limitations.

Keywords: Genome size, Bioinformatics, Base sequence

Citation: Pourmand MR, Pakbaz Z, Rahimi-Foroushani A, Ohadian-Moghadam S. **Evaluating the Correlation of Genome Size with Behavioral and Ecological Characteristics in Pathogenic Bacteria.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(307): 1824-31

1- Associate Professor, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- PhD Student, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Associate Professor, Department of Statistics and Epidemiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Mohammad Reza Pourmand PhD, Email: mpourmand@tums.ac.ir

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۷/هفته چهارم آذر ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۲۴

اثرات حفاظت کلیوی متفورمین

دکتر محمود رفیعیان کوپایی[۱]، دکتر فاطمه قائد امینی[۲]، دکتر حمید نصری[۳]

مقاله کوتاه

چکیده

متفورمین به عنوان یک دارو از دسته‌ی بی‌گوانیدها حدود ۵۰ سال پیش وارد بازار دارویی شد و هم اکنون به عنوان یک داروی خط اول در درمان دیابت نوع ۲، به خصوص در افراد با وزن بالا مطرح است. در سال‌های اخیر، برای این دارو کاربردهای جدیدی نیز مطرح شده است. از جمله این که به این دارو، به عنوان محافظ کلیه توجه زیادی می‌شود. مطالعات اخیر، مشخص کرده‌اند که متفورمین خواص آنتی‌اکسیدانی خوبی دارد. کاهش آپوپتوز ناشی از اکسیداتیو استرس در سلول‌های اندوتلیال و مهار اختلالات عروقی نیز با مصرف متفورمین گزارش شده است.

واژگان کلیدی: متفورمین، حفاظت کلیوی، استرس اکسیداتیو، آنتی اکسیدان

ارجاع: رفیعیان کوپایی محمود، قائد امینی فاطمه، نصری حمید. **اثرات حفاظت کلیوی متفورمین.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۷): ۱۸۳۷-۱۸۳۲

مقدمه

متفورمین، به عنوان یکی از داروهای بی‌گوانید، حدود ۵۰ سال پیش وارد بازار دارویی شد و اکنون، به عنوان خط اول درمان دیابت نوع ۲، به خصوص در بیماران دارای اضافه وزن توصیه می‌شود. در چند سال گذشته، اندیکاسیون‌های جدیدی نیز برای استفاده از این دارو مطرح گردید (۳-۱).

متفورمین، حساسیت کبد و بافت‌های محیطی را به انسولین افزایش می‌دهد، تولید گلوکز پایه‌ی کبد را کاهش و برداشت گلوکز با واسطه‌ی انسولین را افزایش می‌دهد. همچنین باعث استفاده‌ی بهتر گلوکز در بافت‌های محیطی، کاهش اشتها و کاهش وزن نیز می‌گردد (۴-۳، ۱).

در سال‌های اخیر، به اثرات احتمالی متفورمین در حفاظت از کلیه توجه زیادی معطوف شده است و مطالعات زیادی خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن را اثبات نموده‌اند (۵، ۱). کاهش آپوپتوز ناشی از استرس اکسیداتیو در سلول‌های اندوتلیالی و جلوگیری از اختلال عملکرد عروقی نیز در درمان با متفورمین مشاهده شده است (۶-۵، ۱).

پیش از این Morales و همکاران نشان دادند که آسیب توبول کلیوی ناشی از جنتامایسین، توسط متفورمین بهبود می‌یابد (۷).

به منظور بررسی بیشتر اثر اصلاحی متفورمین در برابر سمیت توبولی جنتامایسین، پژوهشگران مطالعه‌ی حاضر مطالعه‌ای بر روی موش صحرایی نر

۱- استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲- پزشک عمومی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳- استاد، گروه نفرولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر حمید نصری
Email: hamidnasri@med.mui.ac.ir

نـژاد ویسـتار طراحـی کردنـد. در ایـن مطالعـه، اثـر حفاظتی متفورمین در برابر سمیت کلیوی حـاد ناشـی از جنتامایسین مشاهده شد (۸). طـاهری و همکـاران توانایی متفورمین در بهبودی آسیب ناشی از ایسـکمی و ری پرفیوژن مجدد یک طرفه را در موش صـحرایی بررسی کردند. نتـایج بـه دسـت آمـده نیـز مطـابق بـا یافته‌های پژوهش قبل (۸) بود (۹). چندی پیش، برای بررسی اثر درمان همزمان عصاره‌ی سـیر و متفـورمین در پیشـگیری از ایجـاد سـمیت کلیـوی توسـط جنتامایسین در موش صحرایی، مطالعه‌ی دیگـری بـر روی ۷۰ موش صحرایی نر طراحی شـد (۱۰). نتـایج این مطالعه نیز حاکی از آن بود که متفـورمین، سـیر و ترکیب آن‌ها هم اثرات درمانی و هم اثر پیشـگیرانه در برابر سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین دارند. از این رو، می‌تـوان عصـاره‌ی سـیر را همـراه متفـورمین بـه منظور افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی و اصلاح سـمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین به کار برد (۱۰).

آنـــــزیم شـــــناخته شـــــده‌ی AMPK (5' adenosine mono phosphate-activated protein kinase) یک آنزیم سـرین/ترئونین پـروتئین کیناز می‌باشد که در ارتبـاط بـا فعالیـت چنـد گانـه‌ی متفـورمین اسـت. ایـن آنـزیم، متابولیسـم سـلولی و ارگان‌ها را تنظیم و نقش مهمی در حفاظـت عملکـرد سلولی بازی می‌کند. داده‌های متعـدد دلالـت بـر ایـن دارد که فعالیت AMPK به وسیله‌ی متفورمین، ثانویـه به اثـر آن بـر روی میتوکنـدری‌هـا اسـت (۱۱، ۶-۵). یافتـه‌هـای اخیـر، اثـرات میتوکنـدریایی متفـورمین را آشکار نموده‌اند. در حقیقت، شواهدی وجود دارد کـه هنگامی که این دارو به تنهایی استفاده می‌شود، اثـرات سودمندانه‌ی آن ممکن است ناشی از مهار خفیـف در چرخه‌ی تنفس میتوکندریایی باشد (۱۲-۱۱، ۶-۵).

شواهدی وجود دارد که درمـان بـا متفـورمین بـه طـور مشـهودی افـزایش تولیـد مالونـدی آلدهیـد و گونـــه‌هـــای آزاد اکســـیژن را کـــاهش مـــی‌دهـــد و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیماتیک و غیر آنزیماتیـک را نیـز تنظیم می‌کند (۵). پس اثـرات اصـلاحی ایـن دارو در مقابل اثرات سمی وارد شده به توبول‌های کلیـوی، از این راه هم می‌تواند باشد (۱۴-۶).

پرسش اساسی این است که «آیـا ایـن یافتـه‌هـای تجربی در بالین هم کاربرد دارند؟». به طـور تقریبـی، همه در استفاده از متفورمین به عنوان داروی خط اول کاهنده‌ی گلوکز هم عقیده هستند (۱۹-۱۵). اگـر چـه به خاطر منع مصرف‌های متعدد، این دارو را نمی‌توان بدون دغدغه استفاده کرد؛ چرا که ممکن است منجـر به افزایش خطر ایجاد اسیدوز لاکتیک در بیماران مبتلا به دیابت شود (۱۷-۱۶، ۲-۱).

دانشمندان تأکید می‌کنند که این دارو در افـراد بـا GFR (Glomerular filtration rate) کمتـــر از ۶۰ ml/min باید با احتیاط مصرف شود و هنگامی که GFR کمتر از ۳۰ ml/min می‌شود، از ادامه‌ی درمـان خودداری گردد (۱۷-۱۶، ۲-۱).

اسیدوز لاکتیک ناشی از متفـورمین، یـک اخـتلال شدید متابولیک با مرگ و میر بالا می‌باشد (۱۸). البتـه خطر ایجاد اسـیدوز لاکتیـک ناشـی از متفـورمین، بـا اجتناب از اسـتفاده از ایـن دارو در بیمـاران بـا خطـر بالای سپسیس، نارسایی کلیوی، هیپوولومی و بیماران با کاهش عملکرد کلیوی مانند بیمـاران مسـن کـاهش پیدا می‌کند (۱۸-۱۶).

Papanas و همکاران در مطالعـه‌ای رابطـه‌ی بـین متفورمین و نارسایی قلبی را بررسی کردند. نتایج ایـن

مطالعه حاکی از آن بود که متفورمین حتی می‌تواند خطر ناتوانی و مرگ و میر ناشی از نارسایی قلبی را در بیماران مبتلا به دیابت کاهش دهد (۱۹).

به منظور یافتن مزایای درمان متفورمین و انسولین درمانی در کنترل قند خون در بیماران بدحال، مجتهدزاده و همکاران، ۳۳ بیمار بزرگسال بستری در بیمارستان را مورد بررسی قرار دادند. بیماران به منظور حفظ قند خون بین ۱۲۰-۸۰ mg/dl به صورت تصادفی در یکی از این سه پروتکل درمانی قرار گرفتند. A: تک درمانی با انسولین، B: تک درمانی با متفورمین، C: درمان با انسولین و متفورمین. یافته‌ها نشان داد که متفورمین قادر به کاهش دادن نیاز به انسولین درمانی در کنترل قند خون بیماران بدحال می‌باشد. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که متفورمین قادر به کاهش مقاومت به انسولین بدون ایجاد اسیدوز لاکتیک می‌باشد (۲۰).

از سوی دیگر، ممکن است استفاده از متفورمین در بسیاری از بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیوی با توجه به مزایای مرتبط با کاهش سندرم متابولیک و حفاظت قلبی- عروقی، مطلوب باشد. اسیدوز لاکتیک شدید ناشی از متفورمین در نبود نارسایی مزمن کلیوی کم است و محدودیت استفاده از دارو در این بیماران را از بین می‌برد (۱۹، ۱۶).

نفروپاتی دیابتی، یکی از مهم‌ترین عوارض دیابت شیرین است (۲۶-۲۱) و متفورمین به صورت گسترده‌ای برای درمان بیماران دیابت نوع۲ استفاده می‌شود (۱۸-۱۷). Kim و همکاران، مطالعه‌ای با استفاده از متفورمین در موش‌های مبتلا به دیابت برای مدت ۱۷ هفته انجام دادند. آن‌ها مشاهده کردند که درمان موش‌های مبتلا به دیابت با متفورمین، پودوسیت‌ها را ترمیم کرد. آن‌ها معتقد هستندکه از دست دادن پودوسیت‌ها در نفروپاتی دیابتی، می‌تواند با متفورمین مهار شود و این اتفاق از طریق مهار آسیب اکسیداتیو رخ خواهد داد (۲۷).

بنابراین طبق نتایج مطالعه‌ی حاضر و سایر مطالعات، متفورمین با ویژگی آنتی‌اکسیداتیو در برابر استرس اکسیداتیو در توبول‌های کلیوی، در برابر آسیب توبولی نقش حفاظتی دارد.

طبق مطالعه‌ی Kim و همکاران، متفورمین از پودوسیت‌ها نیز در نفروپاتی دیابتی محافظت می‌کند؛ در حالی که در نفروپاتی دیابتی، آسیب سلول توبولی ناشی از گلوکزوری نیز وجود دارد (۳۰-۲۷). این یافته‌ها می‌تواند استفاده‌ی بالینی متفورمین در جلوگیری از نفروپاتی دیابتی را قوت بخشد (۴۱-۳۱، ۲۶). در این خصوص، به منظور درک بهتر حفاظت کلیوی متفورمین مطالعات آزمایشگاهی بر روی مدل‌های حیوانی و مطالعات بالینی بیشتری پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

استفاده از متفورمین در دیابت با سه سودمندی همراه است: نخست این که به کنترل قند خون کمک می‌کند، دوم این که با توجه به در معرض آسیب بودن توبول‌های کلیه در نفروپاتی دیابتی، متفورمین با ساز و کارهای پیش‌گفته، در ثبات توبول‌های کلیه مؤثر است. سوم آن که با حفاظت از پودوسیت‌ها در کاهش نفروپاتی دیابتی نقش دارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به دلیل همکاری سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Cicero AF, Tartagni E, Ertek S. Metformin and its clinical use: new insights for an old drug in clinical practice. Arch Med Sci 2012; 8(5): 907-17.
2. Tavafi M. Complexity of diabetic nephropathy pathogenesis and design of investigations. J Renal Inj Prev 2013; 2(2): 59-62.
3. Nasri H. Influence of parathyroid hormone on platelet counts and mean platelet volume in hemodialysis. J Parathyr Dis 2014; 2(1): 7-9.
4. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A. Combination of metformin with other antioxidants may increase its renoprotective efficacy. J Renal Inj Prev 2013; 2(2): 35-6.
5. Detaille D, Guigas B, Chauvin C, Batandier C, Fontaine E, Wiernsperger N, et al. Metformin prevents high-glucose-induced endothelial cell death through a mitochondrial permeability transition-dependent process. Diabetes 2005; 54(7): 2179-87.
6. Rosen P, Wiernsperger NF. Metformin delays the manifestation of diabetes and vascular dysfunction in Goto-Kakizaki rats by reduction of mitochondrial oxidative stress. Diabetes Metab Res Rev 2006; 22(4): 323-30.
7. Morales AI, Detaille D, Prieto M, Puente A, Briones E, Arevalo M, et al. Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. Kidney Int 2010; 77(10): 861-9.
8. Amini FG, Rafieian-Kopaei M, Nematbakhsh M, Baradaran A, Nasri H. Ameliorative effects of metformin on renal histologic and biochemical alterations of gentamicin-induced renal toxicity in Wistar rats. J Res Med Sci 2012; 17(7): 621-5.
9. Taheri N, Azarmi Y, Neshat M, Garjani A, Doustar Y. Study the effects of metformin on renal function and structure after unilateral ischemia-reperfusion in rat. Res Pharm Sci 2012; 7(5): S77.
10. Moussavi MR. Osteoporosis in chronic kidney disease; a mini-review on current knowledge. J Parathyr Dis 2013; 1(1): 5-8.
11. Sung JY, Choi HC. Metformin-induced AMP-activated protein kinase activation regulates phenylephrine-mediated contraction of rat aorta. Biochem Biophys Res Commun 2012; 421(3): 599-604.
12. Tavafi M. Protection of renal tubules against gentamicin induced nephrotoxicity. J Renal Inj Prev 2013; 2(1): 5-6.
13. Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Vitamin D therapy in diabetic kidney disease. J Nephropharmacol 2014; 3(1): 3-4.
14. Nasri H. Impact of diabetes mellitus on parathyroid hormone in hemodialysis patients. J Parathyr Dis 2013; 1(1): 9-11.
15. Rahimi Z. ACE insertion/deletion (I/D) polymorphism and diabetic nephropathy. J Nephropathol 2012; 1(3): 143-51.
16. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Metformin improves diabetic kidney disease. J Nephropharmacol 2012; 1(1):1-2.
17. Nye HJ, Herrington WG. Metformin: the safest hypoglycaemic agent in chronic kidney disease? Nephron Clin Pract 2011; 118(4): c380-c383.
18. Spasovski D. Renal markers for assessment of renal tubular and glomerular dysfunction. J Nephropharmacol 2013; 2(2): 23–5.
19. Papanas N, Maltezos E, Mikhailidis DP. Metformin and heart failure: never say never again. Expert Opin Pharmacother 2012; 13(1): 1-8.
20. Mojtahedzadeh M, Rouini MR, Kajbaf F, Najafi A, Ansari G, Gholipour A, et al. Advantage of adjunct metformin and insulin therapy in the management of glycemia in critically ill patients. Evidence for nonoccurrence of lactic acidosis and needing to parenteral metformin. Arch Med Sci 2008; 4(2): 174–81.
21. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Herbal medicine and diabetic kidney disease. J Nephropharmacol 2013; 2(1): 1-2.
22. Amiri M, Nasri H. Secondary Hyperparathyroidism in chronic kidney disease patients; current knowledge. J Parathyr Dis 2014; 2(1): 1-2.
23. Kari J. Epidemiology of chronic kidney disease in children. J Nephropathol 2012; 1(3): 162-3.
24. Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Comment on: Anti-oxidative stress activity of stachys lavandulifolia aqueous extract in humans. Cell J 2013; 15(3): 272-3.
25. Tavafi M. Diabetic nephropathy and antioxidants. Journal of Nephropathology 2013; 2(1): 20-7.
26. Ardalan MR, Sanadgol H, Nasri H, Baradaran A, Tamadon MR, Rafieian-Kopaei R. Vitamin D therapy in diabetic kidney disease; current knowledge on a public health problem. J Parathyr Dis 2014; 2(1):15-7.
27. Kim J, Shon E, Kim CS, Kim JS. Renal podocyte injury in a rat model of type 2 diabetes is prevented by metformin. Exp Diabetes Res 2012; 2012: 210821.
28. Tamadon MR. Secondary hyperparathyroidism and chronic kidney disease. J Parathyr Dis 2013; 1(1): 15-6.
29. Nayer A, Amyloid A amyloidosis: frequently neglected renal disease in injecting drug users. J Nephropathol 2014; 3(1): 26-8.

30. Hajivandi A, Amiri M. World Kidney Day 2014: Kidney disease and elderly. J Parathyr Dis 2014; 2(1): 3-4.
31. Gobe GC, Morais C, Vesey DA, Johnson DW. Use of high-dose erythropoietin for repair after injury: A comparison of outcomes in heart and kidney. J Nephropathol 2013; 2(3): 154-65.
32. Baradaran A. Primary hyperparathyroidism and kidney; recent findings. J Parathyr Dis 2014; 2(1): 5-6.
33. Nasri H. Correlation of serum magnesium with serum levels of 25-hydroxyvitamin D in hemodialysis patients. J Parathyr Dis 2014; 2(1): 11-3.
34. Hajivandi A, Amiri M. World diabetes day: diabetes mellitus and nephrology. J Nephropharmacol 2013; 2(2): 31-2.
35. Nasri H, Sahinfard N, Rafieian M, Rafieian S, Shirzad M, Rafieian-kopaei M. Effects of Allium sativum on liver enzymes and atherosclerotic risk factors. J HerbMed Pharmacol 2013; 2(2): 23-8.
36. Rahimi Z, Mansouri ZO, Rahimi Z, Abbasi A. AT2R -1332 G:A polymorphism and diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus patients. J Renal Inj Prev 2013; 2(3): 97-101.
37. Nasri H, Motamedi P, Dehghani N, Nasri P, Taheri Z, Kinani F, Torkaman S. Vitamin D and immune system. J Renal Endocrinol 2014; 1: 5-7.
38. Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants for renal injury prevention. J Renal Inj Prev 2013; 2(2): 63-5.
39. Nasri H. Elevated serum parathyroid hormone is a heart risk factor in hemodialysis patients. J Parathyr Dis 2013; 1(1): 13-4.
40. Shahbazian H, Rezaii I. Diabetic kidney disease; review of the current knowledge. J Renal Inj Prev 2013; 2(2): 73-80.
41. Nasri H, Shirzad H. Toxicity and safety of medicinal plants. J HerbMed Plarmacol 2013; 2(2): 21-2.

Journal of Isfahan Medical School Received: 12.07.2014

Vol. 32, No. 307, 4th Week, December 2014 Accepted: 15.11.2014

Metformin and Renal Protection

Mahmoud Rafieian-Kopaei PhD[1], Fatemeh Ghaed-Amini MD[2], Hamid Nasri MD[3]

Short Communication

Abstract

Metformin as a biguanid drug entered to the market 50 years ago, and now is generally recommended as the first-line treatment of type 2 diabetes mellitus, especially in overweight patients. However, in recent years ,new indications for its use have found. Recently, much attention has been directed toward the possible renal protective efficiency of metformin. Recent studies have proven that metformin, possesses antioxidant efficacy as well. Reduction of apoptosis, induced by oxidative stress in endothelial cells and prevention of vascular dysfunction is found with metformin treatment, too.

Keywords: Metformin, Renal protection, Oxidative stress, Antioxidant

Citation: Rafieian-Kopaei M, Ghaed-Amini F, Nasri H. **Metformin and Renal Protection.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(307): 1832-7

1- Professor, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2- General Practitioner, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
3- Professor, Department of Nephrology, School Of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hamid Nasri MD, Email: hamidnasri@med.mui.ac.ir

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۷/هفته چهارم آذر ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۲۰

بیماری مادرزادی قلب همراه با پرفشاری شریان ریوی: جراحی یا درمان دارویی؟

دکتر احمد میردامادی[۱]، سمیرا اشرفی[۲]

نامه به سردبیر

سردبیر محترم مجله‌ی دانشکده‌ی پزشکی اصفهان

بروز بیماری مادرزادی قلب حدود ۸ در هزار تولد زنده در دنیا است (۱). پرفشاری شریان ریوی عارضه‌ی به نسبت شایع بیماری مادرزادی قلب است که در شنت‌های چپ به راست دیده می‌شود (۲).

در صورت عدم جراحی شنت چپ به راست، افزایش فشار شریان ریوی به صورت پیش‌رونده در می‌آید و در نهایت، باعث برعکس شدن شنت می‌شود (۳) که به آن سندرم ایزنمنگر (Eisenmenger's syndrome) می‌گویند. جراحی در ۲ سال اول زندگی می‌تواند مانع ایجاد سندرم ایزنمنگر شود (۱).

در دنیا حدود ۳ میلیون کودک با بیماری مادرزادی قلب در معرض خطر پرفشاری غیر قابل برگشت شریان ریوی هستند (۱) و حدود ۳۰-۱۵ درصد بیماران با بیماری مادرزادی قلب، دچار پرفشاری شریان ریوی می‌باشند (۴).

لازم به ذکر است مرگ و میر بیماران با ضایعات مادرزادی قلب که دچار پرفشاری شریان ریوی شده‌اند، ۲ برابر بیماران بدون این عارضه است. همچنین عوارض شدیدی مثل نارسایی قلب و آرتیمی، ۳ برابر بیماران بدون پرفشاری شریان ریوی می‌باشد (۵). نکته‌ی قابل توجه این که جراحی و بستن شنت در بیمارانی که دچار سندرم ایزنمنگر شده‌اند، ممنوع است (۶).

تشابه آناتومی و پاتولوژیک شریان ریوی در این بیماران با بیماران پرفشاری شریان ریوی به صورت ایدیوپاتیک، باعث شده است که درمان‌های دارویی که مربوط به نوع ایدیوپاتیک می‌باشد، در این بیماران هم کاربرد پیدا کند (۲). حتی عقیده‌ی درمان توأم دارویی به همراه بستن شنت به روش مداخله‌ای یا جراحی، در مواردی که هنوز سندرم ایزنمنگر ایجاد نشده است، نیز توسعه یافته است (۷).

اما در مورد بالغین با بیماری مادرزادی قلب شرایط متفاوت است؛ چرا که بسیاری از این بیماران دچار درجات متفاوتی از پرفشاری شریان ریوی می‌باشند و حتی بعضی از آن‌ها زمانی جهت درمان مراجعه می‌کنند و یا بیماری آن‌ها کشف می‌شود که دچار سندرم ایزنمنگر شده‌اند.

در مورد برخورد با بیمارانی که دچار سندرم ایزنمنگر شده‌اند، روش درمانی پیشنهاد شده واضح و مشخص است؛ یعنی بستن شنت هیچ جایگاهی ندارد

۱- استادیار، گروه قلب، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف‌آباد، اصفهان، ایران
۲- کارشناس ارشد، آزمایشگاه تحقیقاتی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: سمیرا اشرفی
Email: sa_ashrafi@yahoo.com

و می‌تواند باعث افزایش مرگ و میر و کاهش طول عمر بیماران گردد. از طرفی، با ظهور درمان‌های دارویی پیشرفته در پرفشاری شریان ریوی، طول عمر این بیماران و شرایط بالینی آن‌ها روز به روز ارتقا یافته است.

اما ابهام در مورد بیماران مبتلا به ضایعات مادرزادی قلب است که دچار درجات متوسط تا شدید پرفشاری شریان ریوی شده‌اند، اما در مرحله‌ی قبل از سندرم ایزن‌منگر می‌باشند.

«آیا این بیماران باید به صورت فوری جراحی شوند؟». این سؤال در حالی مطرح است که می‌دانیم سیر پیش‌رونده‌ی افزایش فشار در شریان ریوی در زمانی بسیار زودتر از بروز سندرم ایزن‌منگر شروع می‌شود و اگر این بیماران، در زمانی که هنوز سندرم ایزن‌منگر رخ نداده، اما سیر فزاینده‌ی پرفشاری شریان ریوی در آن‌ها رقم خورده است، جراحی شوند، این جراحی نابه‌جا است و باعث افزایش مرگ و میر آن‌ها می‌شود؛ چرا که افزایش پیش‌رونده‌ی فشار شریان ریوی ادامه خواهد یافت و زمانی که بیمار دچار سندرم ایزن‌منگر می‌شود، به علت فشار بسیار بالای شریان ریوی، مقاومت در مقابل بطن راست بسیار بالا است و این امر باعث می‌شود ورود خون به ریه‌ها و به دنبال آن به قلب چپ محدود گردد و بیمار به شدت دچار کاهش برون‌ده قلبی می‌گردد.

حال اگر بیمار در موقعیتی قرار گیرد که نیاز به برون‌ده قلبی قابل توجه داشته باشد، مثل فعالیت، ورزش، حاملگی، عمل جراحی و ...، این کاهش شدید برون ده قلبی عامل مرگ بیمار می‌گردد. در صورتی که اگر شنت بیمار بسته نمی شد، وجود آن با میسر کردن جریان خون از قلب راست به قلب چپ به صورت شنت بر عکس باعث حفظ برون‌ده قلبی می‌شد و جان بیمار را حفظ می‌کرد؛ اگر چه سیانوز تشدید می‌شد.

از این رو، تصمیم‌گیری بسیار مهم و خطیر در بیماران با ضایعات مادرزادی و پرفشاری شریان ریوی این است که بیمار جراحی شود و یا تحت درمان دارویی قرار گیرد.

راهنماهای بالینی موجود پیشنهادهایی دارند، از جمله کاتتریسم قلبی با بررسی پاسخ فشار شریان ریوی به تجویز اکسیژن. اشکال این کار این است که در درجه‌ی اول، میزان پاسخ به اکسیژن متفاوت است و مشخص نیست چقدر فشار شریان ریوی باید کاهش یابد تا معیاری برای تصمیم‌گیری باشد و دوم این که حتی با یافتن درجاتی از کاهش فشار شریان ریوی، باز هم نمی‌توان آغاز سیر پیش‌رونده‌ی بیماری عروق ریوی را رد کرد.

راهنمای دیگر در برخورد با این بیماران، بیوپسی از ریه است. این کار نیز روشی تهاجمی است و شاید قضاوت پاتولوژی آن نیز به راحتی نباشد، بنابراین به ندرت انجام می‌شود.

جهت نشان دادن حساسیت تصمیم‌گیری در مورد چگونگی درمان این بیماران، اشاره به مقاله‌ی زیر کمک کننده است (۸).

در این بررسی، ۱۹۲ بیمار با پرفشاری شریان ریوی به چهار گروه تقسیم شدند:

۱- سندرم ایزن‌منگر (۹۰ نفر)

۲- پرفشاری شریان ریوی همراه با شنت چپ به راست (۴۸ نفر)

۳- پرفشاری شریان ریوی همراه با دیفکت کوچک (۱۰ نفر)

۴- پرفشاری شریان ریوی در افرادی که ضایعات مادرزادی آن‌ها جراحی شده بود (۴۴ نفر).

تمام این بیماران با روش‌های درمانی استاندارد جهانی معالجه می‌شدند و اطلاعات آن‌ها در سال‌های ۲۰۱۱-۱۹۹۸ جمع‌آوری و تجزیه و تحلیل شد.

متوسط سن بیماران ۱۷ ± ۴۱ بوده است. در مدت بررسی، ۴۳ نفر از آن‌ها فوت کردند و ۴ نفر نیاز به پیوند قلب و ریه یا ریه داشته‌اند. در کل میزان بقای یک ساله، پنج ساله، ده ساله و بیست ساله‌ی بیماران ۹۹ درصد، ۹۱ درصد، ۸۵ درصد و ۷۷ درصد بود.

بیماران مبتلا به ایزن‌منگر، بالاترین مقاومت ریوی و کمترین ظرفیت ورزش را داشتند، اما میزان بقای ۲۰ ساله در بیماران سندرم ایزن‌منگر ۸۷ درصد، در بیماران شنت چپ به راست در حضور پرفشاری شریان ریوی ۸۶ درصد و در بیمارانی که جراحی ضایعات مادرزادی شده بودند و پرفشاری شریان ریوی داشتند، ۳۶ درصد بود. در ضمن، میزان بقای ۱۵ ساله برای بیمارانی که پرفشاری شریان ریوی در حضور دیفکت کوچک داشتند، ۶۶ درصد بود.

در این زمان، میزان بقای ۲۷۸ بیمار با پرفشاری ایدیوپاتیک شریان ریوی هم مقایسه شد که بدترین طول عمر را داشتند و میزان بقای ۵ ساله‌ی آن‌ها ۶۳ درصد بود.

همان‌گونه که مشخص است، میزان بقا در بیماران مبتلا به سندرم ایزن‌منگر و شنت چپ به راست مشابه و به مراتب بهتر از میزان بقا در بیماران با دیفکت کوچک و یا بیماران جراحی شده می‌باشد. دلیل این طول عمر بیشتر در گروه اول و دوم، وجود دیفکت قلبی در مراحل انتهایی بیماری است که اجازه‌ی شنت راست به چپ را به بیماران می‌دهد و با حفظ برون‌ده قلبی آن‌ها، باعث حفظ حیات آن‌ها می‌شود.

فیزیوپاتولوژی گروه سوم به طور دقیق مشخص نیست و حتی در مورد آن‌ها، وجود یک پرفشاری ایدیوپاتیک شریان ریوی به همراه دیفکت مادرزادی نیز مطرح می‌باشد؛ اما همان‌گونه که آمار نشان داده است، این گروه میزان بقای بسیار بهتری نسبت به بیماران با پرفشاری ایدیوپاتیک شریان ریوی دارند (میزان بقای ۱۵ ساله در این بیماران ۶۶ درصد و در گروه مبتلا به پرفشاری ایدیوپاتیک شریان ریوی، ۳۸ درصد می‌باشد). عامل توجیه کننده‌ی میزان بقای بهتر این بیماران نسبت به بیماران مبتلا به پرفشاری شریان ریوی ایدیوپاتیک، همان دیفکت مادرزادی است که در مراحل انتهایی بیماری با شنت راست به چپ، باعث حفظ برون‌ده قلبی می‌شود؛ اما این دیفکت به مراتب کوچک‌تر از دیفکت بیماران با سندرم ایزن‌منگر است.

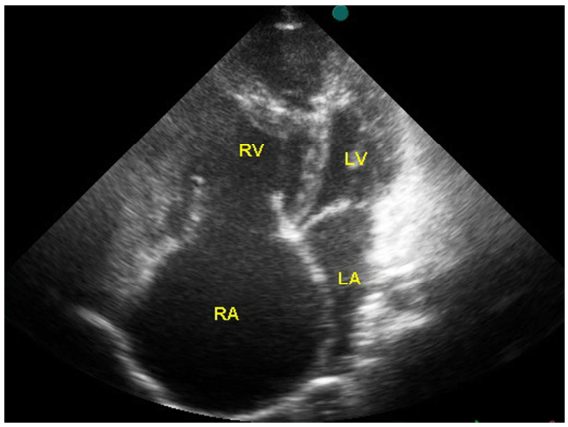
در مورد مهم‌ترین گروه یعنی بیمارانی که جراحی شده بودند، علت پرفشاری شریان ریوی، تأخیر در جراحی بیماران بود؛ یعنی زمانی بیماران جراحی شده‌اند که بیماری عروق ریوی در آن‌ها ایجاد شده است.

دلیل شرایط بدتر این افراد نسبت به بیماران مبتلا به سندرم ایزن‌منگر، عدم وجود امکان شنت راست به چپ در شرایط افزایش شدید مقاومت عروق ریوی و همچنین عدم امکان تطابق بطن راست با فشار بالای شریان ریوی می‌باشد.

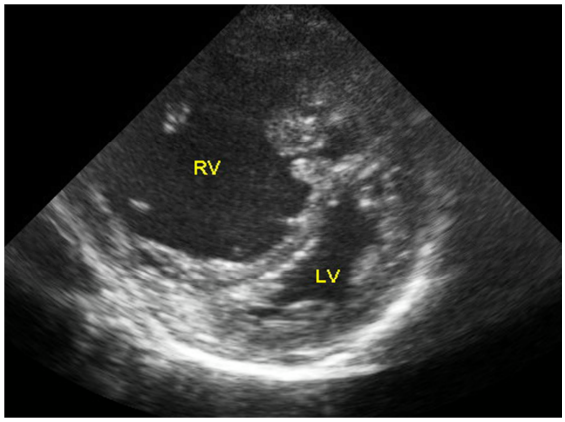
معرفی بیماری

دختر ۲۲ ساله‌ای با سابقه‌ی جراحی قلب در ۵ سال گذشته که به دلیل تنگی نفس و ضعف شدید مراجعه نمود (فانکشنال کلاس IV). در معاینه، بیمار حال عمومی بدی داشت و به شدت ضعف، بی‌اشتهایی به

همراه حالت تهوع را بیان می‌نمود. بیمار هیپوتنشن داشت و علایم کاهش شدید برونده قلبی را به وضوح نمایش می‌داد. در اکوکاردیوگرافی، بطن راست و دهلیز راست به شدت بزرگ شده و قلب چپ را تحت فشار قرار داده بود (شکل‌های ۱ و ۲).

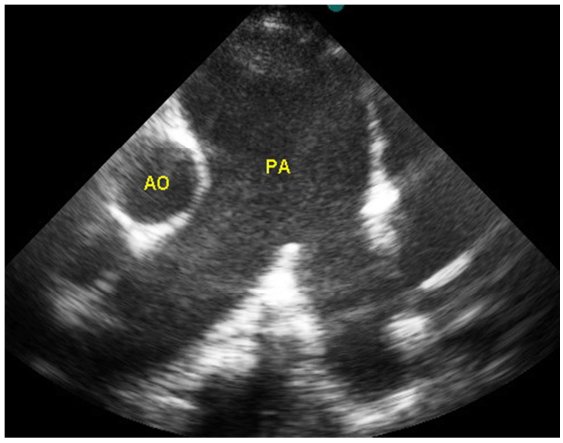


شکل ۱. اکوکاردیوگرافی نمای ۴-Chamber

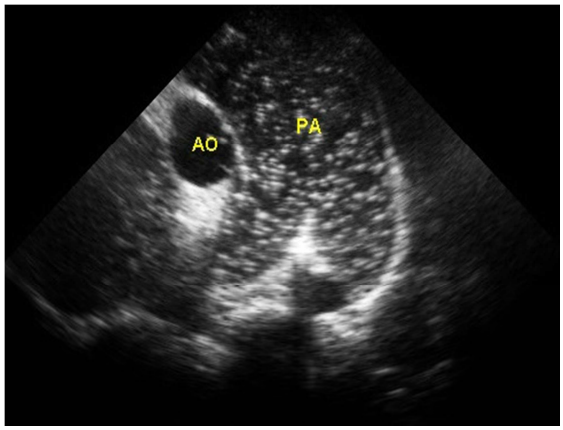


شکل ۲. اکوکاردیوگرافی نمای Short axis

شریان ریوی به شدت بزرگ بود (شکل ۳) و در بررسی با کنتراست، کندی شدید عبور کنتراست در قلب راست و شریان ریوی، نشان دهنده‌ی وجود مقاومت بسیار زیاد بستر عروق ریوی بود (شکل ۴).



شکل ۳. شریان ریوی بزرگ، نمای Short axis



شکل ۴. کنتراست اکوکاردیوگرافی

بیمار بلافاصله بستری شد و تحت درمان با داروهای استاندارد پرفشاری شریان ریوی به صورت خوراکی و ریوی قرار گرفت، اما متأسفانه این درمان‌ها چند ساعت بیشتر به عمر بیمار اضافه نکرد و بیمار فوت نمود.

سئوال اساسی این که «آیا بهتر نبود این بیمار جراحی نمی‌شد و آیا درمان دارویی بیشتر به او کمک نمی‌کرد؟».

ارجاع: میردامادی احمد، اشرفی سمیرا. **بیماری مادرزادی قلب همراه با پرفشاری شریان ریوی: جراحی یا درمان دارویی؟** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۷): ۱۸۴۳-۱۸۳۸

References

1. Adatia I, Kothari SS, Feinstein JA. Pulmonary hypertension associated with congenital heart disease: pulmonary vascular disease: the global perspective. Chest 2010; 137(6 Suppl): 52S-61S.
2. Zuckerman W, Krishnan U, Rosenzweig E. Pulmonary Arterial Hypertension Associated with Congenital Heart Disease. Curr Pediatr Rep 2013; 1(2): 92-101.
3. D'Alto M, Mahadevan VS. Pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease. Eur Respir Rev 2012; 21(126): 328-37.
4. Landzberg MJ. Congenital heart disease associated pulmonary arterial hypertension. Clin Chest Med 2007; 28(1): 243-53, x.
5. Lowe BS, Therrien J, Ionescu-Ittu R, Pilote L, Martucci G, Marelli AJ. Diagnosis of Pulmonary Hypertension in the Congenital Heart Disease Adult Population: Impact on Outcomes. Journal of the American College of Cardiology 2011; 58(5): 538-46.
6. Webb GD, Smallhorn JF, Therrien J, Redington AN. Congenital heart disease. In: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, editors. Braunwald's heart disease: A textbook of cardiovascular medicine. 9th ed. 2012. p. 1411-64.
7. Rosenzweig EB, Barst RJ. Congenital heart disease and pulmonary hypertension: pharmacology and feasibility of late surgery. Prog Cardiovasc Dis 2012; 55(2): 128-33.
8. Manes A, Palazzini M, Leci E, Bacchi Reggiani ML, Branzi A, Galiè N. Current era survival of patients with pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease: a comparison between clinical subgroups. Eur Heart J. 2014; 35(11): 716-24.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 05.07.2014
Vol. 32, No. 307, 4th Week, December 2014
Accepted: 11.11.2014

Congenital Heart Disease with Pulmonary Hypertension; Surgery or Medical Treatment?

Ahmad Mirdamadi MD[1], Samira Ashrafi MSc[2]

Letter to Editor

Abstract

Pulmonary arterial hypertension (PHA) is a frequent complication of congenital heart disease (CHD), most commonly in systemic-to-pulmonary shunt lesions. In patients with an uncorrected left-to right shunt, PAH will end up to Eisenmenger's syndrome, which is contraindication of surgery. What about patients with moderate to severe PAH, who do not have criteria of Eisenmenger's syndrome; immediate cardiac repair is preferred or medical treatment? Heart catheterization and evaluation of pulmonary artery reactivity test or lung biopsy might be helpful to find presence of Eisenmenger's syndrome. Although these guidelines are not always helpful or possible; look at the following article will show how important this subject is. 192 patient with CHD and PAH were evaluated in 4 groups, Eisenmenger's syndrome (90 patients), left-to-right shunt with PAH (48 patients), PAH with small defect (10 patients) and PAH after defect correction (44 patients). 1-, 5-, 10-, and 20-year survivals were estimated for each group. Findings showed that patients with history of surgery in presence of PAH had worst outcome; and patients with Eisenmenger's syndrome and those with PAH-associated left-to-right shunt had best prognosis. One of the reasons of this result is presence of a cardiac defect which allows a pulmonary-to-systemic shunt which can maintain the cardiac output in the end stage of disease. Finally, we present a young girl with history of CHD with PAH. She had been operated several years ago. When admitted, she was in a bad condition, with functional class of IV. Echocardiography showed severe PAH. Treatment of PAH started with specific target PAH drugs immediately, but these treatments were too late and patient expired in the hospital. Finally, we would like to pose the question "Would not it be better if the patient had not undergone the surgery in the first place?".

Keywords: Congenital heart disease, Pulmonary hypertension, Treatment

Citation: Mirdamadi A, Ashrafi S. **Congenital Heart Disease with Pulmonary Hypertension; Surgery or Medical Treatment?** J Isfahan Med Sch 2014; 32(307): 1838-43

1- Assistant Professor, Department of Cardiology, School of Medicine, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2- Research Laboratory, University of Isfahan, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Samira Ashrafi MSc, Email: sa_ashrafi@yahoo.com

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

a. **Article**: Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. Brain Res. 2002;935(1-2):40-6.
b. **Chapter in a book**: Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. The genetic basis of human cancer. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.
c. **Book**: Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

14. **Proof Reading:** A computer prints out is sent to the corresponding author for proof reading before publication in order to avoid any mistakes. Corrections should be marked clearly and sent immediately to the Journal office.
15. **Abbreviations and symbols**: Use only standard abbreviations. **Avoid using them in the title and abstract**. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.
16. The **corresponding author:** Will be supplied with 1 free issue.
17. **Ethical guidelines**: Ethical considerations must be addressed in the Materials and Methods. Please state that **informed consent** was obtained from all human adult participants and from the parents or legal guardians of minors. Include the name of the appropriate institutional review board that approved the project.Indicate in the text that the maintenance and care of experimental animals complies with National Institutes of Health guidelines for the humane use of laboratory animals, or those of your Institute or agency.
18. **Conflicts of interest:** Authors must acknowledge and declare any sources of funding and potential conflicting interest, such as receiving funds or fees by, or holding stocks and shares in, an organization that may profit or lose through publication of your paper. Declaring a competing interest will not lead to automatic rejection of the paper, but we would like to be made aware of it.
19. **Page charges:** There are no charges for publication in this Journal.
20. **Copyright:** The entire contents of the Journal of Isfahan Medical School are protected under international copyrights. This Journal is for your personal noncommercial use. You may not modify copy, distribute, transmit, display, or publish any materials contained on the Journal without the prior written permission of it or the appropriate copyright owner.
21. **Peer review process:** All manuscripts are considered to be confidential. They are peer-reviewed by at least 3 anonymous reviewers selected by the Editorial Board. The corresponding author is notified as soon as possible of the editor decision to accept, reject, or require modifications. If the manuscript is completely acceptable according to the criteria set forth in these instructions, it is scheduled for the next available issue.
22. Journal has entire right for accept or reject any of received manuscripts.
23. The editors, editorial board, sponsoring organization, and publisher do not accept responsibility for the statements expressed by authors in their contributions.
24. **Communicating with the Editorial Office:** We encourage you to communicate with the JIMS Editorial Office and to check on the status of a manuscript via journal site: (http://journals.mui.ac.ir/jims) only. For more in formations you can contact with JIMS office via E-mail address (jims@med.mui.ac.ir).

INSTRUCTION TO AUTHORS

1. **Aims and Scope:** The Journal of Isfahan Medical School is the official scientific **weekly** publication of the Faculty of Medicine in Isfahan Medical Sciences University.
   This Journal accepts Original Papers, Review Articles, Case Reports, Short Communications,Educational Medical Video Clips and Letters to the Editor on all aspects of medicine.
2. Manuscript **Submission is acceptable only via Journal URL: http://journals.mui.ac.ir/jims**
   Manuscript must be accompanied by a covering letter to the Editor-in-Chief, including title and author(s) name and undertaking that it has not been published or submitted elsewhere. In case the manuscript was earlier submitted to some other Journal and was rejected, the authors must provide full information for proper analysis. Manuscript should be typed in double space of the A-4 size paper with clear margins on both sides. The text should be submitted in Microsoft Word format only. Tables as well as illustrations should be typed and drawn on a separate pages. Do not submit tables as photographs.
   The figures should be sent in a format of JPEG or GIF which will produce high quality images in the online edition of the journal. Authors must declare that it is being exclusively contributed to the Journal of Isfahan Medical School.
3. The manuscript should include: **Title page**, the **Abstract** (in both Farsi and English), **Introduction**, **Materials & Methods**, **Results**, **Discussion**, **Acknowledgement and References**.
4. **The title page:** The complete title of the manuscript, the name of all the authors with their highest qualifications, the department or institution to which they are attached, address for correspondence with telephone numbers, e-mail, and Fax number.
5. The **Abstract:** All original articles must accompany a structured abstract up to 250 words. It should be structured as **Background**, **Methods**, **Results** and **Conclusion** followed by 3 **to** 5 **Keywords**. Keywords will assist indexers in cross indexing the article as they are published with abstract. Use terms from the Medical Subject Headings (MeSH) list of index medicus (http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html). Authors need to be careful that the abstract reflects the content of the article accurately.
6. **Introduction:** This should summarize the purpose and the rationale for the study. It should neither review the subject extensively nor should it have data or conclusions of the study.
7. **Materials & Methods:** This should include exact method or observation or experiment. If an apparatus is used, its manufacturer's name and address should be given in parenthesis. If the method is established, give reference but if the method is new, give enough information so that another author is able to perform it. If a drug is used, its generic name, dose and route of administration must be given. For patients, age, sex with mean age ± 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 Esmaeil 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, Leuis 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 Barekatain** 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 Esmaeil 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 Ophtalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Marjane Foladi** PhD of Nursing, University of Flourida, 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. 32, No. 307, 4th week, December 2014

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible**: Mansour Sholehvar MD** Emerita Editor-in-Chief**: Roya Kelishadi MD**

Editor-in-Chief**: Majid Barekatain 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: +98 311 7922291
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: +98 311 6686302
E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com
f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexers

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

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

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