

### مقاله های پژوهشی

مقایسه ضخامت آندومتر رحم موش بلافاصله قبل از لانه گزینی در چرخه طبیعی، همراه با تحریک تخمک گذاری و مصرف سیلدنافیل سترات ..... دکتور بهمن رشیدی، دکتور محمد مردانی، مصطفی پیوندی کاریزبداق ۱۴۱۳

بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم Insertion/deletion ۵۳۸۳-۵۳۹۷ ژن رمزگذار دومین ایمونوگلوبولین و موسینی نوع یک سلول T با آسم و سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم ..... دکتور هدایت اله شیرزاد، رضوان مشکات، دکتور مزدک گنجعلی خانی حاکمی، دکتور رسول صالحی، دکتور رامین قاسمی، دکتور مرتضی هاشم زاده، علی مسیبیان، شهربانو پرچی برجویی ۱۴۲۳

طراحی حفاظ به منظور کاهش آلودگی های فوتونوترونی در شتاب دهنده ی پزشکی ۲۰ Saturne ..... فریبا نادعلیان دستجردی، دکتور داریوش شهبازی گهروی، دکتور محمدحسن علامت ساز، مصطفی خسروی، میلاد برادران قهفرخی ۱۴۳۳

مطالعه ی اثر پلیمر پلی هما به عنوان بستر کشت سلولی بر روی رشد و حفظ ماهیت سلول های پوششی رنگدانه دار شبکه ی چشم ..... فاطمه ناظم رعایا، دکتور زهرا سهیلا سهیلی، راضیه حیدری، دکتور عبدالحق دیزجی، دکتور حمید احمدیه، دکتور شهرام سمیعی، ابوذر باقری ۱۴۴۴

### گزارش مورد

گزارش یک مورد ماستیت بروسلایی در یک خانم یائسه ..... دکتور معصومه بیانی، دکتور ناصر قائمیان، فاطمه ایزدپناه ۱۴۶۱

### Original Articles

Comparing the Perimplantation Thickness of Mouse Uterine Endometrium in Natural Cycle and Those Received Human Menopausal Gonadotropin-Human Chorionic Gonadotropin (HMG-HCG) and Sildenafil Citrate ... 1422  
Bahman Rashidi PhD, Mohammad Mardani PhD, Mostafa Peyvandi Kariz Bodagh

Association Analysis of T-Cell Immunoglobulin and Mucin 1 Gene 5383-5397 Insertion/Deletion Polymorphism with Asthma and Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma and Controls ..... 1432  
Hedayatollah Shirzad PhD, Rezvan Meshkat MSc, Mazdak Gangalikhani-Hakemi PhD, Rasool Salehi PhD, Ramin Ghasemi MD, Mortaza Hashemzadeh PhD, Ali Mosayebian MSc, Shahrbanoo Parchami-Barjui MSc

Photoneutron Shielding Design for an 18 MV Saturne 20 Medical Linear Accelerator ..... 1443  
Fariba Nadealian-Dastjerdi, Daryoush Shahbazi-Gahrouei PhD, Mohammad Hassan Alamatsaz PhD, Mostafa Khosravi MSc, Milad Baradaran-Ghahfarokhi MSc

The Effect of Polyhydroxyethylmethacrylate (Poly-HEMA), as a Cell Culture Substrate, on Viable and Preserving Nature of Retinal Pigment Epithelium (RPE) Cells ..... 1460  
Fatemeh Nazem-Roaya MSc, Zahra-Soheila Soheili PhD, Razeih Heidari MSc, Abdolkhalegh Deezagi PhD, Hamid Ahmadih PhD, Shahram Samiei PhD, Abozar Bagheri MSc

### Case Report

A Case Report of Mastitis Due to Brucella Infection in Post-menopausal Woman ..... 1465  
Masoumeh Bayani MD, Naser Ghaemian MD, Fatemeh Izadpanah



## مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۳۰۰)، بهمنه اول آبان 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

**امور نشر:**  
(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)  
**شرکت فرزانتگان راداندیش**  
اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵  
**تلفن و دورنگار:** ۰۳۱۱-۶۶۸۶۳۰۲  
f.radandish@gmail.com  
www.farzaneganco.ir  
تیراژ: ۵۰۰ نسخه

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

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

## راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

#### **اگر منبع مورد نظر مقاله است:**

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

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

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

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

#### **اگر منبع مورد نظر کتاب است:**

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

(EN): Romenes GJ. Cunningham's manual. 15<sup>th</sup> 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. 2<sup>nd</sup> 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 تدوین‌کننده‌ی 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. 6<sup>th</sup> ed. New York: Springer; 2003.p. 807-13.

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

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

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

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

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

## مقایسه‌ی ضخامت آندومتر رحم موش بلافاصله قبل از لانه‌گزینی در چرخه‌ی طبیعی، همراه با تحریک تخمک‌گذاری و مصرف سیلدنافیل سترات

دکتر بهمن رشیدی<sup>۱</sup>، دکتر محمد مردانی<sup>۱</sup>، مصطفی پیوندی کاربزدق<sup>۲</sup>

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**مقدمه:** آندومتریوم رحم نقش مهمی در روند لانه‌گزینی ایفا می‌کند. این لایه از رحم، در روند مراحل چرخه‌ی قاعدگی تحت تأثیر تغییرات قرار می‌گیرد. با توجه به تأثیر پذیری آندومتریوم از عوامل مهار کننده و تحریک کننده، هدف از این مطالعه مقایسه‌ی ضخامت آندومتریوم در موش‌های تحریک شده برای تخمک‌گذاری و به دنبال مصرف سیلدنافیل سترات در مرحله‌ی قبل از لانه‌گزینی بلاستوسیت بود.

**روش‌ها:** تعداد ۳۰ موش ماده‌ی بالغ نژاد سوری با استفاده از روش نمونه‌گیری تصادفی در سه گروه شاهد، گنادوتروپین و گنادوتروپین + سیلدنافیل سترات طراحی شدند. به دو گروه مورد، ابتدا به میزان HMG ۷/۵ IU (Human menopausal gonadotropin) و سپس به همین میزان HCG (Human chorionic gonadotropin) نیز تزریق شد. جهت انجام فرایند لقاح، هر دو موش ماده با یک موش نر در یک قفس قرار داده شدند. در گروه گنادوتروپین + سیلدنافیل سترات، میزان ۳ mg/kg سیلدنافیل سترات به فواصل ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق HMG تزریق گردید. مدت ۹۶ ساعت بعد، موش‌ها در همگی گروه‌ها با استفاده از روش جابه‌جایی مهره‌های گردنی قربانی شدند. نمونه‌های رحمی آن‌ها تحت پاساژ بافتی قرار گرفت و برای مطالعه با میکروسکوپ نوری آماده شد.

**یافته‌ها:** بر اساس بررسی با میکروسکوپ نوری و با استفاده از نرم‌افزار Motic Image Plus ۳/۲، ضخامت آندومتریوم در گروه شاهد  $12/35 \pm 35/05 \mu m$  و در گروه گنادوتروپین  $12/46 \pm 389/84 \mu m$  بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این ضخامت در گنادوتروپین + سیلدنافیل سترات  $12/10 \pm 316/81 \mu m$  بود که با گروه گنادوتروپین نیز تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین ضخامت آندومتریوم در بین تمامی گروه‌ها نیز تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

**نتیجه‌گیری:** استفاده از تحریک تخمدان و به دنبال آن استفاده از سیلدنافیل سترات، نتوانست تغییر قابل توجهی در ضخامت آندومتریوم داشته باشد.

**واژگان کلیدی:** آندومتریوم، ضخامت آندومتریوم، سیلدنافیل سترات، لانه‌گزینی

**ارجاع:** رشیدی بهمن، مردانی محمد، پیوندی کاربزدق مصطفی. مقایسه‌ی ضخامت آندومتر رحم موش بلافاصله قبل از لانه‌گزینی در چرخه‌ی طبیعی، همراه با تحریک تخمک‌گذاری و مصرف سیلدنافیل سترات. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۰):

۱۴۱۳-۱۴۲۲

متوالی می‌شود، که این چرخه شامل چهار مرحله‌ی تکثیر، تمایز، ریخته شدن و ترمیم می‌باشد (۱-۲). این تغییرات به وسیله‌ی هورمون‌های استرادیول و

#### مقدمه

آندومتریوم انسان بافتی پویا است که به طور مرتب تحت تأثیر استروئیدهای تخمدانی دچار چرخه‌های

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

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: b\_rashidi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر بهمن رشیدی

## فهرست مطالب

### مقاله‌های پژوهشی

مقایسه‌ی ضخامت آندومتر رحم موش بلافاصله قبل از لانه‌گزینی در چرخه‌ی طبیعی، همراه با تحریک تخمک‌گذاری و مصرف سیلدنافیل سترات..... ۱۴۱۳  
دکتر بهمن رشیدی، دکتر محمد مردانی، مصطفی پیوندی کاریزبداق

بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم **Insertion/deletion** ۵۳۸۳-۵۳۹۷ ژن رمزگذار دومن ایمونوگلوبولینی و موسینی نوع یک سلول **T** با آسم و سطح ایمونوگلوبولین **E** تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم..... ۱۴۲۳  
دکتر هدایت‌اله شیرزاد، رضوان مشکات، دکتر مزدک گنجعلی خانی حاکمی، دکتر رسول صالحی، دکتر رامین قاسمی، دکتر مرتضی هاشم‌زاده، علی مسیبیان، شهربانو پرجمی برجویی

طراحی حفاظ به منظور کاهش آلودگی‌های فوتونوترونی در شتاب دهنده‌ی پزشکی **Saturne ۲۰**..... ۱۴۳۳  
فریبا نادعلیان دستجردی، دکتر داریوش شهبازی گهرویی، دکتر محمدحسن علامت‌ساز، مصطفی خسروی، میلاد برادران قهفرخی

مطالعه‌ی اثر پلیمر پلی‌هما به عنوان بستر کشت سلولی بر روی رشد و حفظ ماهیت سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم..... ۱۴۴۴  
فاطمه ناظم رعایا، دکتر زهرا سهیلا سهیلی، راضیه حیدری، دکتر عبدالخالق دیزجی، دکتر حمید احمدیه، دکتر شهرام سمیعی، ابوذر باقری

### گزارش مورد

گزارش یک مورد ماستیت بروسلائی در یک خانم یائسه..... ۱۴۶۱  
دکتر معصومه بیانی، دکتر ناصر قائمیان، فاطمه ایزدپناه



برخی موارد، با عوامل دیگر مانند بیماری‌های پاتولوژیک از جمله فشار خون بالا و دیابت شیرین مرتبط است (۱۸).

از داروهای جدیدی که برای ارتقای روند لانه‌گزینی در روش‌های کمک باروری قابل استفاده است، می‌توان به سیلدنافیل سیترات اشاره کرد. این دارو اولین بار در جهت درمان ناتوانی نعوظ مورد استفاده قرار گرفت (۲۰-۱۹). این دارو جزء خانواده‌ی آنزیم فسفودی‌استراز ۵ است که از طریق هیدرولیز آنزیم‌های تخریب‌کننده‌ی cGMP (Cyclic guanosine monophosphate) باعث حفظ و افزایش cGMP در داخل سلول می‌شود. بر اساس یافته‌های سایر مطالعات، این دارو باعث گشاد شدن عروق (۲۲-۲۱) و شل شدن عضلات در لایه‌ی میومتر می‌شود (۲۴-۲۳). همچنین این دارو باعث بهبود تکامل بهتر پینوئوها در آندومتریوم موش تحت تحریک تخمک‌گذاری شده بود (۲۵).

طبق گزارش‌های اخیر، استفاده از سیلدنافیل سیترات باعث تغییر در شاخص‌های سلول‌های اپتلیوم آندومتریوم از قبیل جابه‌جایی گرانول‌های PAS (Periodic acid schiff) مثبت از ناحیه‌ی زیر هسته‌ای به ناحیه‌ی فوق هسته‌ای می‌شود که نشان دهنده‌ی افزایش پذیرندگی آندومتریوم است (۲۶). همچنین استفاده از Tibolone و Ribaloxifene در افزایش ضخامت آندومتر بی‌تأثیر بوده است (۲۷).

متخصصان از هورمون گنادوتروپین جفتی انسان (Human chorionic gonadotropin) HCG ایجاد (Luteinizing hormone-Surge) LH-Surge مصنوعی جهت انجام روش‌های IVF و ICSI استفاده می‌کنند و باعث تحریک رسیدن اووسیت و انجام

پروژسترون صورت می‌گیرد (۳). آندومتریوم مسؤل لانه‌گزینی جنین در طی یک فرصت کوتاه در چرخه‌ی قاعدگی می‌باشد (۱). از مهم‌ترین اهداف درمانی در درمان‌های کمک باروری نظیر IVF (In vitro fertilization) و ICSI (Intra cytoplasmic sperm injection)، پذیرندگی موفق آندومتریوم می‌باشد (۴-۵).

مشخص شده است که شکست لانه‌گزینی هم از طرف رحم مادری و هم از طرف رویان رخ می‌دهد. پذیرندگی ناکافی رحم مسؤل دو سوم و رویان مسؤل یک سوم شکست لانه‌گزینی می‌باشند (۶-۷). تاکنون در مورد پذیرندگی آندومتریوم معیار مورد پذیرشی مشخص نشده است (۵)، اما معیارهایی مانند تغییرات مورفولوژی آندومتریوم، می‌تواند میزان آمادگی آندومتر را نشان دهد. با استفاده از تغییرات مورفولوژی آندومتر، می‌توان تا حدودی پذیرندگی آندومتریوم و به دنبال آن، لانه‌گزینی و حاملگی را نیز مشخص کرد (۸). ضخامت آندومتریوم یکی از ویژگی‌های مهم دیگری است که به طور غیر مستقیم، میزان پذیرندگی آندومتریوم را مشخص می‌نماید (۹).

ضخامت مناسب آندومتریوم باعث ایجاد یک حاملگی موفق می‌شود (۱۰). مطالعات زیادی مبنی بر محاسبه‌ی ضخامت طبیعی آندومتریوم از طریق ارزیابی به وسیله‌ی سونوگرافی اولتراسوند صورت گرفته است؛ اما متأسفانه در این مطالعات، هنوز میزان واحدی مشخص نشده است (۱۱). در اکثر مطالعات صورت گرفته، رابطه‌ی مثبتی بین ضخامت آندومتریوم و میزان حاملگی موفق مشاهده شده است (۱۲-۱۴). در حالی که در برخی مطالعات دیگر، هیچ گونه ارتباطی مشاهده نشده است (۱۷-۱۵) و یا در

تخمک‌گذاری می‌شوند (۲۸).

هدف از این مطالعه، مقایسه‌ی تأثیر گنادوتروپین و سیلدنافیل سیترات بر افزایش ضخامت آندومترיום موش بود. در این مطالعه، جهت تهیه‌ی مقاطع بافتی به علت ملاحظات اخلاقی از مدل حیوانی استفاده شد. از نکات جالب توجه در این مطالعه، بررسی ضخامت آندومترיום در صورت ورود بلاستوسیست به داخل رحم می‌باشد. طبق بررسی‌ها و مطالعات انجام شده، هیچ‌گونه مطالعه‌ای مبنی بر اثر سیلدنافیل سیترات بر روی ضخامت آندومترיום به شکل پژوهش حاضر انجام نشده بود.

### روش‌ها

حیوانات: جهت انجام این مطالعه، تعداد ۳۰ سر موش سوری ماده‌ی بالغ با میانگین وزنی بین ۲۵-۳۰ g (برای هر گروه ۱۰ موش) در نظر گرفته شد. جهت ایجاد لقاح به ازای هر ۲ موش ماده‌ی بالغ، تعداد ۱ موش نر بالغ از همان نژاد انتخاب گردید. تمام موش‌ها در حیوان‌خانه‌ی مرکز فیزیولوژی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با شرایط یکسان در دوره‌های متوالی ۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در تاریکی و درجه‌ی حرارت  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند. در ادامه، تمام موش‌های ماده‌ی بالغ با استفاده از روش نمونه‌گیری تصادفی ساده، به ترتیب در سه گروه شاهد، گروه گنادوتروپین و گروه گنادوتروپین + سیلدنافیل سیترات طراحی شدند. آب شهری و غذای آماده‌ی پارس برای تغذیه‌ی موش‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در همه‌ی گروه‌ها هر ۲ موش ماده با ۱ موش نر از همان نژاد، برای جفت‌گیری در داخل یک قفس قرار گرفتند.

داروها: در این مطالعه از HMG (Human menopausal gonadotropin) + HCG برای تحریک تخمک‌گذاری موش‌ها در دو گروه مورد، استفاده شد. با توجه به تحقیقات صورت گرفته و نقش سیلدنافیل سیترات در ضخامت آندومترיום، در یک گروه مورد از آن نیز استفاده شد. روش کار: با توجه به تعیین سه گروه در این مطالعه، در گروه شاهد هیچ مداخله‌ای انجام نشد. در دو گروه مورد دیگر، HMG به میزان ۷/۵ IU به صورت داخل صفاقی (IP یا Intraperitoneal) تزریق شد و ۴۸ ساعت پس از آن، HCG به مقدار ۷/۵ IU به همان روش تزریق گردید. به موش‌های گروه گنادوتروپین + سیلدنافیل سیترات به فواصل ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق HCG، سیلدنافیل سیترات با دوز ۳ mg/kg برای هر موش تزریق گردید. مدت ۹۶ ساعت پس از تزریق HCG، موش‌های گروه شاهد به صورت جابه‌جایی مهره‌های گردنی قربانی شدند و رحم آن‌ها با محیط کشت شستشو داده شد. نکته‌ی جالب در این مطالعه این بود که فقط از رحم موش‌هایی که حاوی بلاستوسیست بودند، نمونه‌برداری انجام شد.

جهت ثابت‌سازی (فیکساسیون) نمونه‌ها، از فرمالین ۱۰ درصد بافر شده، استفاده گردید و مراحل پاساژ بافتی جهت انجام آب‌گیری با الکل‌های صعودی طبق زمان استاندارد انجام گردید. شفاف‌سازی در گزلیل و سپس در گام آخر قالب‌گیری در پارافین انجام شد. برش‌گیری نمونه‌ها با استفاده از میکروتوم دوار و با ضخامت حدود  $5 \mu\text{m}$  انجام شد.

رنگ‌آمیزی مقاطع بافتی، با استفاده از رنگ‌آمیزی

آماري، اختلاف معنی‌داری بین سه گروه مورد مطالعه مشاهده نگردید.

بر اساس شکل ۱، ضخامت آندومتريوم در سه گروه اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. ضخامت آندومتريوم در گروه گنادوتروپین افزایش قابل توجهی داشته است؛ به طوری که این میزان در گروه گنادوتروپین + سيلدنافيل سیترات با کاهش نامحسوسی نیز همراه بوده است. همان‌طور که در شکل ۲- الف مشخص شده است، با استفاده از نرم‌افزار Motic image plus ۳/۲ مشاهده شد که در گروه شاهد ضخامت آندومتريوم میزان حد واسطی در مقایسه با دو شکل دیگر دارد. همچنین در این شکل، اپیتلیوم حاوی گرانول‌های متعدد PAS مثبت پراکنده در سراسر سلول و متراکم در ناحیه‌ی قاعده‌ای نیز مشاهده می‌شود.

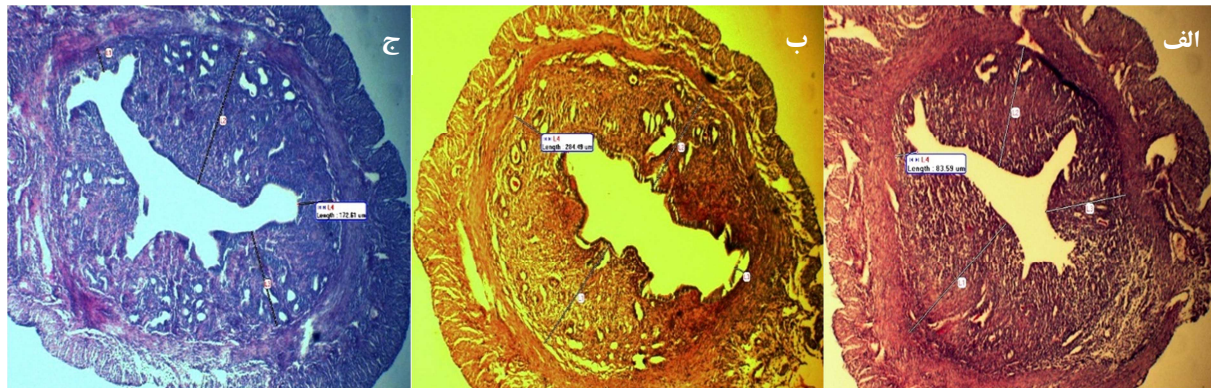
در تمام نواحی لایه‌ی آندومتريوم، ضخامت به صورت یکسان مشاهده نشد. در شکل ۲- ب که مربوط به گروه گنادوتروپین است، ضخامت آندومتريوم در مقایسه با گروه شاهد (شکل ۲- ج) افزایش محسوسی داشته است. همچنین شکل اپیتلیوم و گرانول‌ها در مقایسه با گروه شاهد تغییر خاصی پیدا نکرده است. در شکل ۲- الف که مربوط به گروه گنادوتروپین + سيلدنافيل سیترات است، میزان ضخامت در مقایسه با گروه شاهد کاهش نامحسوسی داشته است. همچنین میزان ضخامت در مقایسه با گروه گنادوتروپین تغییر زیادی داشته است. ضمن این که موقعیت و میزان گرانول‌ها در مقایسه با دو گروه دیگر نیز مشابه می‌باشد. در تمامی گروه‌ها، آندومتريوم در فاز لوتئال قرار داشت؛ چرا که هسته‌ها به صورت مرکزی و واکنش مشاهده شدند.

PAS (Periodic acid shiff) جهت تهیه‌ی فوتومیکروگراف صورت گرفت. پس از مرحله‌ی رنگ‌آمیزی، مقاطع بافتی با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری ضخامت آندومتريوم از نرم‌افزار Motic image plus ۳/۲ استفاده شد.

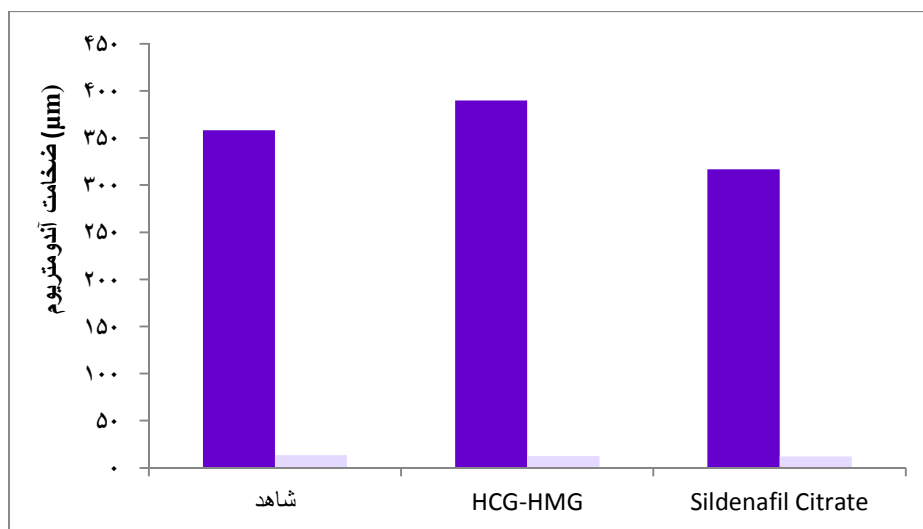
پس از جمع‌آوری داده‌های حاصل از مطالعه، با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) و همچنین روش‌های آماری توصیفی (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) و آزمون One-way ANOVA (One-way analysis of variance) داده‌های مورد نظر مورد بررسی و آنالیز آماری قرار گرفت. میزان  $P < 0/05$  معنی‌دار تلقی گردید.

#### یافته‌ها

میانگین ضخامت آندومتريوم  $\pm$  انحراف استاندارد با برآورد میانگین ضخامت آندومتريوم، از غشای پایه تا رأس اپیتلیوم محاسبه گردید. این ضخامت در هر سه گروه در مقایسه با یکدیگر اختلاف آماری معنی‌داری را نشان نداد. در نرم‌افزار مورد استفاده، اندازه‌ها بر حسب  $\mu\text{m}$  می‌باشد؛ از این رو، تمامی اندازه‌ها در این مطالعه بر حسب  $\mu\text{m}$  بیان شده است. نکته‌ی جالب در این بررسی، افزایش ضخامت آندومتريوم در گروه گنادوتروپین در مقایسه با کاهش ضخامت آندومتريوم در گروه گنادوتروپین + سيلدنافيل سیترات بود. میزان ضخامت آندومتريوم در گروه شاهد  $13/35 \pm 358/05$ ، در گروه گنادوتروپین  $12/46 \pm 389/84$  و در گروه گنادوتروپین + سيلدنافيل سیترات،  $12/10 \pm 316/81$  بود و از لحاظ



شکل ۲. الف- ضخامت آندومتر رحم در گروه گنادوتروپین + سیلدنافیل سیترات، ب- ضخامت آندومتر رحم در گروه گنادوتروپین، ج- ضخامت آندومتر رحم در گروه شاهد



شکل ۱. مقایسه‌ی میانگین ضخامت آندومتریوم در سه گروه مورد مطالعه

هیچ گونه ارتباط آماری معنی‌داری بین سه گروه مشاهده نشد ( $P < 0/050$ )

مرحله‌ی لانه‌گزینی است. مرحله‌ی لانه‌گزینی به دو عامل مهم کیفیت رویان و پذیرندگی آندومتر وابسته است. پذیرندگی آندومتر نیز به نوبه‌ی خود به عوامل بسیاری وابسته می‌باشد. یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در پذیرندگی آندومتر، ضخامت آندومتریوم می‌باشد (۲۹، ۱۳).

در روش IVF/ICSI، از هورمون HCG به عنوان یک جایگزین برای هورمون لوتئالیز طبیعی موج (LH) یا Luteinizing hormone) جهت بلوغ نهایی تخمک

## بحث

ضخامت آندومتریوم در گروه گنادوتروپین در مقایسه با گروه گنادوتروپین + سیلدنافیل سیترات، تغییر محسوسی داشت. با استفاده از این نتیجه، می‌توان استنباط نمود که سیلدنافیل سیترات نتوانسته است باعث افزایش ضخامت آندومتریوم شود.

اصلی‌ترین مرحله‌ای که تعیین‌کننده‌ی میزان موفقیت در روش‌های کمک باروری (ART) یا Assisted reproductive technology) می‌باشد،

افزایش سن کاهش می‌یافت (۲۸). البته بعضی دیگر از محققین ضخامت آندومتریوم را مستقل از سن بیان می‌کنند (۳۴). دیابت و فشار خون نیز از عوامل مهم و اساسی دیگر تأثیرگذار در ضخامت آندومتریوم محسوب می‌شوند. در پژوهش Vorigas و همکاران، از دیابت و فشار خون به عنوان عوامل اصلی ایجاد کننده‌ی سرطان رحم نیز یاد شده است (۳۵).

استفاده از گنادوتروپین‌ها باعث افزایش فعالیت میتوزی در زمان لانه‌گزینی می‌شود و این مسأله بیانگر تغییرات در افزایش سلول‌های اپیتلیوم و همچنین افزایش ضخامت آندومتریوم می‌شود، اما تغییرات ناشی از تزریق گنادوتروپین‌ها به صورت آگزورژنوس باعث ایجاد شرایط نامساعد کاهش پذیرندگی آندومتر برای لانه‌گزینی رویان نیز می‌شود (۳۶).

سیلدنافیل سیترات دارویی است که اولین بار برای درمان ناتوانی نعوظ مورد استفاده قرار گرفت (۱۹). TAS و همکاران در تحقیقی که با استفاده از این دارو بر روی زخم انجام دادند، متوجه خاصیت آنژیوژنیک این دارو از طریق گشادی عروق و افزایش فیبروبلاست‌ها و در نتیجه تسریع در روند بهبود زخم شدند (۳۷). در بررسی دیگری نیز از سیلدنافیل جهت بهبود درمان ایسکمی با منشأ هیپرکلسترومی استفاده گردید. Dussault و همکاران اعلام کردند که سیلدنافیل سیترات باعث بهبود این نوع ایسکمی می‌شود (۳۸). در مطالعه‌ی مشابه دیگری نیز برای اولین بار، یک پتانسیل درمانی اضافی قوی برای سیلدنافیل سیترات در تنظیم VEGF (Vascular endothelial growth factor) و سیستم Ang<sup>1</sup> (Angiotensin<sup>1</sup>) به کار برده شد. همچنین مطالعات نشان می‌دهد کاربرد سیلدنافیل سیترات از

استفاده می‌شود. از طرفی در روش‌های کمک باروری (ART) در روز تجویز HCG، می‌توان با اندازه‌گیری ضخامت آندومتریوم، میزان پذیرندگی آندومتریوم را پیش‌بینی نمود و این امر، اهمیت بالینی زیادی دارد (۲۸، ۳۰). سونوگرافی اولتراسوند، در اکثر مطالعات به عنوان ابزار مناسبی جهت تعیین ضخامت آندومتریوم مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۱).

تاکنون مطالعات زیادی برای تعیین ضخامت مناسب آندومتریوم و افزایش میزان حاملگی، انجام شده است و در اکثر مطالعات، ارتباط تنگاتنگی بین این دو عامل اثبات شده است (۳۲، ۳). هر چند برخی از محققان این نظریه را نپذیرفته‌اند (۱۰). همچنین با توجه به این که به نظر نمی‌رسد طول مدت تحریک تخمدان بر ضخامت آندومتر تأثیری داشته باشد، اما طول تحریک تخمدان یک عامل مداخله‌گر مؤثر بر ضخامت آندومتر محسوب می‌شود. به این ترتیب، نتایج نشان می‌دهد که ضخامت کم آندومتر، می‌تواند درمان ضعیف و کوتاه بودن مدت تحریک تخمدان را نسبت به زمان متوسط پیش‌بینی کند. ممکن است که یک دوره‌ی کوتاه‌تر استفاده از گنادوتروپین نشان دهنده‌ی عملکرد بهتر تخمدان و در نتیجه کیفیت بهتر تخمک شود، که به نوبه‌ی خود می‌تواند برای جبران توسعه‌ی کمتر آندومتر مطلوب باشد (۳۳).

از مهم‌ترین عوامل قابل ذکر که در ضخامت آندومتریوم تأثیر دارند، می‌توان به سن اشاره کرد. طبق مطالعه‌ی Oliveira و همکاران، رابطه‌ی معکوسی بین سن و ضخامت آندومتر به دست آمد. در این بررسی که بر روی زنان یائسه در سنین بین ۴۰-۷۹ سال انجام شد، ضخامت آندومتریوم با

آندومتریوم را به حد مورد انتظار افزایش دهد. اگر چه گنادوتروپین به تنهایی ضخامت آندومتر را تا حدی افزایش داد، اما این میزان قابل توجه نبود. از طرفی، سیلدنافیل سیترات باعث کاهش ضخامت آندومتریوم در مقایسه با گروه شاهد گردید. چنانچه گفته شد، ضخامت آندومتریوم تحت تأثیر عوامل زیادی قرار دارد. بی‌شک با کشف داروهای مؤثر بر ضخامت آندومتریوم، تعداد موارد شکست لانه‌گزینی با منشأ ضخامت آندومتریوم، کاهش قابل توجهی خواهد یافت.

### تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی با شماره‌ی ۳۹۲۴۴۲ به تصویب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و دانشکده‌ی پزشکی رسیده است و تمامی هزینه‌های اجرای آن از این طریق تأمین شده است. بدین وسیله از معاونت مربوط سپاسگزاری می‌گردد.

طریق بیان افزایشی VEGF و سیستم Ang1، شاید از طریق وقایعی که منجر به نئوواسکولاسیون می‌شود، اثرات حمایتی بر سلولهای عضلانی قلب رت‌ها در محیط *In vivo* داشته باشد (۳۹).

به هر حال، طبق جدیدترین مطالعات، بهترین ضخامت آندومتریوم با الگوی Trilaminar، حدود ۱۰/۰-۱۲/۹ mm است که در ارتباط با نرخ‌های بالاتر حاملگی بالینی با چرخه‌ی ICSI است (۴۰).

ضخامت آندومتریوم مناسب، یکی از عوامل اصلی در پذیرندگی آندومتریوم و موفقیت لانه‌گزینی در روش‌های کمک باروری مثل IVF و ICSI می‌شود. کشف داروهای مؤثر در افزایش ضخامت آندومتر و رساندن آن به ضخامت مورد نیاز با کمترین عوارض یکی از مهم‌ترین مسایل پیش رو در زمینه‌ی ناباروری محسوب می‌شود.

طبق مطالعه‌ی حاضر، استفاده از گنادوتروپین‌ها و ترکیب آن با سیلدنافیل سیترات نتوانست ضخامت

### References

1. Revel A. Defective endometrial receptivity. *Fertil Steril* 2012; 97(5): 1028-32.
2. King AE, Critchley HO. Oestrogen and progesterone regulation of inflammatory processes in the human endometrium. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 120(2-3): 116-26.
3. Richter KS, Bugge KR, Bromer JG, Levy MJ. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos. *Fertil Steril* 2007; 87(1): 53-9.
4. Kovacs P, Matyas S, Boda K, Kaali SG. The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. *Hum Reprod* 2003; 18(11): 2337-41.
5. Rinaldi L, Lisi F, Floccari A, Lisi R, Pepe G, Fishel S. Endometrial thickness as a predictor of pregnancy after in-vitro fertilization but not after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1996; 11(7): 1538-41.
6. Scarpin KM, Graham JD, Mote PA, Clarke CL. Progesterone action in human tissues: regulation by progesterone receptor (PR) isoform expression, nuclear positioning and coregulator expression. *Nucl Recept Signal* 2009; 7: e009.
7. Graham JD, Clarke CL. Physiological action of progesterone in target tissues. *Endocr Rev* 1997; 18(4): 502-19.
8. Shufaro Y, Simon A, Laufer N, Fatum M. Thin unresponsive endometrium--a possible complication of surgical curettage compromising ART outcome. *J Assist Reprod Genet* 2008; 25(8): 421-5.
9. Vergouw CG, Kosteljik EH, Doejaaren E, Hompes PG, Lambalk CB, Schats R. The influence of the type of embryo culture medium on neonatal birthweight after single embryo transfer in IVF. *Hum Reprod* 2012; 27(9): 2619-26.
10. Al-Ghamdi A, Coskun S, Al-Hassan S, Al-Rejjal R, Awartani K. The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro

- fertilization and embryo transfer (IVF-ET) outcome. *Reprod Biol Endocrinol* 2008; 6: 37.
11. Dietterich C, Check JH, Choe JK, Nazari A, Lurie D. Increased endometrial thickness on the day of human chorionic gonadotropin injection does not adversely affect pregnancy or implantation rates following in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2002; 77(4): 781-6.
  12. McWilliams GD, Frattarelli JL. Changes in measured endometrial thickness predict in vitro fertilization success. *Fertil Steril* 2007; 88(1): 74-81.
  13. Chen SL, Wu FR, Luo C, Chen X, Shi XY, Zheng HY, et al. Combined analysis of endometrial thickness and pattern in predicting outcome of in vitro fertilization and embryo transfer: a retrospective cohort study. *Reprod Biol Endocrinol* 2010; 8: 30.
  14. Osemwenkha AP, Osaikhuwumwan JA. Correlation between endometrial thickness and IVF outcome in an African population. *Gynecology and Obstetrics* 2012; 2(2): 1-5.
  15. Kyrou D, Popovic-Todorovic B, Fatemi HM, Bourgain C, Haentjens P, van Landuyt L, et al. Does the estradiol level on the day of human chorionic gonadotrophin administration have an impact on pregnancy rates in patients treated with rec-FSH/GnRH antagonist? *Hum Reprod* 2009; 24(11): 2902-9.
  16. Kinay T, Tasci Y, Dilbaz S, Cinar O, Demir B, Haberal A. The relationship between endometrial thickness and pregnancy rates in GnRH antagonist down-regulated ICSI cycles. *Gynecol Endocrinol* 2010; 26(11): 833-7.
  17. Merce LT, Barco MJ, Bau S, Troyano J. Are endometrial parameters by three-dimensional ultrasound and power Doppler angiography related to in vitro fertilization/embryo transfer outcome? *Fertil Steril* 2008; 89(1): 111-7.
  18. Reuter KL, Cohen S, Furey L, Baker S. Sonographic appearance of the endometrium and ovaries during cycles stimulated with human menopausal gonadotropin. *J Reprod Med* 1996; 41(7): 509-14.
  19. Harrold LR, Gurwitz JH, Field TS, Andrade SE, Fish LS, Jarry PD, et al. The diffusion of a novel therapy into clinical practice: the case of sildenafil. *Arch Intern Med* 2000; 160(22): 3401-5.
  20. Stroberg P, Kaminetsky JC, Park NC, Goldfischer ER, Creanga DL, Stecher VJ. Hardness, function, emotional well-being, satisfaction and the overall sexual experience in men using 100-mg fixed-dose or flexible-dose sildenafil citrate. *Int J Impot Res* 2010; 22(4): 284-9.
  21. Wareing M, Myers JE, O'Hara M, Baker PN. Sildenafil citrate (Viagra) enhances vasodilatation in fetal growth restriction. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(5): 2550-5.
  22. Moens AL, Takimoto E, Tocchetti CG, Chakir K, Bedja D, Cormaci G, et al. Reversal of cardiac hypertrophy and fibrosis from pressure overload by tetrahydrobiopterin: efficacy of recoupling nitric oxide synthase as a therapeutic strategy. *Circulation* 2008; 117(20): 2626-36.
  23. Paulus WE, Strehler E, Zhang M, Jelinkova L, El-Danasouri I, Sterzik K. Benefit of vaginal sildenafil citrate in assisted reproduction therapy. *Fertil Steril* 2002; 77(4): 846-7.
  24. Warner CM, Cao W, Exley GE, McElhinny AS, Alikani M, Cohen J, et al. Genetic regulation of egg and embryo survival. *Hum Reprod* 1998; 13(Suppl 3): 178-90.
  25. Rashidi B, Soleimani Rad JI, Roshangar L, Alizadeh MR. Evaluation of Pinopodes Expression on the Mouse Endometrium Immediately before Implantation by Treatment with HMG/HCG and Sildenafil Citrate Administration. *Iran J Basic Med Sci* 2012; 15(5): 1091-6.
  26. Rashidi B, Roushangar L, Solaeymanirad J, Khaki A, Mohammadnezhad D, Azami A. Comparison of morphology and morphometry of preimplantation mouse uterine endometrium in natural cycle with those received superovulatory drugs, progesterone and sildenafil citrate (Viagra). *Pharm Sci* 2008; (3): 33-9.
  27. Christodoulakos GE, Botsis DS, Lambrinoukaki IV, Papagianni VD, Panoulis CP, Creatsa MG, et al. A 5-year study on the effect of hormone therapy, tibolone and raloxifene on vaginal bleeding and endometrial thickness. *Maturitas* 2006; 53(4): 413-23.
  28. Oliveira JB, Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Borges MC, Franco JG, Jr. Endometrial ultrasonography as a predictor of pregnancy in an in-vitro fertilization programme after ovarian stimulation and gonadotrophin-releasing hormone and gonadotrophins. *Hum Reprod* 1997; 12(11): 2515-8.
  29. Al-Sunaidi M. Role of endometrial thickness on intracytoplasmic sperm injection. *American Journal of Applied Sciences* 2012; 9(4): 553-6.
  30. Friedler S, Schenker JG, Herman A, Lewin A. The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. *Hum Reprod Update* 1996; 2(4): 323-35.
  31. Timmermans A, Opmeer BC, Khan KS, Bachmann LM, Epstein E, Clark TJ, et al. Endometrial thickness measurement for

- detecting endometrial cancer in women with postmenopausal bleeding: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2010; 116(1): 160-7.
32. Rashidi BH, Sadeghi M, Jafarabadi M, Tehrani Nejad ES. Relationships between pregnancy rates following in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection and endometrial thickness and pattern. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 120(2): 179-84.
33. Senturk LM, Erel CT. Thin endometrium in assisted reproductive technology. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2008; 20(3): 221-8.
34. Noyes N, Liu HC, Sultan K, Schattman G, Rosenwaks Z. Endometrial thickness appears to be a significant factor in embryo implantation in in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1995; 10(4): 919-22.
35. Vorgias G, Strigou S, Varhalama E, Savvopoulos P, Dertimas B, Akrivos T. The effect of hypertension and anti-hypertensive drugs on endometrial thickness and pathology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006; 125(2): 239-42.
36. Dursun A, Sendag F, Terek MC, Yilmaz H, Oztekin K, Baka M, et al. Morphometric changes in the endometrium and serum leptin levels during the implantation period of the embryo in the rat in response to exogenous ovarian stimulation. *Fertil Steril* 2004; 82(Suppl 3): 1121-6.
37. Tas A, Atasoy N, Ozbek H, Aslan L, Yuksel H, Ceylan E, et al. The effects of sildenafil citrate (Viagra) in the early phase of healing process in open wounds in dogs. *Acta Vet Brno* 2003; 72(2): 273-7.
38. Dussault S, Maingrette F, Menard C, Michaud SE, Haddad P, Groleau J, et al. Sildenafil increases endothelial progenitor cell function and improves ischemia-induced neovascularization in hypercholesterolemic apolipoprotein E-deficient mice. *Hypertension* 2009; 54(5): 1043-9.
39. Koneru S, Varma PS, Thirunavukkarasu M, Vidavalur R, Zhan L, Singal PK, et al. Sildenafil-mediated neovascularization and protection against myocardial ischaemia reperfusion injury in rats: role of VEGF/angiopoietin-1. *J Cell Mol Med* 2008; 12(6B): 2651-64.
40. Al Mohammady M, Abdel Fattah G, Mahmoud M. The impact of combined endometrial thickness and pattern on the success of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycles. *Middle East Fertil Soc J* 2013; 18(3): 165-70.



## Comparing the Perimplantation Thickness of Mouse Uterine Endometrium in Natural Cycle and Those Received Human Menopausal Gonadotropin-Human Chorionic Gonadotropin (HMG-HCG) and Sildenafil Citrate

Bahman Rashidi PhD<sup>1</sup>, Mohammad Mardani PhD<sup>1</sup>, Mostafa Peyvandi-Kariz-Bodagh<sup>2</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Uterine endometrium plays an important role in the implantation process. This layer of the uterus is affected during the menstrual period. Due to the influence of inhibitors and stimulators on uterine endometrium, the aim of this study was to assess the changes in endometrial thickness after injections of sildenafil citrate in super-ovulated mice.

**Methods:** Thirty adult female mice were divided into 3 groups of control, gonadotropin and gonadotropin + sildenafil citrate. In 2 experimental groups, the mice received 7.5 IU of human menopausal gonadotropin (HMG) and later human chorionic gonadotropin (HCG). Then, every two female mice with one male mouse were put in one cage for fertilization. In gonadotropin + sildenafil citrate group, 3 mg/kg sildenafil citrate administrated at 24, 48, and 72 hours after HMG injection. Ninety six hours after HMG injection, the mice in 3 groups were sacrificed and their uterine specimens were prepared for light microscopic studies.

**Findings:** The mean  $\pm$  SD endometrial thickness was  $358.05 \pm 13.35 \mu\text{m}$  in control,  $389.84 \pm 12.46 \mu\text{m}$  in gonadotropin and  $316.81 \pm 12.10 \mu\text{m}$  in gonadotropin + sildenafil citrate groups. The endometrial thickness in all groups were not significantly deferent from each other ( $P < 0.05$  for all).

**Conclusion:** Using ovarian stimulation, followed by sildenafil citrate injection, would not modify the endometrial thickness of mouse uterus.

**Keywords:** Endometrium, Endometrial thickness, Sildenafil citrate, Implantation

**Citation:** Rashidi B, Mardani M, Peyvandi-Kariz-Bodagh M. Comparing the Perimplantation Thickness of Mouse Uterine Endometrium in Natural Cycle and Those Received Human Menopausal Gonadotropin-Human Chorionic Gonadotropin (HMG-HCG) and Sildenafil Citrate. J Isfahan Med Sch 2014; 32(300): 1413-22

1- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran  
2- MSc Student, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Bahman Rashidi PhD, Email: b\_rashidi@med.mui.ac.ir

## بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم Insertion/deletion ۵۳۸۳-۵۳۹۷ ژن رمزگذار دومن ایمونوگلوبولینی و موسینی نوع یک سلول T با آسم و سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم

دکتر هدایت‌اله شیرزاد<sup>۱</sup>، رضوان مشکات<sup>۲</sup>، دکتر مزدک گنجعلی خانی حاکمی<sup>۳</sup>، دکتر رسول صالحی<sup>۴</sup>، دکتر رامین قاسمی<sup>۵</sup>، دکتر مرتضی هاشم‌زاده<sup>۶</sup>، علی مسیبیان<sup>۷</sup>، شهربانو پرچی برجویی<sup>۸</sup>

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**مقدمه:** یکی از اعضای خانواده‌ی ژن رمزگذار دومن ایمونوگلوبولینی و موسینی سلول T، TIM-۱، در ناحیه‌ی ۳۳-۵q۳۱ واقع شده است. ناحیه‌ای که ارتباط آن با نمو سلول‌های TH۲ (T helpers) و بیماری‌های آلرژیک اثبات شده است. پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ می‌تواند موجب تغییر طول مولکول TIM-۱ شود. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط بین یک پلی مورفیسم در TIM-۱، با نام (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ و آمادگی ابتلا به آسم در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم بود.

**روش‌ها:** روش‌های PAGE (Polyacrylamide gel electrophoresis) و PCR (Polymerase chain reaction) به منظور بررسی حضور پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ در ۳۰۰ بیمار مبتلا به آسم و ۳۰۹ فرد سالم استفاده شد. اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین E تام (IgE) یا Immunoglobulin E (نمونه‌ی سرم افراد نیز به کمک روش الایزا انجام گردید).

**یافته‌ها:** در این جمعیت، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ Insertion/insertion در پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ و بیماری آسم و همچنین سطح IgE تام سرم مشاهده گردید (P = ۰/۰۵۰). همچنین آلل Deletion در بیماران به طور معنی‌داری فراوانی پایین‌تری داشت.

**نتیجه‌گیری:** در جمعیت مورد مطالعه، ارتباط معنی‌داری بین پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ و بیماری آسم و همچنین این پلی مورفیسم با سطح IgE تام سرمی وجود دارد.

**واژگان کلیدی:** TIM-۱، آسم، پلی مورفیسم

**ارجاع:** شیرزاد هدایت‌اله، مشکات رضوان، گنجعلی خانی حاکمی مزدک، صالحی رسول، قاسمی رامین، هاشم‌زاده مرتضی، مسیبیان علی، پرچی برجویی شهربانو. بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم Insertion/deletion ۵۳۸۳-۵۳۹۷ ژن رمزگذار دومن ایمونوگلوبولینی و موسینی نوع یک سلول T با آسم و سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۰): ۱۴۳۲-۱۴۲۳

۱- استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات ایمونولوژی سلولی و مولکولی و گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشیار، گروه ژنتیک و زیست‌شناسی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- فوق تخصص آسم، آلرژی و ایمنی‌بالینی، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۶- استاد، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۷- کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۸- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

## مقدمه

آسم یک بیماری التهابی مزمن مجاری هوایی شامل ویژگی‌هایی چون علائم متغیر و عود کننده، انسداد برگشت پذیر جریان هوا و اسپاسم برونش است. این بیماری یک معضل جهانی است. بر اساس آمار سازمان بهداشت جهانی، ۳۰۰ میلیون نفر به بیماری آسم مبتلا هستند و شیوع جهانی بیماری ۱۸-۱ درصد گزارش شده است (۱-۲). میزان شیوع بیماری در سال ۲۰۰۳، در کل جمعیت ایران ۵/۵ درصد و در کودکان ۱۰ درصد بوده است؛ شیوع این بیماری در حال افزایش می‌باشد (۱). آسم یک اختلال ژنتیکی پیچیده است که نحوه‌ی وراثت آن مشخص نیست و بر اساس برخی مطالعات، ژن‌هایی چندگانه در بیماری‌زایی آن دخیل هستند (۳).

شیوع بالای آسم و ناتوانی روش‌های پزشکی در مهار کامل این بیماری، سیل گسترده‌ی مطالعات جدید را به سوی ژنتیک آسم سرازیر نموده است (۴-۵). با شناسایی ژن‌های درگیر و مرتبط با آسم، امکان شناسایی اشخاص در خطر، پیشگیری و حتی مداخلات درمانی وجود دارد (۳). تعیین ارتباط احتمالی مولکول‌های خاص با ایجاد یا پیشرفت آسم، بر پایه‌ی انواع پلی مورفیسم‌های DNA می‌تواند دریچه‌ای در ارتقای آزمایش‌های تشخیصی باشد؛ تا آن جا که نشانگرهای زیستی انتخابی به عنوان اثر انگشت بیماری تحت بررسی قرار گیرند (۶).

خانواده‌ی TIM در سال ۲۰۰۱ با استفاده از مدل موشی کانژن آسم، کلون و اهمیت آن شناسایی شد (۷). ژن‌های این خانواده در ناحیه‌ی کروموزومی ۵q۲۳-۳۵ واقع شده‌اند. چنان چه گفته شد، ارتباط این ناحیه با آسم به کرات پیشنهاد شده است (۸-۱۰).

از طریق مطالعات ارتباطی و کلونینگ موضعی، ارتباط چندین ژن از جمله TIM-۱، با بیماری آسم شناسایی گردیده است (۱۱). TIM-۱ بر روی لنفوسیت‌های TCD<sup>۴+</sup> تمایز یافته به سلول‌های TH<sub>۲</sub> (T helper ۲)، بروز می‌یابد و به عنوان یک پیام کمک محرک برای فعال شدن این سلول‌ها و تولید سایتوکاین‌های مرتبط عمل می‌کند (۱۲-۱۳). این ملکول نقش مهمی در تنظیم، فعال شدن و عملکرد TH<sub>۲</sub> دارد (۱۴).

چندین مطالعه با هدف یافتن ارتباط پلی مورفیسم‌های TIM-۱ و آمادگی دچار شدن به آسم صورت گرفته است که البته نتایج متناقضی پیشنهاد شده است (۸-۱۹، ۸).

از جمله، مطالعه‌ای در جمعیت آفریقایی آمریکایی نشان داد که فرم حذف هموزیگوت MTTTVP ins/del ۱۵۷ یا (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در اگزون ۴ ژن TIM-۱ با آمادگی ابتلا به آسم در ارتباط می‌باشد (۱۸). در حالی که در یک مطالعه در جمعیت ژاپنی پیشنهاد شده است که هیچ ژنوتیپ حذف و اضافه‌ای در ژن TIM-۱ به طور ترجیحی در بیماران مبتلا به آسم وجود ندارد (۱۶). با این حال، پژوهشی در ارتباط با پلی مورفیسم‌های این ژن و بیماری آسم در جمعیت ایران انجام نشده است؛ از این رو در پژوهش حاضر، ارتباط پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در این ژن و بیماری آسم مورد مطالعه قرار گرفت.

## روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: این مطالعه‌ی مورد-شاهدی بر روی ۳۰۰ بیمار مبتلا به آسم و ۳۰۹ شاهد سالم از

۳۰ ثانیه، °C ۶۴ در ۳۰ ثانیه، °C ۷۲ در ۶۰ ثانیه و در نهایت °C ۷۲ در ۱۰ دقیقه اجرا شد. محصولات PCR به منظور تعیین ژنوتیپ بر روی ژل پلی‌اکریل آمید جداسازی و با رنگ‌آمیزی نقره قابل رؤیت گردیدند. باندها ۲۰۴ نماینده‌ی آلل ins، باندها ۲۰۱ نماینده‌ی آلل ref و باندها ۱۸۶ نشان دهنده‌ی آلل del می‌باشد. جهت صحت تعیین ژنوتیپ چند محصول PCR به صورت تصادفی گزینش و برای تعیین توالی مستقیم به شرکت ژن فن‌آوران، ایران ارسال شد. نتایج تعیین توالی با تعیین ژنوتیپ به طور کامل یکسان بود.

تعیین سطح IgE تام و شمارش ائوزینوفیل‌ها: به منظور سنجش میزان سطح IgE (Immunoglobulin E) تمام سرمی از کیت الایزا (enzyme-linked immunosorbent assay) (Euroimmun, Germany) استفاده شد. ائوزینوفیل‌های خون محیطی توسط دستگاه Cell counter sysmex xt ۱۸۰۰ شمارش و سپس به منظور تأیید صحت شمارش از روش گسترش لام خون محیطی استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: ارزیابی نتایج کمی به وسیله‌ی آزمون One-way ANOVA (One-way analysis of variance) و داده‌های کیفی توسط آزمون  $\chi^2$  و آزمون Fisher's exact انجام گردید و واکاوی سطح IgE تام سرمی در ژنوتیپ‌های مختلف پس از تغییرات لگاریتمی به علت تأمین توزیع طبیعی این متغیر انجام شد. سپس از آن جا که متغیرهای سن، جنس و سیگار می‌توانند بر سطح IgE سرمی مؤثر باشند، تأثیر این متغیرها به کمک آزمون ANCOVA (Analysis of covariance) حذف شد. به منظور بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم و بیماری از

بیمارستان هاجر چهار محال و بختیاری انجام شد. افراد گروه شاهد هیچ گونه سابقه و یا علائم آسم یا آلرژی نداشتند. دو گروه از لحاظ سن و جنس همسان‌سازی شدند و همه‌ی افراد، بومی همان استان بودند. همچنین انجام این مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تأیید شد و از تمامی شرکت کنندگان در این مطالعه رضایت‌نامه‌ی کتبی اخذ گردید.

استخراج DNA: ۴ ml خون تام از افراد مورد مطالعه گرفته شد و DNA از گلبول‌های سفید خون محیطی توسط کیت جداسازی DNA (Feldan, Canada) و طبق روش پیشنهادی کارخانه‌ی سازنده استخراج گردید.

تعیین ژنوتیپ: تعیین ژنوتیپ توسط روش PAGE (Polyacrylamide gel electrophoresis) انجام گردید. ابتدا قطعه‌ی ۲۰۱ bp در بر گیرنده‌ی پلی مورفیسم مورد نظر، توسط روش PCR (Polymerase chain reaction) و با استفاده از زوج پرایمرهای ۳'-TGGGAAGTCAGGGGCTGTTTCTGTCG-۵' و ۳'-GCAGACAGGCTGGTTGGTA-۵' تکثیر گردید. واکنش در حجم کلی ۲۵  $\mu$ l شامل ۲/۵  $\mu$ l از X buffer، ۱۰  $\mu$ l از ۰/۵  $\mu$ l از dNTP (Deoxyribonucleotide)، ۱  $\mu$ l از هر پرایمر (با غلظت ۱۰ pmol)، ۰/۳  $\mu$ l آنزیم TaqDNA-polymerase (سیناژن، ایران)، ۰/۷۵  $\mu$ l MgCl<sub>۲</sub> (۵۰ mM) به میزان ۰/۷۵  $\mu$ l و ۲  $\mu$ l از DNA ژنومی (۵۰ ng) استفاده شد.

برنامه‌ی PCR توسط دستگاه ترموسایکلر قابل برنامه‌ریزی (Eppendorf, Germany)، شامل پیش داناتوراسیون °C ۹۴ و ۳۰ چرخه با °C ۹۴ در

سرمی و تعداد سلول‌های ائوزینوفیل بین دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد؛ به طوری که سطح هر دو متغیر در بیماران به طور بسیار معنی‌داری بالاتر بود ( $P < 0/001$ ).

تعیین ژنوتیپ در هر دو گروه مورد مطالعه، به صورت موفقیت‌آمیزی انجام گردید (شکل ۱) و نتایج با بررسی تعیین توالی محصولات PCR تأیید شد. فراوانی ژنوتیپ و آلل‌های پلی‌مورفیسم مورد مطالعه در جدول ۲ آمده است. بر اساس این جدول، فراوانی آلل del در گروه شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بود ( $P = 0/012$ ).

آزمون Logistic regression استفاده گردید.  $P < 0/050$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

یافته‌های آزمایشگاهی و مشخصه‌های دموگرافیک افراد مورد و شاهد و ارتباط این متغیرها با بیماری آسم در جدول ۱ آمده است. هیچ تفاوت معنی‌داری در سن ( $P = 0/879$ ) و جنس ( $P = 0/705$ ) بین افراد مورد و شاهد به دست نیامد و این مطلب، همسان‌سازی کافی این متغیرها در دو گروه مورد مطالعه را نشان می‌دهد. در مقابل سطح IgE تام

جدول ۱. مشخصات جمعیت مورد مطالعه

متغیرها	شاهد (تعداد = ۳۰۹)	مورد (تعداد = ۳۰۰)	مقدار P
سن	۴۲/۷۶ ± ۱۴/۶۵	۴۲/۹۴ ± ۱۴/۶۸	۰/۱۸۹
جنس (زن/مرد)	۱۲۰/۱۸۹	۱۲۱/۱۷۹	۰/۷۰۵
ائوزینوفیل ( $10^3/\mu l$ )	۰/۰۸۵ ± ۰/۴۴۶	۰/۲۵۵ ± ۰/۲۹۴	< ۰/۰۰۱*
IgE (Immunoglobulin E) سرمی ( $\log 10$ )	۰/۷۷۳ ± ۰/۳۹۰	۱/۷۲۷ ± ۰/۶۵۲	< ۰/۰۰۱*
وضعیت مصرف سیگار (خیر/بلی)	۳۳/۲۷۶	۳۰/۲۷۰	۰/۷۸۳

\*: وجود اختلاف آماری معنی‌دار



شکل ۱. نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ توسط روش PCR-PAGE

(Polymerase chain reaction- polyacrylamide gel electrophoresis)

۱: نشانگر: باند ۲۰۰ bp را نشان می‌دهد، ۲: ژنوتیپ del/del، ۳: ژنوتیپ ins/del، ۴: ژنوتیپ ins/ins

۵: ژنوتیپ ins/del، ۶: ژنوتیپ ref/del، ۷: ژنوتیپ ref/ins

تکرار شد (جدول ۳). اما سایر اشکال ژنوتیپی این پلی مورفیسم، از خود هیچ اثر خطر ساز یا حفاظتی در قبال این بیماری نشان ندادند ( $P > 0/050$ ). همچنین آزمون ANOVA و در پی آن آزمون تعقیبی Bonferroni با بررسی مقادیر  $\log_{10}$  IgE در فرم‌های مختلف ژنوتیپی پلی مورفیسم بیان نمود که مقادیر این متغیر در فرم ins/ins با سایر اشکال تفاوت بسیار معنی‌داری دارد ( $P < 0/001$ ) (جدول ۴). پس از استفاده از آزمون ANCOVA و تعدیل متغیرهای جنس، سن و وضعیت سیگار، این اختلاف معنی‌دار باقی ماند ( $P < 0/001$ ) (جدول ۵).

این نتیجه می‌تواند این آلل را به عنوان یک عامل احتمالی در حفاظت از بیماری آسم معرفی نماید. در مقابل، دو آلل ref ( $P = 0/679$ ) و ins ( $P = 0/055$ ) در دو گروه از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار نشان نداد. توزیع ژنوتیپی در دو گروه مورد و شاهد با معادله Hardy-Weinberg سازگاری داشت و فراوانی ژنوتیپ ins/ins (با فاصله اطمینان ۹۵ درصد:  $1/030-1/330$ ،  $OR = 3/652$  و  $P = 0/012$ ) با خطر ابتلا به بیماری آسم ارتباط معنی‌داری نشان داد. این نتیجه حتی پس از تعدیل نسبت خطر (OR یا Odd ratio) با متغیرهای جنس، سن، وضعیت مصرف سیگار، تعداد ائوزینوفیل‌ها در  $10^3 \mu l$  و  $\log_{10}$  IgE

جدول ۲. فراوانی آللی و ژنوتیپی در پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷

مقدار P	نسبت خطر	مورد	شاهد	فراوانی آللی
0/055	1/384 (0/993-1/929)	220 (36/7)	191 (30/9)	ins
*0/012	0/325 (0/135-0/779)	372 (62/0)	417 (67/5)	del
0/679	0/679 (0/319-2/105)	8 (1/3)	10 (1/6)	ref
				فراوانی ژنوتیپی
0/440	1/136 (0/882-1/570)	183 (61/0)	179 (57/9)	ins/del
0/088	0/746 (0/523-1/045)	92 (30/7)	115 (37/2)	del/del
0/435	0/638 (0/206-1/972)	5 (1/7)	8 (2/6)	ref/del
0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	ref/ref
0/632	1/551 (0/257-9/345)	3 (1/0)	2 (0/6)	ref/ins
*0/012	3/652 (1/330-10/030)	17 (5/7)	5 (1/6)	ins/ins

\*وجود اختلاف آماری معنی‌دار

جدول ۳. سطح معنی‌داری تعدیل شده با متغیرهای سن، جنس، سیگار، میزان ائوزینوفیل و  $\log_{10}$  IgE

Immunoglobulin E) در پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷

مقدار P	نسبت خطر	اشکال ژنوتیپی
0/446	1/226 (0/726-2/072)	ins/del
0/947	1/054 (0/618-1/797)	del/del
0/457	0/416 (0/042-4/178)	ref/del
-	-	ref/ref
0/965	0/980 (1/026-48/390)	ref/ins
*0/019	0/146 (0/029-0/733)	ins/ins

\*وجود اختلاف آماری معنی‌دار

جدول ۴. ارتباط بین IgE (Immunoglobulin E) تام سرمی و ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ در افراد مبتلا به آسم

ژنوتیپ	گروه مورد	مقدار بحرانی (F)	مقدار P
ins/del	۱/۲۵۸ ± ۰/۶۱۰		> ۰/۰۵۰
del/del	۱/۱۱۴ ± ۰/۶۷۲		> ۰/۰۵۰
ref/del	۱/۱۱۰ ± ۰/۷۳۶		> ۰/۰۵۰
ref/ins	۱/۶۷۳ ± ۱/۰۸۳		> ۰/۰۵۰
ins/ins	۲/۱۸۶ ± ۰/۵۸۱	۱۲/۶۹	< ۰/۰۰۱*

\*: وجود اختلاف آماری معنی‌دار

جدول ۵. بررسی Covariance تأثیر پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ در میزان IgE (Immunoglobulin E) تام سرمی در مبتلایان به آسم

ژنوتیپ	گروه مورد	مقدار بحرانی (F)	مقدار P
ins/del	۱/۲۵۸ ± ۰/۶۱۰		> ۰/۰۵۰
del/del	۱/۱۱۴ ± ۰/۶۷۲		> ۰/۰۵۰
ref/del	۱/۱۱۰ ± ۰/۷۳۶		> ۰/۰۵۰
ref/ins	۱/۶۷۳ ± ۱/۰۸۳		> ۰/۰۵۰
ins/ins	۲/۱۸۶ ± ۰/۵۸۱	۷/۷۹	< ۰/۰۰۱*

\*: وجود اختلاف آماری معنی‌دار

درمان آسم به کار رود (۲۱).

پروتئین‌های TIM عاملی مؤثر در تعیین سرنوشت فعالیت و تمایز سلول‌های T هستند (۲۲) و نیز در تنظیم آسم و آلرژی نقشی مؤثر دارند (۷-۸). به طور خاص، TIM-۱ عامل مهمی در تنظیم، فعال شدن و عملکرد TH<sub>2</sub> است (۱۴). همچنین TIM-۱ به عنوان گیرنده‌ی ویروس هپاتیت A (Hepatitis A virus) یا HAV در میمون و انسان شناخته شده است (۲۳-۲۴). برخی مطالعات پیشین با نتایج متناقض، به منظور کاوش در ارتباط بین مولکول TIM-۱ و آمادگی دچار شدن به آسم صورت گرفته است (۸، ۱۵-۱۶، ۱۸-۱۹).

## بحث

آسم یک اختلال ژنتیکی پیچیده و متأثر از دو عامل محیط و ژنتیک است که نحوه‌ی وراثت آن مشخص نیست و ژن‌های متعددی در ابتلا به آسم مشارکت دارند (۳). اما هنوز هیچ ژن یا پلی‌مورفیسمی به طور ویژه به عنوان مسؤول بیماری‌زایی آسم شناخته نشده است (۱۹). اهمیت مولکول TIM-۱ تا جایی است که حتی در درمان آسم مد نظر استه و احتمال می‌رود ملکول ضد TIM-۱ بتواند در درمان‌های نوین ضد آسم به کار گرفته شود (۲۰). به طور کلی، ژن‌های TIM پلی‌مورفیک (چند شکلی) هستند و واکاوی بیشتر ژنوتیپ آن‌ها می‌تواند در فرایند تشخیص و

با آتوپیی در افراد HAV<sup>+</sup> نیز بررسی شده است (۲۵، ۱۷، ۱۵). از طرف دیگر، بعضی مطالعات پیشین یافته‌هایی خلاف مشاهدات مطالعه‌ی حاضر پیشنهاد نموده‌اند. برای مثال Chae و همکاران گزارش کردند فراوانی ژنوتیپ‌های (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌داری ندارد (۱۵). یافته‌های Li و همکاران (۸) در جمعیت Chinese Han و یافته‌های Noguchi و همکاران (۱۶) در جمعیت ژاپن نیز با پژوهش حاضر همخوانی نداشتند. در مجموع، این یافته‌ها بیانگر ارتباط این پلی مورفیسم در بعضی جوامع و عدم ارتباط آن در دیگر جوامع، با خطر ابتلا به آسم است. این تناقض می‌تواند به دلیل تفاوت در زمینه‌ی ژنتیکی جوامع مورد مطالعه، تعداد اندک حجم نمونه در بعضی مطالعات و تأثیر عوامل محیطی باشد. با توجه به اهمیت این پلی مورفیسم، بررسی آن در جوامع دیگر نیز پیشنهاد می‌گردد. همچنین مطالعاتی در راستای کشف مسیر دقیق پیام‌دهی این مولکول و عوامل واسطه‌ی مجهول، با هدف چگونگی تأثیر بر بیماری‌هایی چون آسم، ضروری می‌نماید.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و همچنین تمامی کارکنان آزمایشگاه بیمارستان هاجر شهرکرد و نیز استادان گرانقدر گروه ژنتیک و ایمنی‌شناسی علوم پزشکی اصفهان که صمیمانه در اجرای این پژوهش یاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد. این پژوهش حاصل پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد می‌باشد و هزینه‌های اجرای آن توسط دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تأمین گردید.

در این پژوهش، ارتباط بین پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ و آسم در یک جمعیت ایرانی بررسی شد. (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ واقع در دومن شبه موسین خارج سلولی مولکول TIM-۱، می‌تواند تغییراتی در ساختار آمینو-اسیدی این مولکول (ins/del MTTTVP ۱۵۷) ایجاد کند و به این شیوه در تنظیم فعالیت مولکول دخیل باشد (۱۷).

مطالعه‌ی حاضر یک ارتباط معنی‌دار بین این پلی مورفیسم و بیماری آسم نشان داد؛ به طوری که ژنوتیپ ins/ins می‌تواند احتمال ایجاد بیماری آسم را افزایش دهد و پس از در نظر گرفتن اثرات مخمل متغیرهای انتخابی نیز این نتایج برقرار ماند. همچنین بررسی آلی مشخص نمود که آلل del ممکن است یک عامل حفاظتی در قبال بیماری آسم باشد. علاوه بر این، با توجه به یافته‌های مربوط به سطح IgE تام در گروه مورد، پیشنهاد می‌گردد که ژنوتیپ ins/ins می‌تواند در افزایش سطح این آنتی‌بادی در مبتلایان به آسم تأثیرگذار باشد. برخی مطالعات نیز با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشته است. برای نمونه Gao و همکاران ارتباط معنی‌داری میان فرم ins/del MTTTVP ۱۵۷ با ابتلا به آسم مشاهده کردند (۱۸).

همچنین یافته‌های Wu و همکاران در چین با نتایج این مطالعه شباهت دارد و فراوانی ژنوتیپ ins/ins در افراد مبتلا به آسم آتوپیک، به طرز معنی‌داری بالاتر گزارش شده است. میزان IgE تام سرمی نیز شبیه نتایج تحقیق حاضر، در ژنوتیپ ins/ins اختلاف معنی‌داری را نشان داده است (۱۹).

این پلی مورفیسم در برخی بیماری‌های دیگر از جمله وجود ارتباط با درماتیت آتوپیک و آرتريت روماتوئید در جمعیت کره و همچنین ارتباط معنی‌دار



## References

- Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 2004; 59(5): 469-78.
- Beasley R. The global burden of asthma report. Global Initiative for Asthma (GINA). 2004 [Online]. [cited 2010 Aug]; Available from: <http://www.ginasthma.org/>
- Los H, Koppelman GH, Postma DS. The importance of genetic influences in asthma. *Eur Respir J* 1999; 14(5): 1210-27.
- Sonar SS, Hsu YM, Conrad ML, Majeau GR, Kilic A, Garber E, et al. Antagonism of TIM-1 blocks the development of disease in a humanized mouse model of allergic asthma. *J Clin Invest* 2010; 120(8): 2767-81.
- Vercelli D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(3): 169-82.
- Holgate ST, Davies DE, Powell RM, Howarth PH, Haitchi HM, Holloway JW. Local genetic and environmental factors in asthma disease pathogenesis: chronicity and persistence mechanisms. *Eur Respir J* 2007; 29(4): 793-803.
- McIntire JJ, Umetsu SE, Akbari O, Potter M, Kuchroo VK, Barsh GS, et al. Identification of Tapr (an airway hyperreactivity regulatory locus) and the linked Tim gene family. *Nat Immunol* 2001; 2(12): 1109-16.
- Li JS, Liu QJ, Wang P, Li HC, Wei CH, Guo CH, et al. Absence of association between two insertion/deletion coding genetic polymorphisms of TIM-1 gene and asthma in Chinese Han population. *Int J Immunogenet* 2006; 33(6): 417-22.
- Marsh DG, Neely JD, Breazeale DR, Ghosh B, Freidhoff LR, Ehrlich-Kautzky E, et al. Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science* 1994; 264(5162): 1152-6.
- Postma DS, Bleecker ER, Amelung PJ, Holroyd KJ, Xu J, Panhuysen CI, et al. Genetic susceptibility to asthma--bronchial hyperresponsiveness coinherited with a major gene for atopy. *N Engl J Med* 1995; 333(14): 894-900.
- Mukherjee AB, Zhang Z. Allergic asthma: influence of genetic and environmental factors. *J Biol Chem* 2011; 286(38): 32883-9.
- Freeman GJ, Casasnovas JM, Umetsu DT, DeKruyff RH. TIM genes: a family of cell surface phosphatidylserine receptors that regulate innate and adaptive immunity. *Immunol Rev* 2010; 235(1): 172-89.
- Umetsu SE, Lee WL, McIntire JJ, Downey L, Sanjanwala B, Akbari O, et al. TIM-1 induces T cell activation and inhibits the development of peripheral tolerance. *Nat Immunol* 2005; 6(5): 447-54.
- Lee J, Phong B, Egloff AM, Kane LP. TIM polymorphisms--genetics and function. *Genes Immun* 2011; 12(8): 595-604.
- Chae SC, Song JH, Lee YC, Kim JW, Chung HT. The association of the exon 4 variations of Tim-1 gene with allergic diseases in a Korean population. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 312(2): 346-50.
- Noguchi E, Nakayama J, Kamioka M, Ichikawa K, Shibasaki M, Arinami T. Insertion/deletion coding polymorphisms in hHAVcr-1 are not associated with atopic asthma in the Japanese population. *Genes Immun* 2003; 4(2): 170-3.
- McIntire JJ, Umetsu SE, Macaubas C, Hoyte EG, Cinnioğlu C, Cavalli-Sforza LL, et al. Immunology: hepatitis A virus link to atopic disease. *Nature* 2003; 425(6958): 576.
- Gao PS, Mathias RA, Plunkett B, Togias A, Barnes KC, Beaty TH, et al. Genetic variants of the T-cell immunoglobulin mucin 1 but not the T-cell immunoglobulin mucin 3 gene are associated with asthma in an African American population. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115(5): 982-8.
- Wu Q, Hu L, Cai P, Li Y, Chen F, Kong L. Association analysis of TIM-1 -232G > A and 5383\_5397 insertion/deletion polymorphisms with childhood asthma and total serum immunoglobulin E levels in middle China. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2009; 19(2): 146-53.
- Encinas JA, Janssen EM, Weiner DB, Calarota SA, Nieto D, Moll T, et al. Anti-T-cell Ig and mucin domain-containing protein 1 antibody decreases TH2 airway inflammation in a mouse model of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116(6): 1343-9.
- Meyers JH, Sabatos CA, Chakravarti S, Kuchroo VK. The TIM gene family regulates autoimmune and allergic diseases. *Trends Mol Med* 2005; 11(8): 362-9.
- Yeung MY, McGrath M, Najafian N. The emerging role of the TIM molecules in transplantation. *Am J Transplant* 2011; 11(10): 2012-9.
- Kaplan G, Totsuka A, Thompson P, Akatsuka T, Moritsugu Y, Feinstone SM. Identification of a surface glycoprotein on African green monkey kidney cells as a receptor for hepatitis A virus.

- EMBO J 1996; 15(16): 4282-96.
24. Feiglstock D, Thompson P, Mattoo P, Zhang Y, Kaplan GG. The human homolog of HAVcr-1 codes for a hepatitis A virus cellular receptor. J Virol 1998; 72(8): 6621-8.
25. Chae SC, Song JH, Shim SC, Yoon KS, Chung HT. The exon 4 variations of Tim-1 gene are associated with rheumatoid arthritis in a Korean population. Biochem Biophys Res Commun 2004; 315(4): 971-5.

## Association Analysis of T-Cell Immunoglobulin and Mucin 1 Gene 5383-5397 Insertion/Deletion Polymorphism with Asthma and Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma and Controls

Hedayatollah Shirzad PhD<sup>1</sup>, Rezvan Meshkat MSc<sup>2</sup>, Mazdak Gangalikhani-Hakemi PhD<sup>3</sup>, Rasuol Salehi PhD<sup>4</sup>, Ramin Ghasemi MD<sup>5</sup>, Mortaza Hashemzadeh PhD<sup>6</sup>, Ali Mosayebian MSc<sup>7</sup>, Shahrbanoo Parchami-Barjui MSc<sup>8</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** A member of a T-cell immunoglobulin (Ig) domain and mucin domain (TIM) gene family, TIM-1, in 5q31-33 region is shown to be correlated with development of T helper-2 (TH2) cells and allergic diseases. Polymorphism insertion/deletion (ins/del) of 5383-5397 may affect the length of TIM-1 mucin domain. The aim of this study was to investigate the association of polymorphism insertion/deletion (ins/del) 5383-5397 and susceptibility to asthma in Chaharmahal va Bakhtiari Province, Iran.

**Methods:** Polymerase chain reaction (PCR) and polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) were used for investigating the presence of (ins/del) 5383-5397 polymorphism in 300 patients with asthma and healthy controls. Total IgE was measured via the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique in their serum samples as well.

**Findings:** Significant associations were found between the insertion/insertion genotype in 5383-5397 insertion/deletion polymorphism with both asthma and levels of total serum IgE in patients with asthma ( $P < 0.05$ ). Furthermore, we found that the frequency of the deletion allele is significantly lower in patients with asthma.

**Conclusion:** Based on these findings, we identified a significant association between 5383-5397 ins/del polymorphism with asthma and with total serum IgE levels in Chaharmahal va Bakhtiari Province population.

**Keywords:** T-cell immunoglobulin and mucin-domain-containing molecule-1 (TIM-1), Asthma, Polymorphism

**Citation:** Shirzad H, Meshkat R, Gangalikhani-Hakemi M, Salehi R, Ghasemi R, Hashemzadeh M, et al. **Association Analysis of T-Cell Immunoglobulin and Mucin 1 Gene 5383-5397 Insertion/Deletion Polymorphism with Asthma and Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma and Controls.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(300): 1423-32

1- Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

2- Department of Immunology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

3- Assistant Professor, Cellular and Molecular Immunology Research Center AND Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Associate Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- Subspecialist in Asthma, Allergy and Clinical Immunology, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences Isfahan, Iran

6- Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

7- Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

8- Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

**Corresponding Author:** Mazdak Gangalikhani-Hakemi PhD, Email: mghakemi@med.mui.ac.ir

## طراحی حفاظ به منظور کاهش آلودگی‌های فوتونوترونی در شتاب دهنده‌ی

## پزشکی ۲۰ Saturne

فریبا نادعلیان دستجردی<sup>۱</sup>، دکتر داریوش شهبازی گهرویی<sup>۲</sup>، دکتر محمدحسن علامت‌ساز<sup>۳</sup>،  
مصطفی خسروی<sup>۴</sup>، میلاد برادران قهفرخی<sup>۵</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** در شتاب دهنده‌های پزشکی مورد استفاده در پرتو درمانی، از برخورد فوتون‌های پر انرژی با اجزای شتاب دهنده‌ی نوترون استفاده می‌گردد. تولید این نوترون‌ها باعث دریافت دز اضافی توسط بیمار می‌شود. این مطالعه، با هدف بررسی تأثیر استفاده از حفاظ‌هایی با جنس‌ها و ابعاد متفاوت در شتاب دهنده‌ی پزشکی ۲۰ Saturne با انرژی ۱۸ MV در کاهش دز فوتونوترون‌ها، انجام شد.

**روش‌ها:** برای انجام شبیه‌سازی‌ها، از کدهای Monte Carlo شامل MCNP۴C (Monte Carlo N-particle code) و MCNPX (Monte Carlo N-Particle eXtended) استفاده شد. به منظور طراحی حفاظ، از سه ماده‌ی متفاوت پلکسی گلاس، پلی‌اتیلن و گرافیت استفاده شد. دز نوترون‌ها در طراحی‌های متفاوت حفاظ محاسبه شد و در نهایت با طراحی بدون حفاظ مقایسه گردید. در محاسبه‌ی دز، از عوامل تبدیل شار به دز (ICRP-۲۱ (International commission on radiological protection-۲۱) و NCRP-۳۸ (National council on radiation protection and measurements-۳۸) استفاده شد.

**یافته‌ها:** به منظور اطمینان از صحت شبیه‌سازی‌ها، نتایج شبیه‌سازی با نتایج تجربی دزسنجی مقایسه و سازگاری خوبی مشاهده شد (کمتر از ۵ درصد تفاوت). استفاده از پلی‌اتیلن با ضخامت ۰/۵ cm در مقایسه با طراحی بدون حفاظ، به طور متوسط کاهش دز را در پی داشت که با افزایش ضخامت تا ۲ و ۴ برابر، درصد کاهش‌ها به ۲۱ درصد و ۳۹ درصد رسید. با افزایش ضخامت پلکسی گلاس نیز درصد تغییرات از ۱۲ درصد به ۱۹ درصد رسید. استفاده از گرافیت، کاهش دز را به دنبال داشت.

**نتیجه‌گیری:** استفاده از حفاظ در نزدیکی کولیماتورهای دستگاه شتاب دهنده، می‌تواند تأثیر به‌سزایی در کاهش دز نوترون‌ها داشته باشد. از بین سه ماده‌ی استفاده شده در این تحقیق، پلی‌اتیلن بالاترین درصد کاهش و گرافیت کمترین میزان کاهش‌ها را به خود اختصاص داد.

**واژگان کلیدی:** حفاظ پرتو، آلودگی‌های فوتونوترونی، شتاب دهنده‌ی پزشکی ۲۰ Saturne

**ارجاع:** نادعلیان دستجردی فریبا، شهبازی گهرویی داریوش، علامت‌ساز محمدحسن، خسروی مصطفی، برادران قهفرخی میلاد. طراحی حفاظ به منظور کاهش آلودگی‌های فوتونوترونی در شتاب دهنده‌ی پزشکی ۲۰ Saturne. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۰):

۱۴۴۳-۱۴۳۳

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیک هسته‌ای، دانشکده‌ی فیزیک، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۲- استاد، گروه فیزیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۳- استادیار، گروه فیزیک، دانشکده‌ی فیزیک، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۴- کارشناس ارشد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- دانشجوی دکتری، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: shahbazi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر داریوش شهبازی گهرویی

## مقدمه

پرتو درمانی از پرکاربردترین روش‌های درمان سرطان می‌باشد. پرتو درمانی به درمان سرطان با استفاده از پرتوها می‌پردازد (۱-۳). با توجه به این که چشمه‌ی پرتوزا در چه فاصله‌ای از بدن بیمار قرار بگیرد، پرتو درمانی به دو بخش درمان از راه دور و درمان از راه نزدیک تقسیم می‌شود (۴). از جمله دستگاه‌هایی که در درمان از راه دور مورد استفاده قرار می‌گیرند، شتاب دهنده‌های پزشکی می‌باشند که در دو شیوه‌ی فوتونی و الکترونی کار می‌کنند (۵). فوتونها به دلیل اثر حفاظت پوست و عمق نفوذ بالا، در درمان تومورهای عمقی به کار می‌روند (۶). در شیوه‌ی فوتونی دستگاه، الکترون‌ها از طریق برخورد با یک هدف، در اثر پدیده‌ی تابش ترمزی، فوتون تولید می‌نمایند و این پرتو، توسط سایر اجزای شتاب دهنده، همسو و یکنواخت می‌شود و به بیمار منتقل می‌گردد. اگر فوتون تولید شده، انرژی کافی جهت نفوذ در هسته و جدا کردن یک نوکلئون را داشته باشد، واکنش فوتو هسته‌ای رخ می‌دهد (۵).

در شتاب دهنده‌ها، از برخورد فوتون‌ها و الکترون‌های پرانرژی با اجزای شتاب دهنده، نوترون تولید می‌شود. سطح مقطع برخورد برای واکنش الکترون به نوترون در حدود ۱۰ برابر کوچک‌تر از سطح مقطع برخورد برای واکنش فوتون و نوترون است (۷-۹). بنابراین تولید نوترون‌ها در حالت فوتونی از اهمیت بالاتری برخوردار است. به پدیده‌ی تولید نوترون‌ها در حالت فوتونی، فوتونوترون گفته می‌شود (۵).

لازم به ذکر است تولید این نوترون‌ها باعث دریافت دز اضافی توسط بیمار می‌شود. نوترون‌ها

دارای ضریب کیفیت پرتویی بالایی نسبت به پرتوهای فوتونی هستند. بنابراین دز پایی از آن‌ها نیز برای از بین بردن سلول‌ها کافی است (۱۱-۱۰). پس لازم است طراحی حفاظ‌های مناسب در کاهش دز نوترون‌ها مورد بررسی قرار گیرد (۱۳-۱۲).

نوترون‌هایی که با بدن انسان برخورد می‌کنند، از طریق برخوردهای کشسان و ناکشسان با هسته‌ها و از طریق تابش‌های ثانویه‌ای که به وسیله‌ی رادیو ایزوتوپ‌های تولید شده بعد از جذب نوترون‌ها گسیل می‌شود، به آن انرژی منتقل می‌کنند (۱۵-۱۴).

از دست دادن انرژی میانگین نوترون در هر برخورد با هیدروژن ۵۰ درصد انرژی نوترون فرودی است. این نسبت برای کربن و اکسیژن به ترتیب ۱۴ و ۱۱ درصد است. بنابراین به منظور کاهش دز نوترون‌ها، استفاده از حفاظ‌هایی که شامل عناصری مانند هیدروژن، کربن و اکسیژن می‌باشند، با استفاده از پدیده‌ی پراکندگی نوترون‌ها، در کاهش انرژی نوترون‌ها مفید خواهد بود (۱۸-۱۶). استفاده از پلی‌اتیلن ( $C_2H_4$ )، پلکسی گلاس ( $C_5O_2H_8$ ) و گرافیت (C) در حفاظ‌سازی تابش‌های نوترونی بسیار پرکاربرد می‌باشد (۱۳-۱۲).

مطالعات زیادی در زمینه‌ی فوتونوترون‌ها انجام شده است. در سال ۱۹۸۴ گزارشی توسط NCRP انتشار یافت که در آن نحوه‌ی تولید فوتونوترون‌ها و ترابرد آن‌ها و نیز نحوه‌ی اندازه‌گیری دز این پرتوها بیان شد (۱۹). در تحقیقات قبلی، به طور معمول از شبیه‌سازی ساده‌ی هندسه‌ی سر دستگاه و تجهیزات مربوط استفاده شده است (۱۹).

همچنین اغلب این تحقیقات، بر روی شتاب دهنده‌های پر کاربرد در کشورهای توسعه یافته انجام

کدهای Monte Carlo شامل MCNPX و (Monte Carlo N-Particle eXtended) و MCNP۴C (Monte Carlo N-particle radiation transport computer code) استفاده شد (۲۰، ۴). مواردی که لازم بود در این تحقیق توسط کد MCNP Monte Carlo شبیه‌سازی شوند، شتاب دهنده‌ی خطی پزشکی Saturne ۲۰، فانتوم آب و حفاظ نوترون بودند.

شتاب دهنده‌ی Saturne ۲۰ یکی از شتاب دهنده‌های موجود در بیمارستان سیدالشهدا (ع) اصفهان بود. جدول ۱ و شکل ۱، پارامترهای دستگاه شتاب دهنده‌ی Saturne ۲۰ شامل ابعاد، شکل و موقعیت اجزای تشکیل دهنده‌ی آن و همچنین پارامترهای فیزیکی آن مثل چگالی و ترکیبات اجزا را نشان می‌دهند.

برای انجام شبیه‌سازی‌ها، پارامترهای هندسی این دستگاه شامل ابعاد، شکل و موقعیت اجزای تشکیل دهنده‌ی آن و همچنین پارامترهای فیزیکی مانند چگالی و ترکیبات اجزا مورد نیاز می‌باشد. تمامی این اطلاعات، از داده‌های کارخانه‌ی سازنده استخراج شد.

شده است. شتاب دهنده‌ی Saturne ۲۰ به دلیل ساختار الکترومکانیکی ساده و هزینه‌ی تعمیرات کم، در کشورهای توسعه یافته و به خصوص در ایران کاربرد بسیاری دارد (۵)؛ اما تا محدوده‌ی بررسی پژوهشگران این مطالعه، پژوهشی در زمینه‌ی طراحی حفاظ‌هایی با جنس‌ها و ابعاد متفاوت در شتاب دهنده‌ی پزشکی Saturne ۲۰ در انرژی ۱۸ MV در کاهش دز فوتونوترون‌ها انجام نشده بود. البته خسروی و همکاران تأثیر دز فوتونوترون‌های ناشی از شتاب دهنده‌ی Saturne بر دز دریافتی بیماران را بررسی کرده بودند (۵)، اما در آن مطالعه، طراحی حفاظ‌هایی با جنس‌ها و ابعاد متفاوت در انرژی ۱۸ MV برای کاهش دز فوتونوترون‌ها انجام نشده بود (۵).

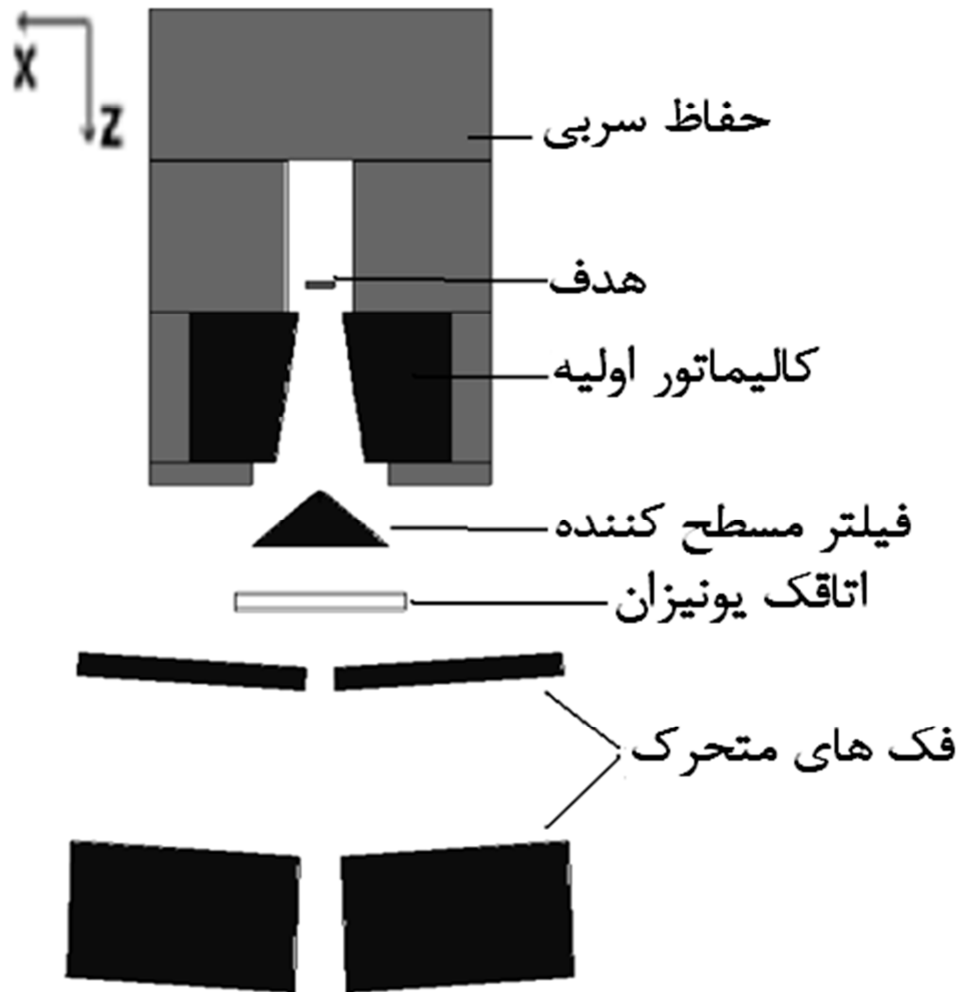
در تحقیق حاضر، تأثیر حفاظ‌های متفاوت در کاهش دز فوتونوترون‌ها در شتاب دهنده‌ی Saturne مورد بررسی قرار گرفت.

## روش‌ها

در این تحقیق، از روش Monte Carlo به منظور شبیه‌سازی باریکه‌ی پرتو و به دست آوردن توزیع دز استفاده شد. برای انجام شبیه‌سازی‌ها، از

جدول ۱. پارامترهای دستگاه شتاب دهنده‌ی Saturne ۲۰

جزء	ابعاد داخلی (cm)		ابعاد خارجی (cm)	ارتفاع (cm)	شکل هندسی	
	داخلی	خارجی			داخلی	خارجی
حفاظ سربی	۸/۲۰ قطر	-	۱۰/۰۰ قطر	۳۴/۰۰	استوانه	استوانه
اتاقک یون‌ساز	-	-	۱۴/۰۰ قطر	۰/۲۰	استوانه	استوانه
تارگت	۱/۰۰ قطر	-	۲/۷۷ قطر	۰/۶۰	استوانه	استوانه
کالیباتور اولیه	۴/۰۰ در بالا و ۸/۰۰ در پایین قطر	-	۲۳/۰۰ قطر	۱۰/۰۰	مخروط	استوانه
فیلتر مسطح کننده	-	-	۰/۲۰ در بالا و ۶/۰۰ در پایین	۲/۰۰	مخروط	-
فک متحرک بالایی	-	-	۱۳/۰۰ پهنا و ۲۱/۰۰ طول	۲/۰۰	صفحه	-
فک متحرک پایینی	-	-	۱۳/۰۰ پهنا و ۲۱/۰۰ طول	۱۱/۵۰	صفحه	-

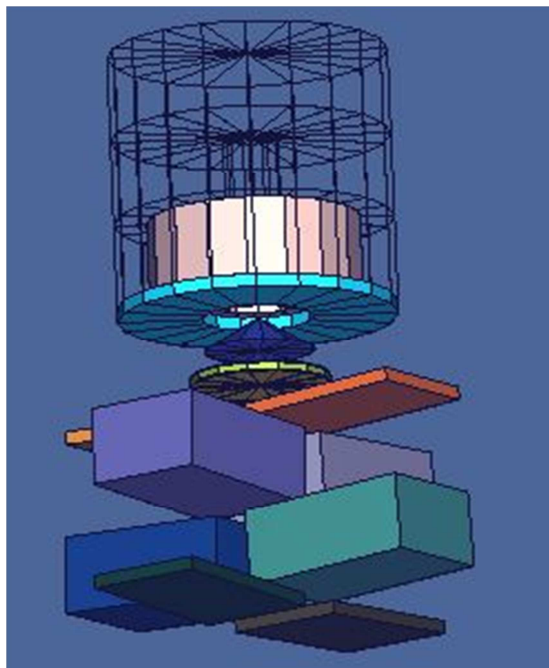


شکل ۱. نمای جانبی از سر دستگاه شتاب دهنده

در مرحله‌ی شبیه‌سازی حفاظ، تعدادی سلول در راستای عمق فانتوم و با فواصل متفاوت از هدف تعریف شد. سپس برای محاسبه‌ی توزیع دز در کد Monte Carlo، بدون آن که حفاظی در نزدیکی کولیماتور در نظر گرفته شود، تالی‌های  $F_4$  روی این سلول‌ها تعریف شد و با استفاده از ضرایب تبدیل شار به دز، دز نوترون در فواصل متفاوت از هدف محاسبه شد. در محاسبه‌ی این دز، از عوامل تبدیل شار به دز نوترونی ۲۱-ICRP (۲۱-International commission on radiological protection) و

در مرحله‌ی بعد، یک فانتوم آب به ابعاد ۳۰ مقیاس سانتی‌متر مکعب و در فاصله‌ی ۱۰۰ cm از هدف، شبیه‌سازی شد. برای به دست آوردن نمودار دز عمقی، سلول‌هایی به ابعاد  $0.5 \text{ cm}^2$  و در راستای محور عمق در فانتوم آب، مدل شد. با کمک این سلول‌ها که به عنوان دتکتور شبیه‌سازی عمل می‌کردند، منحنی‌های توزیع دز حاصل از شبیه‌سازی‌ها به دست آمد و با نتایج تجربی مقایسه شد. این کار، به منظور اطمینان از صحت شبیه‌سازی‌ها انجام گرفت (۲۱).

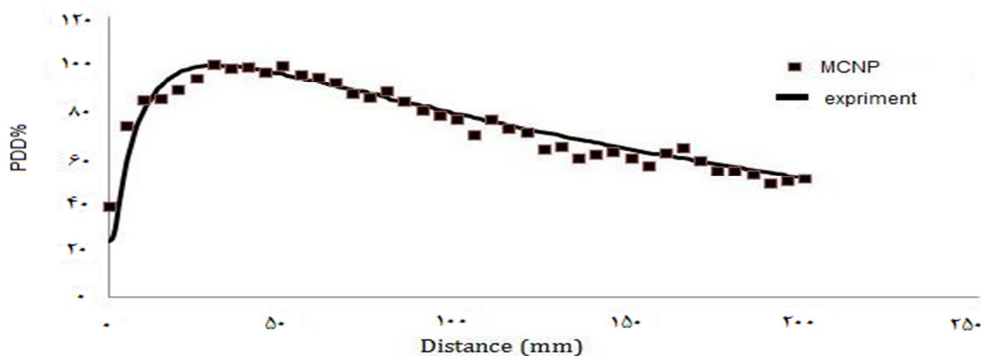
نشان می‌دهد.



شکل ۲. نمای سه بعدی اجزای سر شتاب دهنده‌ی ۲۰

Saturne، شبیه‌سازی شده با کمک کد MCNP (Monte Carlo N-particle code)

شکل ۳ مقایسه‌ی درصد دز عمقی در شبیه‌سازی‌های Monte Carlo و مقایسه‌ی آن با نتایج تجربی را نشان می‌دهد. در این شکل، نمودار دز عمقی برای انرژی ۱۸ MV، میدان  $10 \times 10 \text{ cm}^2$  و  $SSD = 100 \text{ cm}$  در فانتوم آب رسم شده است.



شکل ۳. مقایسه‌ی درصد دز عمقی در شبیه‌سازی‌های Monte Carlo و مقایسه‌ی آن با نتایج تجربی

National council on radiation (NCRP-۳۸) -۳۸) (protection and measurements) استفاده شد (۲۰).

در ابتدا، یک حفاظ از جنس پلکسی گلاس با ضخامت  $0.5 \text{ cm}$  در نزدیکی کولیماتور شبیه‌سازی شد و دز نوترون‌ها در سلول‌های تعریف شده در راستای محور عمق، به دست آمد. در مرحله‌ی بعدی، در حالی که حفاظ در همان موقعیت قبلی قرار داشت، ضخامت حفاظ را بیشتر گردید و عمل شبیه‌سازی با تعداد ۲ میلیارد ذره انجام شد. در محاسبات Monte Carlo، تعداد  $2 \times 10^9$  ذره ترابرد شد. با توجه به تعداد ذره‌ی ترابرد شده، زمان مورد نظر برای میزان‌سازی سر دستگاه، ۳۲۰ ساعت بود. با توجه به تعداد ذره‌ی ترابرد شده، عدم قطعیت شبیه‌سازی در حدود کمتر از ۱ درصد به دست آمد. در حالت دیگر، سعی شد موقعیت حفاظ نسبت به کولیماتور تغییر یابد؛ البته در حالی که ضخامت حفاظ ثابت می‌ماند. همین مراحل تغییر ضخامت و موقعیت برای پلی‌اتیلن و گرافیت تکرار شد.

### یافته‌ها

شکل ۲ نمای سه بعدی از سر شتاب دهنده‌ی ۲۰ Saturne، شبیه‌سازی شده با کمک کد MCNP را



برای محاسبه دز فوتونوترون از عوامل تبدیل شار فوتون بـه دز نـوترون ۲۱-ICRP و ۳۸-NCRP استفاده شد. جدول ۲ بخشی از خروجی‌های برنامه در محاسبه‌ی دز فوتونوترون با استفاده از عوامل ۲۱-ICRP و ۳۸-NCRP را

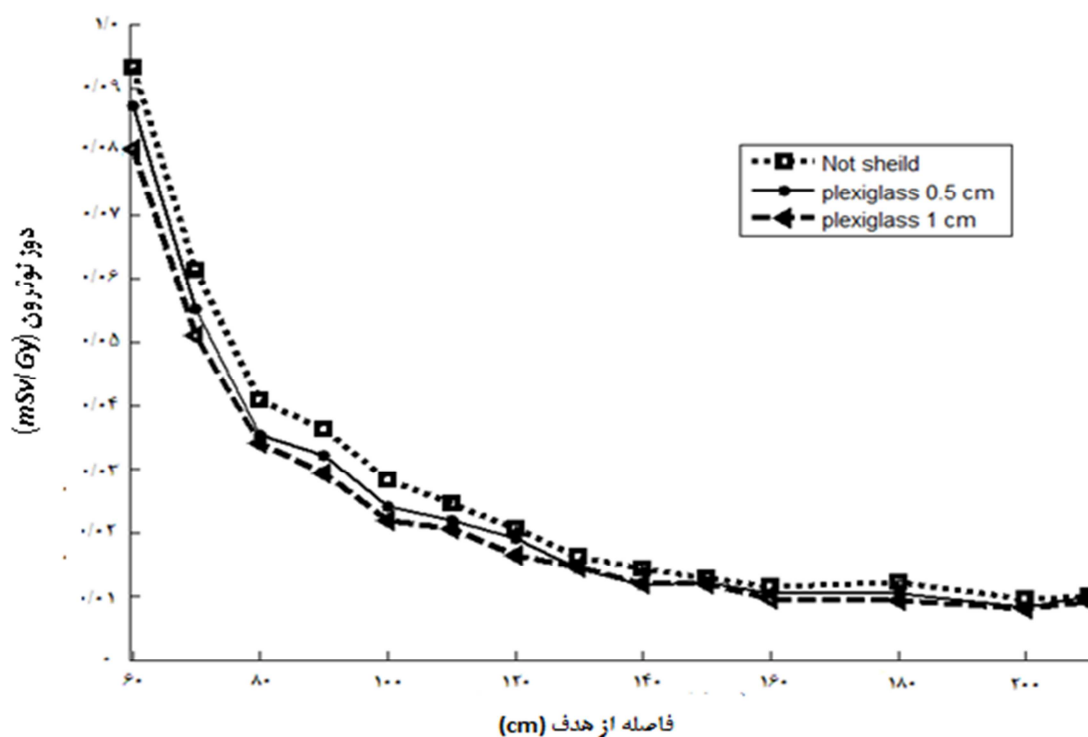
نشان می‌دهد.

شکل‌های ۴، ۵ و ۶، نتایج حاصل از محاسبه‌ی توزیع دز در فواصل مختلف از هدف به ترتیب برای حفاظ‌هایی از جنس پلکسی گلاس، پلی‌اتیلن و گرافیت را نشان می‌دهند.

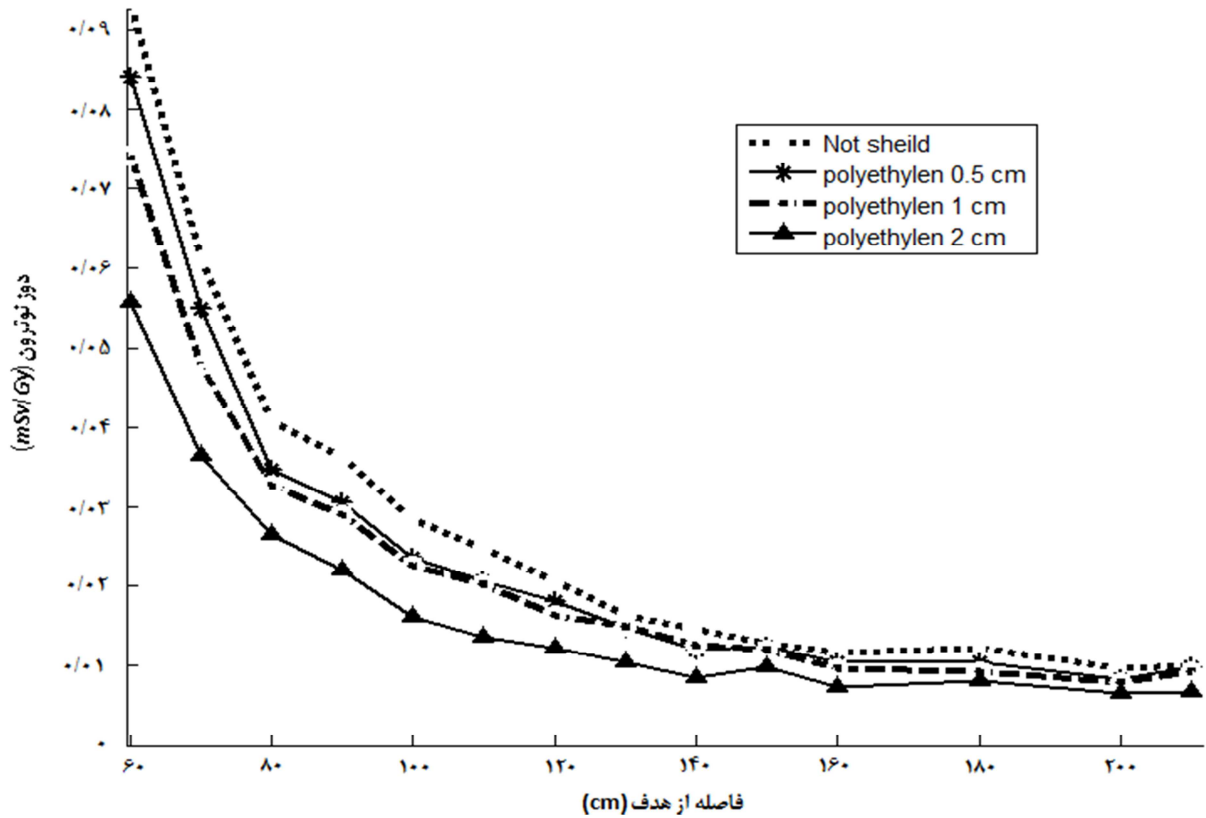
جدول ۲. خروجی‌های برنامه در محاسبه‌ی دز فوتونوترون با استفاده از عوامل ۲۱-ICRP و ۳۸-NCRP.

مقادیر محاسبه شده با	مقادیر محاسبه شده با	سلول	مقادیر محاسبه شده با	مقادیر محاسبه شده با	سلول
عامل	عامل		عامل	عامل	
NCRP-۳۸	ICRP-۲۱		ICRP-۲۱	NCRP-۳۸	
۱۲E-۱/۵۸۳	۱۲E-۱/۴۷۰	۸	۱۲E-۸/۳۹۶	۱۲E-۸/۶۸۳	۱
۱۲E-۱/۴۴۳	۱۲E-۱/۳۰۸	۹	۱۲E-۵/۵۱۰	۱۲E-۵/۷۷۱	۲
۱۲E-۱/۲۶۴	۱۲E-۱/۱۵۵	۱۰	۱۲E-۳/۶۷۶	۱۲E-۳/۸۴۹	۳
۱۲E-۱/۱۵۴	۱۲E-۱/۰۴۷	۱۱	۱۲E-۳/۲۶۹	۱۲E-۳/۴۰۶۴	۴
۱۲E-۱/۱۶۵	۱۲E-۱/۰۹۶	۱۲	۱۲E-۲/۵۵۸	۱۲E-۲/۶۲۵	۵
۱۳E-۹/۲۳۷	۱۳E-۸/۶۲۶	۱۳	۱۲E-۲/۲۲۳	۱۲E-۲/۳۴۸	۶
۱۳E-۹/۸۹۷	۱۳E-۹/۰۲۹	۱۴	۱۲E-۱/۸۶۴	۱۲E-۱/۹۵۵	۷

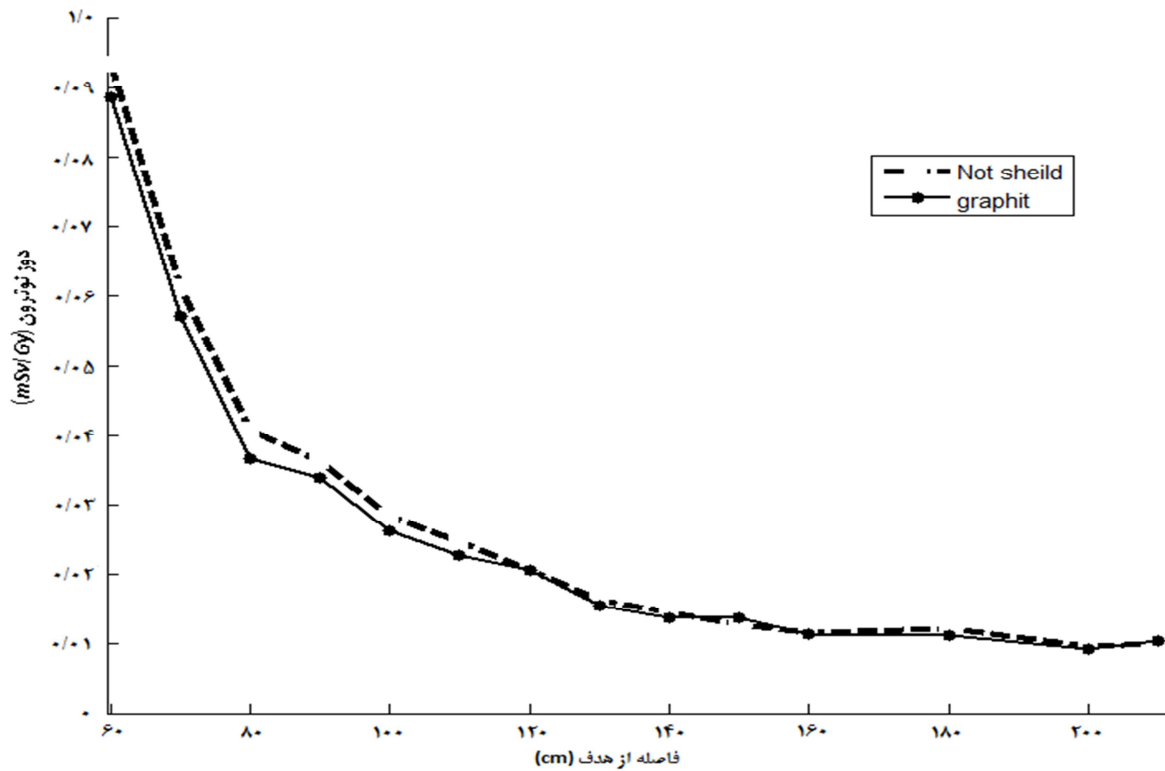
ICRP-۲۱: International commission on radiological protection-۲۱; NCRP-۳۸: National council on radiation protection and measurements ۳۸



شکل ۴. دز نوترون در فواصل متفاوت از هدف در حالت‌های بدون حفاظ و دارای حفاظ از جنس پلکسی گلاس در ابعاد متفاوت



شکل ۵. دز نوترون در فواصل متفاوت از هدف در حالت‌های بدون حفاظ و دارای حفاظ از جنس پلی اتیلن در ابعاد متفاوت



شکل ۶. دز نوترون در فواصل متفاوت از هدف در حالت‌های بدون حفاظ و دارای حفاظ از جنس گرافیت در ابعاد متفاوت

جدول ۳. مقایسه‌ی دز فوتونوترون در فاصله‌ی ۵۰ cm از مرکز میدان (mSv/Gy) برای حفاظ‌هایی از جنس‌های پلکسی گلاس، پلی اتیلن و گرافیت

جنس	گرافیت	پلی اتیلن	پلکسی گلاس	گرافیت	پلی اتیلن	پلکسی گلاس
ضخامت حفاظ (cm)	۰/۵	۱	۰/۵	۰/۵	۱	۰/۵
فاصله‌ی حفاظ (cm)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۵
مقادیر بدون حفاظ (mSv/Gy)	$0.2E-2/84$	$0.2E-2/84$	$0.2E-2/84$	$0.2E-2/84$	$0.2E-2/84$	$0.2E-2/84$
مقادیر با حفاظ (mSv/Gy)	$0.2E-2/62$	$0.2E-1/61$	$0.2E-2/25$	$0.2E-2/35$	$0.2E-2/36$	$0.2E-2/42$
درصد تغییرات	۷/۸	۴۳/۳۰	۲۰/۷۷	۱۷/۲۵	۱۶/۹۰	۲۲/۵۳

نتایج تجربی و شبیه‌سازی وجود داشت (شکل ۳). در واقع، در این مرحله اعتبارسنجی شبیه‌سازی Monte Carlo انجام شد.

در مرحله‌ی بعد، حفاظ‌هایی با ضخامت‌های مختلف و از جنس‌های پلکسی گلاس، پلی اتیلن و گرافیت در کد اعتبارسنجی شده‌ی سر دستگاه مدل شد. در این مرحله، دز فوتونوترون در حالت‌های بدون حفاظ و با حضور حفاظ‌های پیش‌گفته، محاسبه شد.

با توجه به شکل‌های ۴، ۵ و ۶ و نیز جدول ۳، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از حفاظ‌ها، می‌تواند آلودگی‌های فوتونوترونی را تا حدود زیادی کاهش دهد. پلی اتیلن یک ماده‌ی مؤثر در کاهش دز نوترون‌ها محسوب می‌شود. استفاده از این حفاظ با ضخامت ۰/۵ cm، آلودگی‌های نوترونی را به طور متوسط تا حدود ۱۳ درصد کاهش داد. با افزایش ضخامت تا ۲ و ۴ برابر حالت قبل، درصد کاهش به ترتیب به ۲۱ و ۳۹ درصد رسید.

پلکسی گلاس و گرافیت نیز با ضخامت‌های مشابه با پلی اتیلن به عنوان حفاظ به کار گرفته شدند. از بین این مواد، گرافیت کمترین تأثیر را در کاهش دز نوترونی داشت. درصد تغییرات در این مورد به طور

جدول ۳ مقایسه‌ی دز فوتونوترون در فاصله‌ی ۵۰ cm از مرکز میدان (mSv/Gy) برای حفاظ‌هایی از جنس‌های پلکسی گلاس، پلی اتیلن و گرافیت را نشان می‌دهد.

### بحث

در شتاب دهنده‌های خطی پزشکی، از برخورد فوتون‌ها و الکترون‌های پرانرژی با اجزای شتاب دهنده، نوترون تولید می‌شود. تولید این آلودگی‌های نوترونی، باعث دریافت دز اضافی توسط بیمار می‌گردد (۵). پس لازم است طراحی حفاظ‌های مناسب در کاهش دز نوترون‌ها مورد بررسی قرار بگیرد.

در این تحقیق، برای کاهش آلودگی‌های نوترونی شتاب دهنده‌ی پزشکی Saturne ۲۰ در انرژی ۱۸ MV، حفاظ‌هایی با جنس‌ها و ابعاد متفاوت طراحی شد. به عبارت دیگر، تأثیر حفاظ‌های متفاوت از جنس‌های پلکسی گلاس، پلی اتیلن و گرافیت در کاهش دز فوتونوترون‌ها در شتاب دهنده‌ی پزشکی Saturne ۲۰ مورد بررسی قرار گرفت.

در این راستا، ابتدا سر شتاب دهنده شبیه‌سازی شد و یافته‌ها با نتایج تجربی مقایسه گردید. نتایج نشان داد که تطابق خوبی (در حدود ۵ درصد) بین

بالاترین درصد کاهش و گرافیت کمترین میزان کاهش‌ها را به خود اختصاص داد.

### تشکر و قدردانی

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه صنعتی اصفهان و همه افرادی که در به انجام رساندن این طرح همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

متوسط به ۶ درصد رسید. با افزایش ضخامت پلکسی گلاس نیز درصد تغییرات از ۱۲ درصد به ۱۹ درصد رسید؛ اما با تغییر فاصله‌ی بین حفاظ و کولیماتورها، تأثیر چندانی در درصد تغییرات مشاهده نشد.

استفاده از حفاظ نوترونی در نزدیکی کولیماتورهای دستگاه شتاب دهنده، می‌تواند تأثیر به‌سزایی در کاهش دز نوترون‌ها داشته باشد. از بین سه ماده‌ی استفاده شده در این تحقیق، پلی‌اتیلن

### References

1. Khan FM. The physics of radiation therapy. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2009.
2. Nikzad S, Hashemi B. MTT assay instead of the clonogenic assay in measuring the response of cells to ionizing radiation. *J Radiobiol* 2014; 1(1): 3-8.
3. Alavian-Ghavanini A, Bahaodini A, Salimi E. The effect of whole body gamma irradiation on nitric oxide pathway of rat's aorta. *J Radiobiol* 2014; 1(1): 9-13.
4. Mosleh-Shirazi MA, Hadad K, Faghihi R, Baradaran-Ghahfarokhi M, Naghshnezhad Z, Meigooni AS. EchoSeed Model 6733 Iodine-125 brachytherapy source: improved dosimetric characterization using the MCNP5 Monte Carlo code. *Med Phys* 2012; 39(8): 4653-9.
5. Khosravi M, Shahbazi-Gahrouei D, Jabbari K, Nasri-Nasrabadi M, Baradaran-Ghahfarokhi M, Siavashpour Z, et al. Photoneutron contamination from an 18 MV Saturne medical linear accelerator in the treatment room. *Radiat Prot Dosimetry* 2013; 156(3): 356-63.
6. Shokrani P, Baradaran-Ghahfarokhi M, Zadeh MK. A novel approach in electron beam radiation therapy of lips carcinoma: a Monte Carlo study. *Med Phys* 2013; 40(4): 041720.
7. Alfuraih A, Chin MPW, Spyrou NM. Measurements of the photonuclear neutron yield of 15 MV medical linear accelerator. *J Radioanal Nucl Chem* 2008; 278(3): 681-4.
8. Ma A, Awotwi-Pratt J, Alghamdi A, Alfuraih A, Spyrou NM. Monte Carlo study of photoneutron production in the Varian Clinac 2100C linac. *J Radioanal Nucl Chem* 2008; 276(1): 119-23.
9. Rivera JC, Falcao RC, Dealmeida CE. The measurement of photoneutron dose in the vicinity of clinical linear accelerators. *Radiat Prot Dosimetry* 2008; 130(4): 403-9.
10. Shahbazi-Gahrouei D. Radiobiological modeling in radiation oncology. *J Radiobiol* 2014; 1(1): 17-8.
11. Baradaran-Ghahfarokhi M. Normal tissue complication probability modeling of radiation-induced bladder complications. *J Radiobiol* 2014; 1(1): 19-20.
12. National Council on Radiation Protection and Measurements (NCRP). Protection against neutron radiation. Scientific Committee 4 on Heavy Particles. NCRP Report 38. Bethesda, MD: NCRP; 1971.
13. National Council on Radiation Protection and Measurements (NCRP). Structural shielding design and evaluation for medical use of X-rays and gamma rays of energies up to 10 MeV. NCRP Report 49. Bethesda, MD: NCRP; 1976.
14. Facure A, Da Silva AX, Falcao RC. Monte Carlo simulation of scattered and thermal photoneutron fluences inside a radiotherapy room. *Radiat Prot Dosimetry* 2007; 123(1): 56-61.
15. Rivard MJ, Butler WM, DeWerd LA, Huq MS, Ibbott GS, Meigooni AS, et al. Supplement to the 2004 update of the AAPM Task Group No. 43 Report. *Med Phys* 2007; 34(6): 2187-205.
16. Facure A, Falcao RC, Da Silva AX, Crispim VR. Neutron dose rate evaluation for medical linear accelerators. *Radiat Prot Dosimetry* 2004; 111(1): 101-3.
17. Howell RM, Ferenci MS, Hertel NE, Fullerton GD. Investigation of secondary neutron dose for 18 MV dynamic MLC IMRT delivery. *Med Phys* 2005; 32(3): 786-93.
18. Pena J, Franco L, Gomez F, Iglesias A, Pardo J, Pombar M. Monte Carlo study of Siemens PRIMUS photoneutron production. *Phys Med Biol* 2005; 50(24): 5921-33.
19. National Council on Radiation Protection (NCRP). Neutron contamination from medical

- linear accelerators. NCRP Report 79. Bethesda, MD: NCRP; 1984.
20. X-5 Monte Carlo Team. MCNP-a general Monte-Carlo n-particle transport code, Version 5, Volume I: overview and theory. Los Alamos, NM: Los Alamos National Laboratory; 2003.
21. Shahbazi-Gahrouei D, Baradaran-Ghahfarokhi M. Assessment of entrance surface dose and health risk from common radiology examinations in Iran. Radiat Prot Dosimetry 2013; 154(3): 308-13.

## Photoneutron Shielding Design for an 18 MV Saturne 20 Medical Linear Accelerator

Fariba Nadealian-Dastjerdi<sup>1</sup>, Daryoush Shahbazi-Gahrouei PhD<sup>2</sup>,  
Mohammad Hassan Alamatsaz PhD<sup>3</sup>, Mostafa Khosravi MSc,  
Milad Baradaran-Ghahfarokhi MSc<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Photoneutrons are produced by high energy photons and electrons interaction with various high-Z nuclei of the materials in the linac head components. These neutrons cause a patient to receive an extra absorbed dose. In this research, we investigated the effect of shielding with various materials and different thicknesses at different distances from the linac collimator to reduce the neutron dose from an 18 MV Saturne 20 medical linear accelerator.

**Methods:** Monte Carlo codes namely, Monte Carlo N-Particle eXtended (MCNPX) and Monte Carlo N-particle code (MCNP4C) were used for the simulations. A photoneutron shielding was modeled in the Monte Carlo codes using plexiglass, polyethylene and graphite materials. Photoneutron dose was calculated at the presence of these shields and was compared with that which was at the presence of no shields. Neutron flux to dose rate conversion factors of International commission on radiological protection-21 (ICRP-21) and National council on radiation protection and measurements-38 (NCRP-38) were used for the calculations.

**Findings:** There was a good agreement (less than 5% discrepancy) between the simulations and experimental measurements. Using a polyethylene shield, photoneutron dose was decreased by up to 13%, compared to no shield. for plexiglas and graphite, decrease in photoneutron dose was 12% and 6%, respectively.

**Conclusion:** Photoneutron shielding using plexiglass, polyethylene and graphite materials can be effective to reduce the Saturne 20 neutron dose. Among the used materials for neutron shielding, polyethylene showed the maximum reduction and graphite gives the lowest reduction of photoneutron dose.

**Keywords:** Shielding design, Photoneutron dose, Saturne 20 medical linear accelerator

**Citation:** Nadealian-Dastjerdi F, Shahbazi-Gahrouei D, Alamatsaz MH, Baradaran-Ghahfarokhi M. **Photoneutron Shielding Design for an 18 MV Saturne 20 medical linear accelerator.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(300): 1433-43

1- MSc Student, Department of Physics, School of Physics, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

2- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Department of Physics, School of Physics, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

4- Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan AND Department of Basic Sciences, Islamic Azad University, Noor Abad Mamasani Branch, Noor Abad Mamasani, Iran

5- PhD student, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Daryoush Shahbazi-Gahrouei PhD, Email: shahbazi@med.mui.ac.ir

## مطالعه‌ی اثر پلیمر پلی‌هما به عنوان بستر کشت سلولی بر روی رشد و حفظ ماهیت سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم

فاطمه ناظم رعایا<sup>۱</sup>، دکتر زهرا سهیلا سهیلی<sup>۲</sup>، راضیه حیدری<sup>۱</sup>، دکتر عبدالخالق دیزجی<sup>۲</sup>، دکتر حمید احمدیه<sup>۳</sup>، دکتر شهرام سمیعی<sup>۴</sup>، ابوزر باقری<sup>۱</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه، نقشی اساسی در عملکرد طبیعی شبکیه دارند. ژن تیروزیناز با ساخت ملانین موجب پیگمانته شدن این سلول‌ها می‌شود. پلیمر پلی‌هما (Polymer Poly-HEMA یا ۲-Hydroxyethyl methacrylate) جزء اصلی ساختار لنزهای تماسی است. در مطالعه‌ی حاضر، اثر پلیمر پلی‌هما به عنوان بستر کشت سلولی بر روی رشد و حفظ ماهیت سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم انسان بررسی شد.

**روش‌ها:** سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه، در پاساژ ۵-۲ بر روی پلیمر پلی‌هما (۱۲ mg/ml) تحت محیط FBS (Fetal bovine serum) ۱۰ درصد + DMEM/F۱۲ (Dulbecco's modified Eagle's medium) کشت شدند. مورفولوژی، زنده بودن سلول‌ها، تکثیر و مرگ سلولی در یک دوره‌ی زمانی مشخص بررسی شد. بیان نشانگر تیروزیناز در این سلول‌ها، توسط تکنیک Real time PCR (Real time polymerase chain reaction) بررسی شد.

**یافته‌ها:** سلول‌های کشت شده بر روی پلیمر، تعداد زیادی کلونی تشکیل می‌دهند که توانایی بازایی در محیط پلی‌استیرین را دارند. سلول‌های زنده بر روی سطح پلیمر و پلی‌استیرین مشابه هستند و مرگ سلولی بر روی پلیمر و پلی‌استیرین قابل چشم‌پوشی است، اما تکثیر سلولی در نمونه‌های پلیمر خیلی کمتر از پلی‌استیرین است. بیان ۴۳۴/۶۵ برابری ژن تیروزیناز در سلول‌های کشت شده بر روی پلیمر نسبت به پلی‌استیرین دیده شد.

**نتیجه‌گیری:** پلی‌هما یک پلیمر آب‌گریز است. وقتی سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه، بر روی پلیمر کشت می‌شوند، قادر به چسبیدن به سطح پلیت سلولی نیستند و کلونی‌های بزرگ تشکیل می‌دهند. پلیمر، القاکننده‌ی مرگ سلولی در این سلول‌ها نیست و تکثیر نیز به علت ممانعت تماسی سلول‌ها و یا عدم نفوذ Anti-Brdu به داخل کلونی‌های متراکم، کمتر از گروه شاهد است. بیان بالای RPE۶۵ Cytokeratin, Tyrosinase نشان می‌دهد که پلیمر با حفظ ماهیت این سلول‌ها به ایجاد بیشتر رنگدانه‌ی ملانین کمک می‌کند.

**واژگان کلیدی:** سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم، پلیمر پلی‌هما، تیروزیناز

**ارجاع:** ناظم رعایا فاطمه، سهیلا سهیلی زهرا، حیدری راضیه، دیزجی عبدالخالق، احمدیه حمید، سمیعی شهرام، باقری ابوزر. مطالعه‌ی اثر پلیمر پلی‌هما به عنوان بستر کشت سلولی بر روی رشد و حفظ ماهیت سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم. مجله دانشکده

پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۰): ۱۴۶۰-۱۴۴۴

۱- کارشناس ارشد، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

۲- استادیار، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات چشم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- استادیار، سازمان انتقال خون، تهران، ایران

## مقدمه

سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم، سلول‌های چند وجهی قطبی هستند که از میلیون‌ها پیگمان تیره تشکیل شده‌اند. این سلول‌های قطبی، مانند سایر سلول‌های اپیتلیالی و همه‌ی اجزای سلولی، در امتداد یک محور رأسی پایه‌ای در طول سلول جایابی کرده‌اند. اتصالات محکم که لازمه‌ی تشکیل سد خونی شبکیه است، انتشار قطبی کانال‌های یونی و گیرنده‌های غشایی را در سطوح رأسی پایه‌ای کناری سلول رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم تضمین می‌کند (۱).

سلول‌های رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم، سازنده‌ی فوتو پیگمان‌ها هستند و در بازسازی پیگمان‌ها دخالت دارند. حضور گرانول‌های ملانین در ناحیه‌ی رأسی سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم (به نام ملانوزوم) این سلول‌ها را رنگدانه‌ای می‌کند.

لیپوفوشین گرانول‌های اتوفلورسنت زرد مایل به قهوه‌ای است که مخلوطی از لیپید و ترکیبات فلورسنت است که در طی متابولیسم قطعات خارجی گیرنده‌های نوری به عنوان محصول جانبی غیر قابل تجزیه، تولید می‌شود. مهم‌ترین ترکیبات فلورسنت آن (A2E N-retinylidene-N-retinylethanolamine) از مشتقات ویتامین A است که تجمع آن آپوپتوز را در سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم القا می‌کند. تراکم لیپوفوشین یکی از اولین تغییرات وابسته به سن است و به نظر می‌رسد یک محصول متابولیک دفعی حاصل از قطعات خارجی گیرنده‌ی نوری سلول‌های استوانه‌ای است (۲-۵).

بسیاری از فعالیت‌های سنتز ملانین و بلوغ، به احتمال زیاد تا سن دو سالگی کامل می‌شود و تولید مدام آن در طول زندگی یک مسأله‌ی بحث برانگیز

است. با این حال، به نظر می‌رسد که تخریب اکسیژن فعال در لیزوزوم‌ها با سنتز ملانین در ارتباط است. به هر حال، محتوای ملانین سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم، با افزایش سن کاهش می‌یابد که خود ناشی از تخریب ناشی از اکسیداسیون می‌باشد؛ یک سری تغییرات وابسته به سن، در ملانین رخ می‌دهد که منجر به کاهش فعالیت آن می‌شود (۶).

ملانین در توسعه و تکامل شبکیه‌ی عصبی و فعالیت‌هایی مانند تولید رادیکال آزاد، پیوند شدن به بسیاری از مواد شیمیایی و داروها، به دام انداختن رادیکال آزاد و ممانعت از فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۶-۷)، جذب طول موج‌های مختلف نور و ممانعت از بازتاب نور نقش دارد.

این سلول‌ها گرانول نور را جذب می‌کنند و دید را بهبود می‌بخشند. همچنین در تبدیل Trans به Cis ۱۱ (در سیکل ویتامین A) دخالت دارند. گیرنده‌های نوری قادر به ایزومریزاسیون کردن مجدد رتینال تمام ترانس (تشکیل شده پس از جذب فوتون) به رتینال Cis ۱۱ هستند. جهت تحریک گیرنده‌های نوری، رتینال وارد سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم می‌شود و به Cis ۱۱ رتینال ایزومریزه می‌گردد و در نهایت، به گیرنده‌ی نوری باز می‌گردد. این روند چرخه‌ی رتینال نام دارد (۲).

### نشانه‌گرهای سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی

#### چشم

سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم، سلول‌های اپیتلیالی هستند که بیان نشانگر اختصاصی سلول‌های اپیتلیالی (سایتوکراتین ۸/۱۸) و نشانگر مخصوص سلول‌های رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم (RPE۶۵) برای شناسایی این سلول‌ها به کار می‌رود.



زیادی آب (حدود ۴۵ درصد) را دارد. آب فضای بین مولکولی، شبکه‌ی پلیمر را پر می‌کند. توانایی هیدروژل در جذب آب به عنوان سود این ماده در لانه‌گزینی بافت نرم است (۱۱). این هیدروژل منفذدار، می‌تواند به عنوان ماده‌ی زیستی اسفنج مانند در پیوند سنتتیک در تعمیر غضروف استخوان و دیگر بافت‌ها به کار رود (۱۳-۱۲).

این هیدروژل در شکل غلیظ در ساختار لنز نرم به کار می‌رود. به نقل از Seidel و Malmonge این پلیمر اولین بار توسط Wichterle به عنوان محتوای لنز مطالعه شد. حل این پلیمر در آب، اجازه‌ی تشکیل ساختار منفذدار را می‌دهد که میزان منافذ آن بستگی به میزان رقت دارد (۱۴، ۱۲).

پلیمر پلی‌هما در ساختار لنز به صورت Copolymer به کار می‌رود که ژل را نازک‌تر و جذب آب را بیشتر می‌کند. در نتیجه، این پلیمر به علت Copolymer شدن در ساختار لنز، خاصیت آب‌دوستی پیدا می‌کند (۱۵، ۱۰). این Copolymer زمینه‌ی ساخت اپی‌نفرین و ملانین را فراهم می‌کند و در نتیجه، جاذب نور مرئی و ماورای بنفش است. ارزش پلی‌هما به علت ماده‌ی سنتزی لنز تماسی و لنز کریستالین مصنوعی است که باعث محافظت چشم افرادی است که لنز خود را از دست داده‌اند. این پلیمر به دلیل سازگاری زیستی، غیر سمی بودن و کاربرد آن در ساختار لنز، مورد توجه محققین قرار گرفته است (شکل ۱) (۱۶).

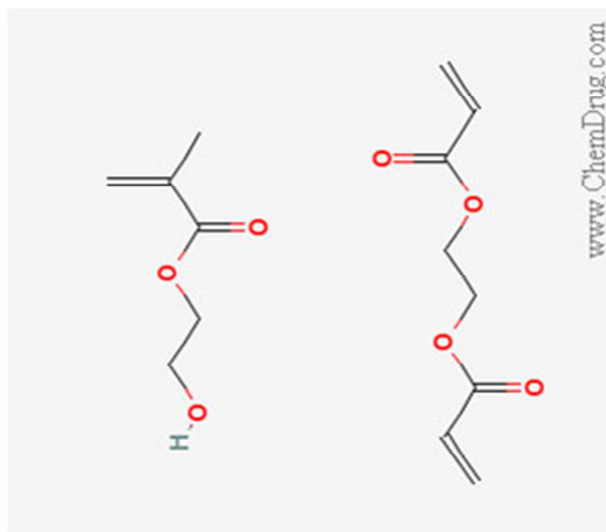
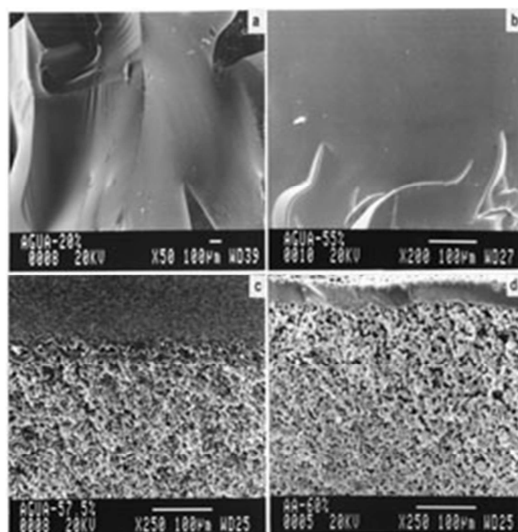
در این مطالعه، سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم بر روی پلیمر پلی‌هما (به عنوان داربست سلولی) کشت داده شدند و FBS (Fetal Bovine Serum) به عنوان عامل رشد در

همچنین تیروزیناز به عنوان مونوفنول مونواکسیژناز شناخته شده است. این آنزیم با اکسیداسیون ترکیبات فنول‌دار (تیروزین و دوپامین) موجب ایجاد رنگدانه می‌گردد و در حیوانات و گیاهان با عمل اکسیداسیون خود، موجب تولید ملانین و دیگر پیگمان‌ها می‌شود که ایجاد کننده‌ی رنگ تیره در آن‌ها است (۷). در انسان این آنزیم توسط ژن TYR کد می‌شود. این ژن بر روی کروموزم ۱۱ قرار گرفته است و جهش در این ژن، باعث ایجاد آلبنیسم نوع ۱ می‌شود (۸). این آنزیم از نظر خصوصیت ساختاری توزیع در بافت و مکان سلولی در موجودات مختلف، متفاوت است. در انسان این آنزیم یک پروتئین درون غشایی است که به سمت ملانوزوم‌ها قرار می‌گیرد و سایت فعال آن در ملانوزوم است و قسمت کوچکی از پروتئین در سیتوپلاسم می‌آید (۹).

### پلیمر پلی‌هما

پلیمر پلی‌هما (Polymer Poly-HEMA یا ۲-Hydroxyethyl methacrylate)، ماده‌ی غیر سمی استریل است که از واحدهای مونومری ۲-هیدروکسی اتیل متاکریلیت تشکیل شده است. پلیمر پلی‌هما دارای ساختار آب‌گریز است، در نتیجه سلول‌های آب‌دوست قادر به چسبیدن به سطح پلیمر نیستند و به صورت غیر چسبنده و معلق روی سطح این پلیمر قرار می‌گیرند. در واقع سلول‌ها در فضای سه بعدی محیط و پلیمر قرار می‌گیرند (۱۰).

شکل ساختاری این ماده، خصوصیت سطحی نشت‌ناپذیر واحدی به آن می‌دهد که مشابه به بافت زنده می‌شود. طبیعت ساختاری این هیدروژل، آب است که باعث خارج کردن واکنش‌های نامطلوب در حین تولید آن می‌شود. این پلیمر توانایی جذب مقدار



شکل ۱. نمای فیزیکی پلیمر پلی‌هما

خشک شود. به منظور استریل کردن، ظرف حاوی پلیمر به مدت ۳۰ دقیقه زیر نور ماورای بنفش قرار گرفت. در موقع استفاده از این پلیمر، سطح آن دو بار با PBS (Phosphate buffered saline) و یک بار با محیط DMEM/F۱۲ شستشو داده شد. بعد از این مراحل، امکان کشت سلول‌ها بر روی پلیمر فراهم شد.

### جداسازی و کشت سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار

#### شبکیه‌ی چشم

کره‌های چشم جدا شده از نوزادان فوت شده‌ی زیر یک سالی که حداکثر ۲۴ ساعت از تاریخ فوتشان گذشته بود، تحت شرایط استریل از بانک چشم جمهوری اسلامی ایران به آزمایشگاه بیوشیمی پژوهشکده‌ی ملی مهندسی ژنتیک و زیست فن‌آوری منتقل گردید.

پس از جداسازی بافت‌های چربی، لایه‌ی قهوه‌ای رنگ پیگمانته جدا شد و به تکه‌هایی در ابعاد کوچک قطعه قطعه گردید و به ۳-۵ ml محلول آنزیمی دیسپاز منتقل گردید (۱ ml از این آنزیم ۱/۱ واحد فعالیت دارد؛ برای تهیه‌ی ۱ ml آنزیم ۱ mg از پودر

اختیار آن‌ها قرار داده شد. سپس اثر پلیمر پلی‌هما به عنوان بستر کشت سلولی بر روی رشد سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه و نیز ساخت ملانین در نتیجه‌ی بیان ژن تیروزیناز در سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی کشت شده بر روی پلیمر پلی‌هما بررسی گردید.

### روش‌ها

#### پلیمر پلی‌هما

محلول ۱۰x: ۱۲۰ mg پودر پلی‌هما وزن شد و در ۱ ml اتانول ۹۵ درصد حل شد تا غلظت ۱۲۰ mg/ml تهیه شود. سپس محلول در دستگاه Shaker در دمای ۶۵ °C به مدت ۸ ساعت و دور ۱۹۰ rpm قرار گرفت تا به طور کامل حل شود. حذف ناخالصی‌ها با سانتریفیوژ ۲۰ دقیقه‌ای در دور ۲۰۰۰ g انجام گردید. با توجه به حجم ظرف مورد نظر، ۱۲ mg/ml از محلول ۱x برداشته و در ظرف مورد نظر ریخته شد. ظرف مورد نظر در زیر هود روشن به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفت تا پلیمر کامل

تعداد  $1 \times 10^4$  سلول رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم در پاساژ ۴، در هر حفره از پلیت ۲۴ خانه‌ی پوشیده شده با پلی‌هما همراه با محیط DMEM/F1۲ غنی شده با FBS ۱۰ درصد کشت داده شدند. سلول‌های کشت داده شده به مدت ۴۸ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  قرار گرفتند. پس از گذشت ۴۸ ساعت از کشت اولیه، به هر خانه  $50 \mu\text{l}$  از ماده‌ی MTT اضافه شد و پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  قرار گرفت. سپس  $500 \mu\text{l}$  DMSO (Dimethyl sulfoxide) به هر خانه اضافه گردید و بعد از ۲-۱ ساعت انکوباسیون در  $37^\circ\text{C}$  با سرنگ انسولین پیتاژ شد. جذب نمونه‌ها در دو طول موج  $580 \text{ nm}$  خوانده شد.

#### الیزای تکثیر سلولی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم (Cell proliferation ELISA assay)

به منظور سنجش اثر پلیمر پلی‌هما بر رشد و تکثیر سلول‌های رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم، آزمون الیزا (ELISA یا Enzyme-linked immunosorbent assay) جهت تکثیر سلولی بر روی این سلول‌ها انجام شد. سلول‌های رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم بر روی چاهک پوشیده شده با پلیمر پلی‌هما تحت تأثیر محیط DMEM/F1۲ غنی شده با FBS ۱۰ درصد پاساژ ۴ کشت شدند و میزان تکثیر سلولی آن‌ها در مقایسه با تکثیر این سلول‌ها در محیط پلی‌استیرین مطابق با دستورالعمل کیت الیزا (شرکت Roche) مورد بررسی قرار گرفت.

#### الیزای تکثیر سلولی بعد از بازیابی کلونی‌ها از روی پلیمر

به منظور بررسی تکثیر سلولی بعد از بازیابی کلونی‌ها از روی پلیمر، ابتدا  $1 \times 10^4$  سلول همراه با

در  $1 \text{ ml}$  محیط کشت DMEM/F1۲ حل شد). پس از گذشت زمان معین، فالكون حاوی محلول دیسپاز و قطعات بافتی به مدت ۵ دقیقه در  $300 \text{ g}$  و دمای  $4^\circ\text{C}$  سانتریفیوژ (Eppendorf centrifuge) شد. سپس مایع رویی حاوی آنزیم، تخلیه شد و رسوب حاوی سلول‌ها و تکه‌های بافتی در محیط DMEM/F1۲ محلول شدند و به فلاسک  $25 \text{ cm}^2$  حاوی  $1 \text{ ml}$  FBS انتقال یافتند. حجم محیط درون فلاسک با DMEM/F1۲ حاوی آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین به  $5 \text{ ml}$  رسانده شد تا محیط کشت ۲۰ درصد FBS فراهم گردد.

#### کشت سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم بر روی سطح پلیمر پلی‌هما

بعد از تهیه‌ی پلیمر در ظروف کشت ۲۴ خانه‌ای و شستشوی سطح آن با PBS و محیط DMEM/F1۲،  $10^5 \times 1$  سلول در هر خانه، تحت شرایط FBS ۱۰ درصد + DMEM/F1۲ کشت شد.

#### بازیابی سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم از روی پلیمر پلی‌هما

به منظور بررسی وضعیت سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم، بعد از کشت ۴۸ ساعته بر روی پلیمر پلی‌هما، سلول‌های معلق در محیط کشت توسط سمپلر از روی پلیمر جمع‌آوری شدند و بعد از سانتریفیوژ ۵ دقیقه‌ای در دور  $1500 \text{ rpm}$ ، سلول‌های رسوب داده شده بر روی سطح پلی‌استیرین (FBS ۱۰ درصد + DMEM/F1۲) کشت شدند.

#### MTT ۵- (۳- (۴,۵-Dimethylthiazol-۲-yl)-۲- diphenyltetrazolium bromide)

این آزمایش نشان دهنده‌ی زنده بودن سلول‌ها است.

(بدون آنتی‌بادی اولیه جهت بررسی اتصال اختصاصی آنتی‌بادی ثانویه به آنتی‌بادی اولیه و بدون آنتی‌بادی اولیه و ثانویه جهت بررسی اتوفلورسانس سلول‌ها و زمینه) در نظر گرفته شدند.

ابتدا ظرف ۲۴ خانه، که هر خانه‌ی آن با پلیمر پلی‌هما پوشش‌دار شده بود، با اشعه‌ی ماورای بنفش استریل شد و  $10^5 \times 1$  سلول همراه با محیط مورد نظر، به مدت ۴۸ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  قرار گرفت. سپس در ظرف ۲۴ خانه‌ی دیگری، قطعه‌ی لامل استریل قرار گرفت و با FBS حداقل به مدت ۱ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  پوشش‌دار شد. سپس در هر خانه، ۱ ml محیط FBS ۱۰ درصد حاوی سلول رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم بازیابی شده از پاساژ مورد نظر کشت شد. این ظرف به مدت ۵ روز در دمای  $37^\circ\text{C}$  قرار گرفت و در روز پنجم سایر مراحل ایمونوسیتوشیمی مطابق دستورالعمل ارائه شده توسط شرکت Santa Cruz انجام شد.

به منظور بررسی گروه شاهد، همین شرایط برای سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم بر روی پلی‌استیرین نیز فراهم گردید (رنگ‌آمیزی پروتئین با استفاده از آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه و رنگ‌آمیزی هسته توسط DAPI یا Diamidino-۲-phenylindole -۴,۶- انجام شد) (جدول ۱).

### استخراج RNA

به منظور بررسی بیان ژن Tyrosinase در سلول‌های رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم کشت شده بر روی پلیمر پلی‌هما، استخراج RNA از سلول‌های کشت شده (از پاساژ ۵-۲) بر روی پلیمر پلی‌هما و پلی‌استیرین (به عنوان شاهد) توسط کیت Tripure انجام شد (از GAPDH یا

محیط‌های پیش‌گفته در خانه‌های پوشیده شده با پلیمر به مدت ۴۸ ساعت کشت داده شدند. سپس سلول‌ها بازیابی و بر روی پلی‌استیرین کشت داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت مراحل الیزای تکثیر سلولی انجام شد.

### الیزای مرگ سلولی ( RPE cell death detection ) (ELISA assay)

تعداد  $10^4 \times 1$  سلول رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم در پاساژ ۴، بر روی چاهک پوشیده شده با پلیمر پلی‌هما تحت تأثیر محیط DMEM/F۱۲ غنی شده با FBS ۱۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  کشت شدند و میزان مرگ سلولی آن‌ها در مقایسه با مرگ سلولی این سلول‌ها در محیط پلی‌استیرین پس از گذشت ۴۸ ساعت از کشت اولیه، توسط کیت الیزا مورد بررسی قرار گرفت.

### ایمونوسیتوشیمی ( ICC ) (Immunocytochemistry)

سلول‌های رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم در پاساژهای ۳ و ۴ جهت بررسی بیان و وجود نشانگرهای RPE۶۵، سایتوکراتین در ظرف‌های ۲۴ خانه در محیط‌های حاوی FBS ۱۰ درصد کشت شدند و مورد بررسی قرار گرفتند. RPE۶۵ در اپیتلیال رنگدانه‌ای شبکیه یافت می‌شود و به صورت گرانول در سیتوپلاسم این سلول‌ها ذخیره می‌شود. سایتوکراتین در تمام سلول‌های پوششی ساده (تک لایه و قطبی) مثل سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم وجود دارد و جزء خانواده‌ی فیلامنت‌های حد واسط است. این شبکه‌ی کراتینی، داخل سیتوپلاسم بافت‌های اپیتلیالی وجود دارد.

چندین حفره از ظرف ۲۴ خانه، به عنوان شاهد

هر واکنش، مخلوط نهایی تهیه شد (جدول ۲). پس از تهیه‌ی مخلوط نهایی و فیوژ کردن آن، مخلوط در حجم‌های ۹  $\mu$ l در ویال‌های ۰/۲۵ ml توزیع و به هر یک ۱  $\mu$ l از cDNA (Complementary DNA) موجود اضافه شد. پس از فیوژ کل حجم ۱۰  $\mu$ l در دستگاه Rotorgen قرار گرفت و طبق برنامه‌ی جدول ۳ PCR انجام شد.

### یافته‌ها

#### تشکیل کلونی‌های سلولی

با توجه به این که پلیمر پلی‌هما آب‌گریز است، سلول‌های چسبنده‌ی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم قادر به چسبیدن بر روی آن نیستند. در نتیجه، سلول‌ها به یکدیگر متصل می‌شوند و کلونی تشکیل می‌دهند. از همان ساعت اولیه (دو ساعت اول پس از کشت) سلول‌ها به هم متصل شدند و کلونی‌های کوچک تشکیل دادند. با گذشت زمان کلونی‌های کوچک به یکدیگر متصل شدند و کلونی‌های بزرگ‌تر را تشکیل دادند؛ به طوری که با چشم غیر مسلح هم قابل دیدن بود (شکل ۲).

Glyceraldehyde ۳-phosphate dehydrogenase به عنوان House keeping gene استفاده شد).

#### طراحی پرایمر

به منظور بررسی بیان ژن تیروزیناز از پرایمر تیروزیناز شرکت کیاژن با کد شماره‌ی QT۰۰۰۷۳۶۴۰ استفاده شد. همچنین ژن GAPDH با سری پرایمری

ACAGTCAGCCGCATCTTC  
CTCCGACCTTACCTTCC

با طول ۷۷ bp و دمای اتصال  $62^{\circ}\text{C}$  به عنوان House keeping به کار گرفته شد.

#### سنتز cDNA

سنتز cDNA با استفاده از کیت شرکت کیاژن انجام شد و پس از تنظیم مراحل برای هر یک از پرایمرها با Real time PCR (Real time polymerase chain reaction) ادامه یافت.

#### Real time PCR

سنجش کمی بیان ژن‌های مورد نظر توسط Real time PCR انجام شد. قبل از شروع کار، تمام مواد لازم به منظور استریل به مدت ۲۰ دقیقه در معرض نور ماورای بنفش قرار گرفت. سپس به ازای

جدول ۱. آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه RPE۶۵ و Cytokeratin۸/۱۸

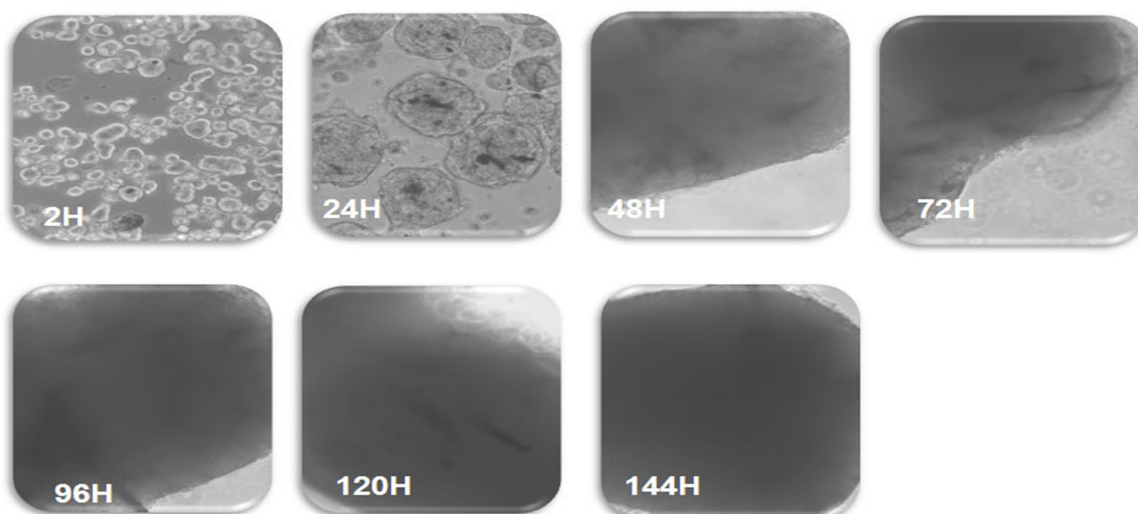
اسم پروتئین	آنتی‌بادی اولیه	آنتی‌بادی ثانویه
RPE۶۵	Rabbit polyclonal antibody	(Santa Cruz USA) Goat anti-rabbit IgG-FITC
Cytokeratin۸/۱۸	Mouse monoclonal antibody	(Santa Cruz USA) Goat anti-mouse IgG-FITC

جدول ۲. دستور تهیه‌ی مواد نهایی Real time PCR (Real time polymerase chain reaction)

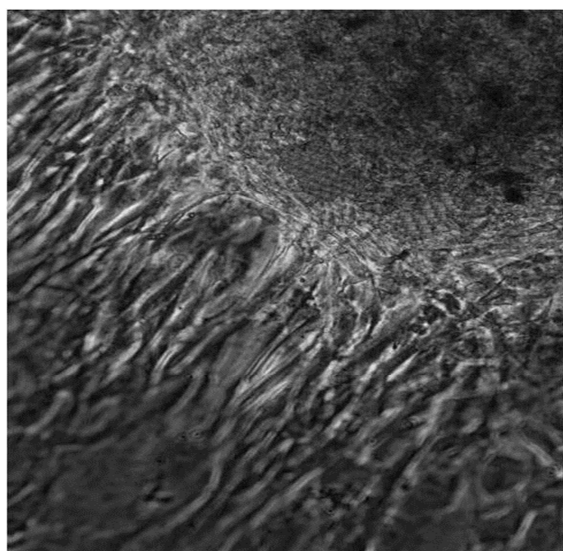
اجزای سازنده	مقدار	مقدار نهایی (N tube)
Master mix	۲ $\mu$ l	۲ N
Forward primer	۱ $\mu$ l	۱ N
Reverse prime	۱ $\mu$ l	۱ N
RNase free water	۵ $\mu$ l	۵ N
Total volume	۹ $\mu$ l	۹ N

جدول ۳. پروفایل دمایی Real time PCR (Real time polymerase chain reaction) برای ژن‌های Tyrosinase و GAPDH (Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase)

GAPDH	Tyrosinase
توقف (ذوب): ۹۵C، ۱۰ دقیقه سیکل (۴۰ تکرار)	مرحله ۱: ۹۵C، ۱۰ ثانیه مرحله ۲: ۵۲C، ۲۵ ثانیه مرحله ۳: ۷۲C، ۲۵ ثانیه
ذوب (۷۲-۹۵) توقف ۵ ثانیه تا مرحله بعد	



شکل ۲. بررسی مورفولوژی سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه بر روی پلیمر پلی‌هما در طی ۱۴۴ ساعت (۱۰۰x)

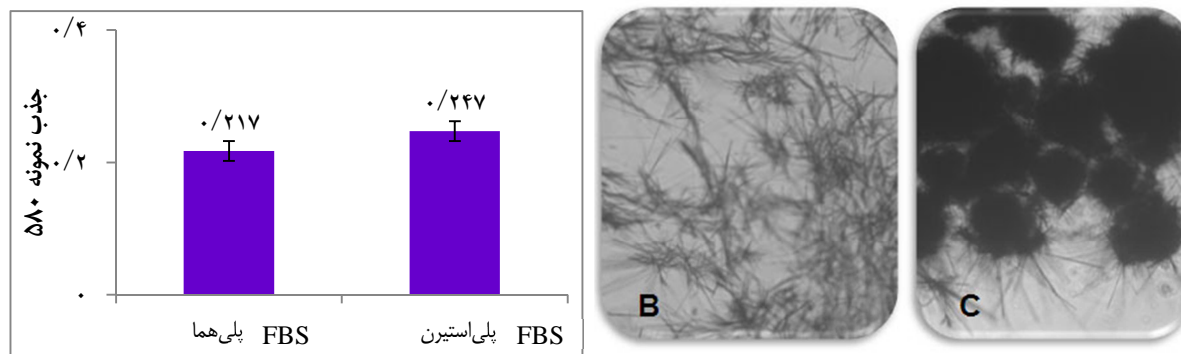


شکل ۳. کشت کلونی‌های سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه بر روی پلی‌استرین (۲۰۰x)

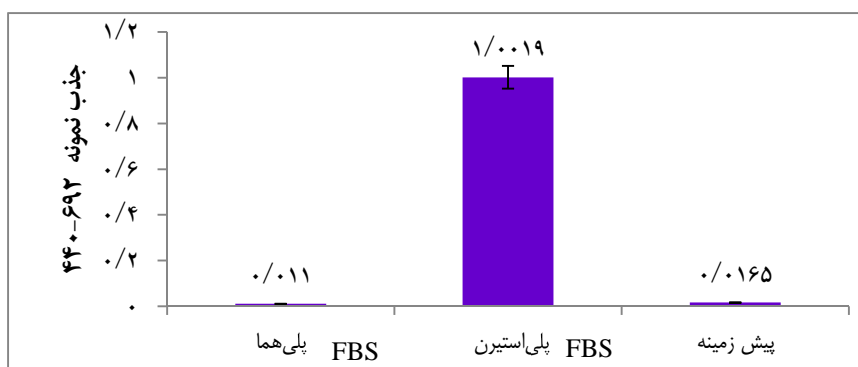
بازیابی سلول‌های کشت شده بر روی پلیمر نشان داد که سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم کشت شده بر روی پلیمر، زنده هستند و توانایی بازگشت به حالت اولیه و تشکیل استتاله‌های بلند را دارند (شکل ۳).

#### MTT، تکثیر و مرگ سلولی

نتایج آزمایش MTT نشان داد که سلول‌های کشت شده بر روی پلیمر زنده هستند و مشابه با سلول‌های کشت شده بر سطح پلی‌استرین، قابلیت جذب MTT را دارند و اختلاف معنی‌داری بین این دو وجود ندارد (شکل ۴).



شکل ۴. بررسی نتایج آزمایش MTT در سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکه‌ای، A: نمودار الیزای حاصل از بررسی سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکه‌ای زنده بعد از ۴۸ ساعت کشت بر روی پلی‌استیرن و پلیمر پلی‌هما تحت محیط کشت DMEM/F۱۲ (Dulbecco's modified Eagle's medium) حاوی FBS (Fetal bovine serum) سرم ۱۰ درصد (این آزمایش ۶ بار تکرار گردید و اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد) ( $P > 0.050$ )



شکل ۵. نمودار الیزا حاصل از بررسی تکثیر سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکه‌ای (پاساژ ۴) بعد از ۴۸ ساعت کشت بر روی پلی‌استیرن و پلیمر پلی‌هما تحت محیط کشت DMEM/F۱۲ (Dulbecco's modified Eagle's medium) حاوی FBS (Fetal bovine serum) سرم ۱۰ درصد (این آزمایش ۳ بار تکرار گردید و اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد) ( $P < 0.050$ )

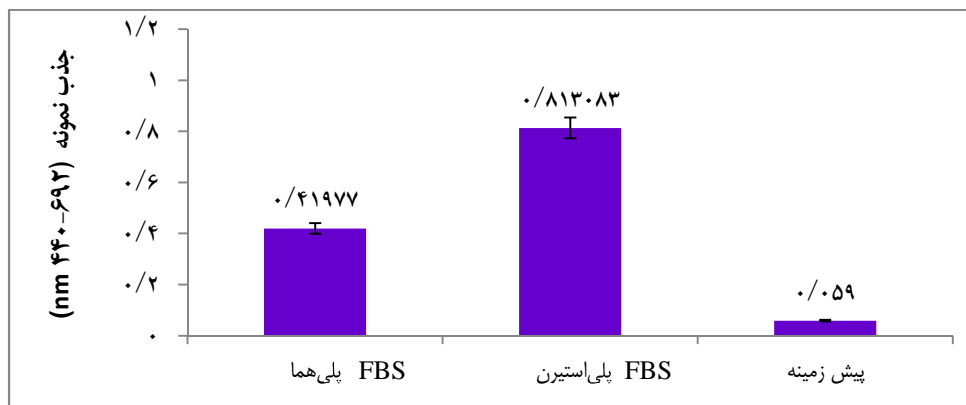
نتایج حاصل از الیزای مرگ سلولی نشان داد که پلیمر، عامل القای مرگ سلولی نبوده است (شکل ۷) و مرگ قابل ملاحظه‌ای در نمونه‌های کشت شده بر روی پلیمر پلی‌هما و سطح پلی‌استیرن مشاهده نشد.

#### ایمونوسیتوشیمی (ICC)

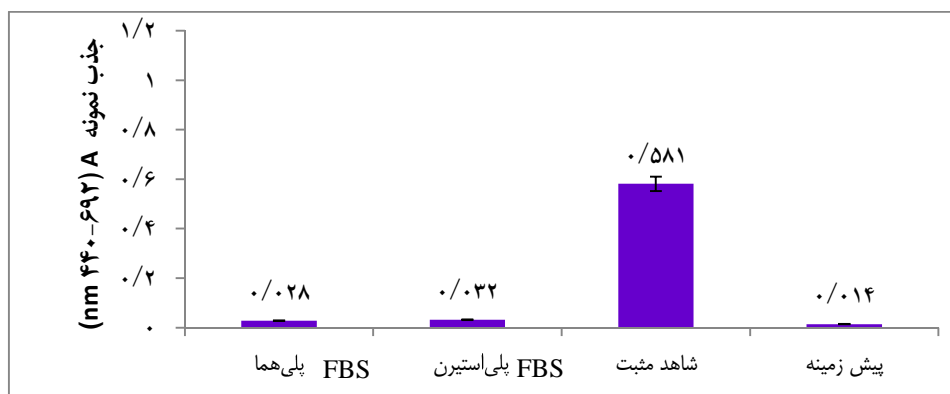
آزمایش ICC بیان پروتئین‌های سایتوکراتین و RPE۶۵ را در نمونه‌های کشت شده بر روی پلی‌هما نشان داد (شکل‌های ۸ و ۹).

نتایج تکثیر نشان داد که تکثیر سلولی در نمونه‌های کشت شده بر روی پلیمر کاهش یافته است و اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های پلی‌استیرن مشاهده شد (شکل ۵).

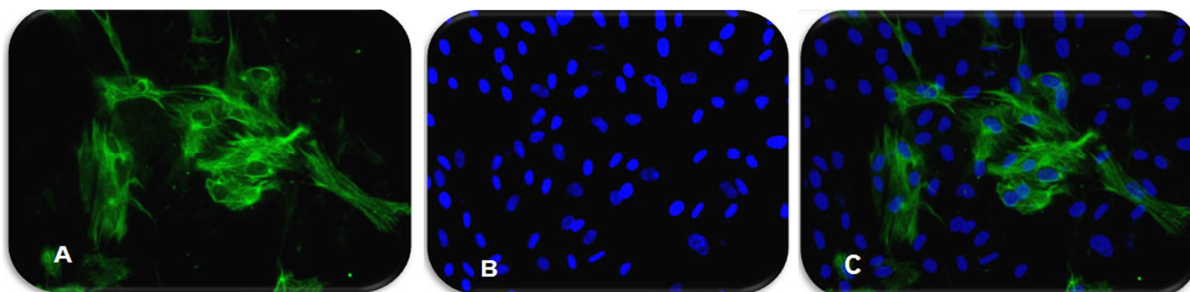
سلول‌ها بعد از کشت ۴۸ ساعته بر روی پلیمر بازیافت شدند. نتایج الیزا بعد از بازیابی سلول‌ها نشان داد که تکثیر سلولی در نمونه‌های پلیمر نسبت به قبل افزایش یافته است، اما هنوز اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های پلی‌استیرن دارد (شکل ۶).



شکل ۶. نمودار الیزای حاصل از بررسی تکثیر سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه (پاساژ ۴) تحت محیط کشت DMEM/F۱۲ (Dulbecco's modified Eagle's medium) حاوی FBS (Fetal bovine serum) سرم ۱۰ درصد بعد از ۴۸ ساعت کشت بر روی پلیمر پلی‌هما و سپس بازبازی آن‌ها بر روی پلی‌استیرن (این آزمایش ۳ بار تکرار گردید و اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد) ( $P < 0.050$ )



شکل ۷. نمودار الیزای حاصل از بررسی مرگ سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه (پاساژ ۴) بعد از ۴۸ ساعت کشت بر روی پلی‌استیرن و پلیمر پلی‌هما تحت محیط کشت DMEM/F۱۲ (Dulbecco's modified Eagle's medium) حاوی FBS (Fetal bovine serum) سرم ۱۰ درصد (این آزمایش ۳ بار تکرار گردید و اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد) ( $P > 0.050$ )



شکل ۸. بیان سیتوکراتین در سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه (پاساژ ۵) کشت داده شده بر روی پلیمر پلی‌هما تحت محیط غنی شده با ۱۰ درصد، A: FITC (Fluorescein isothiocyanate) ، B: FBS (Fetal bovine serum) و C: Merge (4',6-diamidino-2-phenylindole) DAPI ( $20\times$ )



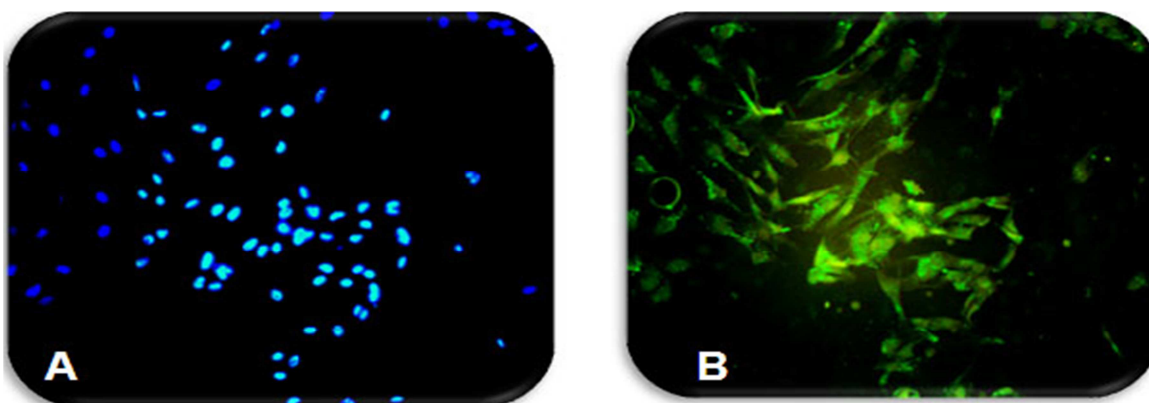
اختلالاتی همچون تخریب ماکولای وابسته به سن و موارد دیگری مرتبط است و جایگزینی اپیتلیوم رنگدانه‌ای چشم در چنین بیمارانی با نجات گیرنده‌های نوری و رفع مشکل همراه است. از این رو، کشت این سلول‌ها و مطالعه‌ی رفتار این سلول‌ها بر روی محیط‌های مختلف با هدف ایجاد دریچه‌هایی به منظور حفظ سلول‌های رنگدانه‌دار شبکیه و در نتیجه حفظ شبکیه و درمان بیماری صورت می‌گیرد.

### Real time PCR

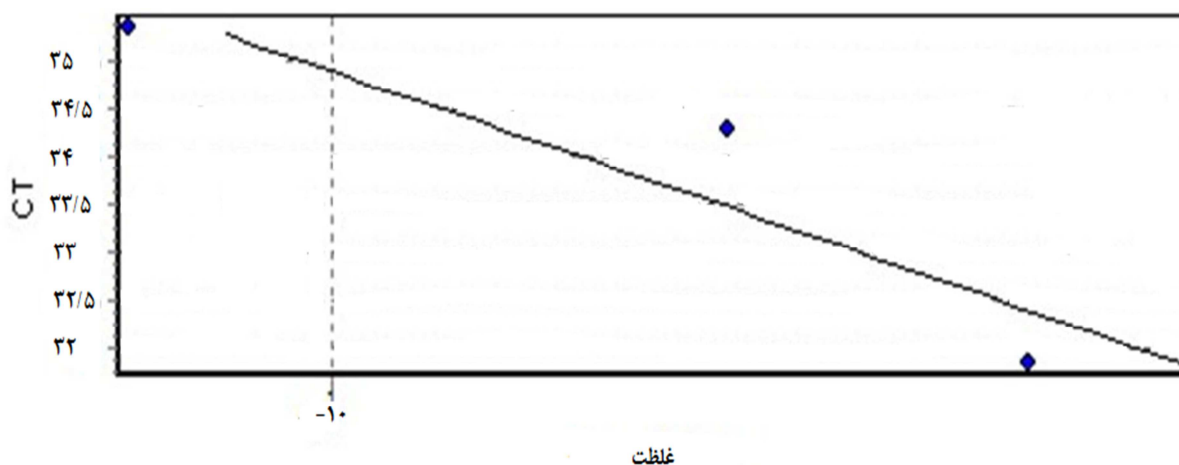
منحنی استاندارد ژن‌های Tyrosinase و GAPDH رسم شد (شکل‌های ۱۰ و ۱۱). سپس میزان بیان تیروزیناز در پلیمر، نسبت به سطح پلی‌استیرین سنجیده شد که گویای بیان بالای ژن تیروزیناز در سلول‌های کشت شده بر روی پلیمر، نسبت به پلی‌استیرین بود (شکل ۱۲).

### بحث

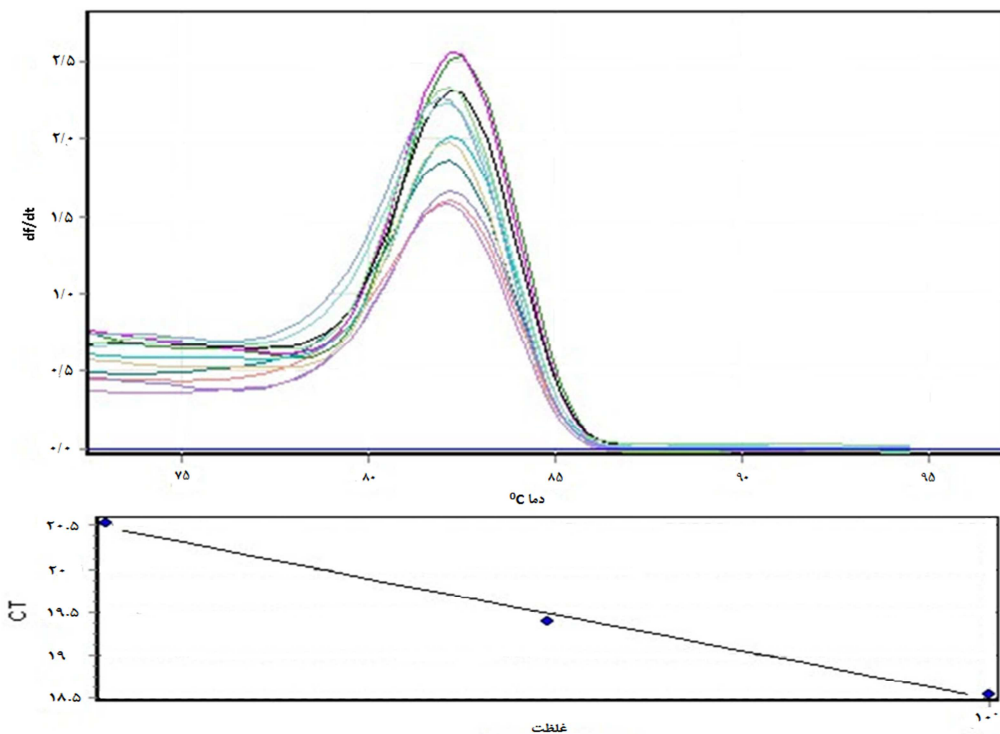
از دست رفتن عملکرد اپیتلیوم رنگدانه‌ای چشم با



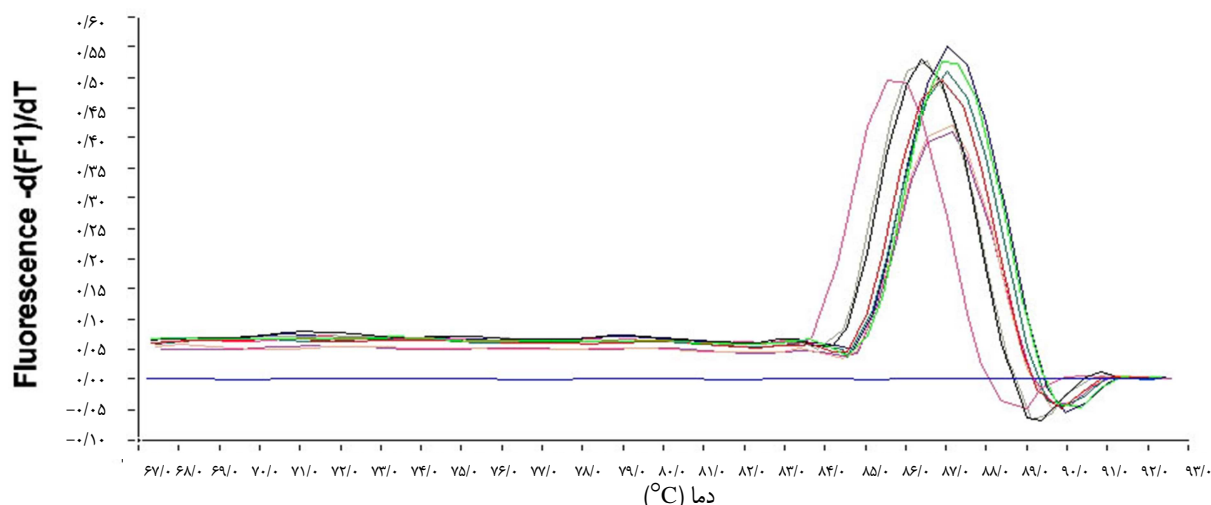
شکل ۹. بیان ژن RPE65 سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه (پاساژ ۳) کشت داده شده بر روی پلی‌هما تحت محیط FBS (Fetal bovine serum) ۱۰ درصد + DMEM/F۱۲ (۱۰۰x)، A: DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole)، B: FITC (Fluorescein isothiocyanate)



شکل ۱۰. منحنی استاندارد رسم شده برای ژن Tyrosinase (۹۸ درصد Efficiency،  $M = -3.36$ ،  $R = 0.99$ )



Program: meltcurve Run By: Host  
Run Date: Apr 23, 2011 15:25 Print Date: May 11, 2011



شکل ۱۱. منحنی استاندارد رسم شده برای ژن GAPDH (Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase)

( $R = 0.99$ ,  $M = -3.29$ , Efficiency = ۱۰۰ درصد)

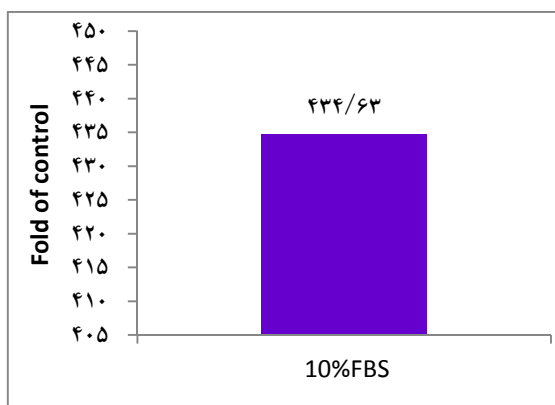
botyrat co Poly (Hydroxy membering hydroxyl related) مایع آمینوتیک و آلزینات انجام شده است (۱۷-۱۸).  
به نقل از Packard و همکاران در اوایل دهه‌ی

کشت سلول‌های رنگدانه‌دار شبکه‌ای بر روی ماتریکس‌های مختلف از جمله کلاژن، لامینین، فیبرینوزن، Plain plastic petri plate، CryoPreCipitat membering artificial

(۱۲-۱۳). Glowacki و همکاران با کشت سلول‌های کندروسیت بر روی پلی‌هما نشان دادند که پلی‌هما موجب می‌شود که سلول‌های کندروسیت حالت گرد به خود بگیرند و در فضای سه بعدی واقع شوند (۲۰). پلی‌هما با ساختار اسفنج مانند خود قابلیت حمل به منظور آزادسازی کنترل شده داروهای ضد سرطان را دارد (۲۱). همچنین Kon و de Visser بازیابی استخوان‌های آسیب دیده بر روی پلیمر پلی‌هما را نشان دادند (۲۲).

بنابراین سلول‌های غضروف، استخوان، ملانوما و پوست بر روی آن‌ها کشت شده بودند؛ اما سلول‌های رنگدانه‌دار شبکیه بر روی آن‌ها کشت نشده بود. با توجه به کاربرد این پلیمر در لنزهای تماسی، اثر مستقیم پلیمر در حفظ ماهیت سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه بررسی نشده بود. از این رو، در پژوهش حاضر اثر پلیمر بر روی سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه بررسی شد.

پلیمر پلی‌هما دارای ساختار آب‌گریز است. در نتیجه، سلول‌های رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم قادر به چسبیدن به سطح پلیمر نیستند و به صورت غیر چسبنده و معلق در محیط، روی سطح این پلیمر قرار می‌گیرند. در واقع سلول‌ها در فضای سه بعدی بین محیط و پلیمر قرار می‌گیرند (۱۶، ۱۰). سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم به طور ذاتی توانایی چسبندگی دارند. به همین دلیل، وقتی در سطح پلی‌استیرن کشت داده می‌شوند، به سطح کف فلاسک می‌چسبند و مورفولوژی کشیده با استتالهی بلند پیدا می‌کنند. وقتی سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم در سطح پلیمر پلی‌هما قرار می‌گیرند، پلیمر باعث می‌شود سطح چسبنده در اختیار آن‌ها



شکل ۱۲. میزان بیان ژن Tyrosinase در سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه بر روی پلیمر پلی‌هما (FBS ۱۰ درصد + ۱۲ DMEM/F نسبت به پلی‌استیرن)

Lim و Wichterle ۱۹۵۰ شروع به طراحی پلیمری برای مصارف پزشکی کردند و اولین لنزی را که حاوی پلی‌هما بود، کشف کردند. این پلیمر شرایط سازگار با داخل چشم را دارد و در تماس با سلول‌های چشم تغییر نمی‌کند؛ ارزان، در دسترس و قابل پذیرش برای بدن است و آلرژی ایجاد نمی‌کند (۱۹).

این پلیمر دارای محتوای آبی مشابه با سلول‌های زنده، نفوذپذیر نسبت به متابولیت‌ها و مقاوم نسبت به جذب توسط بدن با زیست سازگاری بسیار بالا و غیر ایمونوژنیک است و به راحتی به صورت اشکال و فرم‌های متفاوت قابل ساخت و قابل استریل شدن می‌باشد (۱۱).

ژل‌های آب‌دوست سه بعدی بر پایه‌ی پلی‌هما، به عنوان داربست‌هایی برای بازسازی بافت‌های نرم نظیر بافت عصبی، ماهیچه، تاندون و غیره طراحی می‌شوند. همچنین خصوصیات فیزیکی- شیمیایی این هیدروژل آب‌دوست، شباهت بسیاری به ماتریکس غضروف دارد. بنابراین، جهت کشت سلول‌های کندروسیت بر روی آن دارای کاربرد می‌باشد

نباشد و سلول‌ها به صورت معلق در فضای سه بعدی پلیمر و محیط قرار بگیرند. در نتیجه، به علت خصوصیت چسبندگی ذاتی سلول‌ها، سلول‌ها به یکدیگر می‌چسبند و کلونی‌های سلولی مشابه با بافت زیستی را تشکیل می‌دهند.

با گذشت زمان، کلونی‌ها به یکدیگر می‌چسبند و کلونی بزرگتری را تشکیل می‌دهند. به نظر می‌رسد عوامل رشد، زمینه‌ای را فراهم می‌آورند که با گذشت زمان کلونی‌ها بیشتر به یکدیگر متصل شوند و کلونی‌های واحد بزرگی را تشکیل دهند؛ به طوری که این کلونی‌ها با چشم غیر مسلح قابل دیدن و در فلاسک سلولی قابل شمارش هستند. کلونی‌های تشکیل شده، رنگ تیره (غیر قابل نفوذ نسبت به نور) به خود می‌گیرند که وجود این رنگ را می‌توان به تراکم سلولی موجود در کلونی‌ها و وجود رنگدانه‌ی ملانین در سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم نسبت داد.

نتایج آزمایش MTT نشان دهنده‌ی سلول‌های زنده است. در حضور *FBS*، سلول‌های زنده‌ی موجود بر روی پلیمر با نمونه‌های کشت شده بر روی پلی‌استیرن تا حدودی برابری می‌کند. زنده بودن سلول‌ها با بازیابی مجدد آن‌ها از روی پلیمر پلی‌هما و کشت بر روی پلی‌استیرن نیز اثبات شد. با گذشت زمان، کلونی‌ها بزرگ‌تر و تراکم سلولی آن‌ها بیشتر می‌شود و بازیابی سلول‌ها مشکل‌تر به نظر می‌رسد.

مرگ سلولی در شرایطی که سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم بر روی پلیمر پلی‌هما کشت داده شوند، بسیار کم و مانند پلی‌استیرن است. پس می‌توان نتیجه گرفت که پلیمر، عاملی برای مرگ سلولی نیست. تکثیر سلول‌های کشت شده بر روی

پلیمر نسبت به حالت پلی‌استیرن سنجیده شد. تکثیر بسیار کمی در حالت‌های پلیمر وجود دارد که با توجه به زنده بودن سلول‌ها و عدم مرگ آن‌ها در بازه زمانی مورد نظر دو فرضیه مطرح می‌شود:

۱- تشکیل کلونی‌های سلولی مشابه با بافت زیستی است و از قانون ممانعت تماسی در بافت پیروی می‌کند. در نتیجه، تماس سلول‌ها با یکدیگر سیگنال‌های عدم تکثیر سلولی را ایجاد می‌کند.

۲- به دلیل تراکم سلولی، *Anti-BrdU* قادر به نفوذ به داخل سلول‌ها در شرایط کلونی نیست. بنابراین تقسیم سلولی قابل ملاحظه‌ای دیده نمی‌شود. با توجه به این که بازه زمانی در آزمایش *MTT* و *BrdU* یکسان می‌باشد، مشخص نیست در این بازه زمانی چه اتفاقی افتاده است؛ اما آنچه واضح است، این است که بعد از ۴۸ ساعت، وقتی *MTT* و *BrdU* در اختیار سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم قرار می‌گیرد، سلول‌هایی که *MTT* را دریافت می‌کنند، مشابه با نمونه‌ی پلی‌استیرن است. این در صورتی است که سلول‌ها در پلیمر قدرت تکثیر خیلی کمتر از نمونه‌ی پلی‌استیرن را نشان می‌دهند.

*Klein* و همکاران نشان دادند که تکثیر سلول‌های ملانوما بر روی پلیمر پلی‌هما، با سرعت پایین‌تری با همان دانسیته نسبت به پلی‌استیرن صورت می‌گیرد و در بین سلول‌ها، کلونی‌های پلی‌کاریوسیت‌ها را می‌توان دید (۱۰). همچنین *Glowacki* و همکاران تکثیر کاهش یافته را در بین سلول‌های کلونی کندروسیت نشان دادند (۲۰). با توجه به این که علاوه بر سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه، سلول‌های دیگر نیز کاهش تکثیر سلولی را نشان می‌دهند، فرضیه‌ی اول صحیح‌تر به نظر می‌رسد؛ اما

این مسأله اثبات نشده است.

نتایج حاصل از ایمنوسیتوشیمی کشت‌های رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم بر روی پلیمر پلی‌هما، نشان داد که بیان پروتئین سایتوکراتین و RPE۶۵ که از نشانگرهای اختصاصی سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم هستند، در شرایط کشت سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم بر روی پلیمر، تا حدودی برابر با حالت پلی‌استیرن است.

تیروزیناز را به عنوان مونوفنول مونواکسیژناز می‌شناسند. این آنزیم با اکسیداسیون فنول مانند تیروزین و دوپامین موجب ایجاد رنگدانه می‌شود. در حیوانات و گیاهان با عمل اکسیداسیون خود، موجب تولید ملانین و دیگر پیگمان‌ها می‌شود که ایجاد کننده‌ی رنگ سیاه در آن‌ها است (۷). زمانی که FBS در شرایط کشت سلول بر روی پلیمر اضافه می‌شود، افزایش بیان (۲۴/۱۲۵ برابری) را نسبت به سلول‌های کشت شده بر روی پلی‌استیرن تحت محیط DMEM/F۱۲ نشان می‌دهد. بنابراین تأثیر همزمان پلیمر و FBS موجب می‌شود افزایش بیان صورت گیرد.

میزان بیان نشانگر در شرایط کشت سلول بر روی پلیمر تحت محیط DMEM/F۱۲ حاوی FBS نسبت به سلول‌های کشت شده بر روی پلی‌استیرن این داده را تأیید می‌کند. بیان بالای تیروزیناز و تراکم سلولی با بیان ملانین و تیره شدن کلونی‌ها مطابق است.

در پایان چنین نتیجه‌گیری می‌شود که پلیمر پلی‌هما شرایط لازم برای زنده ماندن سلول‌ها و بیان بالای ملانین فراهم می‌آورد. بنابراین به نظر می‌رسد شرایط مناسب برای حفظ ماهیت و کشت سلول‌های پوششی رنگدانه‌دار شبکیه‌ی چشم فراهم می‌آورد که از این سلول‌ها بتوان در درمان سلول‌های شبکیه استفاده کرد.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی پژوهشکده‌ی ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری تهران و همکاری سازمان ملی چشم ایران به انجام رسید. به این وسیله از زحمات مسؤولین این مرکز تشکر و قدردانی می‌گردد.

### References

1. Klimanskaya I, Hipp J, Rezai KA, West M, Atala A, Lanza R. Derivation and comparative assessment of retinal pigment epithelium from human embryonic stem cells using transcriptomics. *Cloning Stem Cells* 2004; 6(3): 217-45.
2. Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 2005; 85(3): 845-81.
3. Willermain F, Caspers-Velu L, Nowak B, Stordeur P, Mosselmans R, Salmon I, et al. Retinal pigment epithelial cells phagocytosis of T lymphocytes: possible implication in the immune privilege of the eye. *Br J Ophthalmol* 2002; 86(12): 1417-21.
4. Pons M, Marin-Castano ME. Nicotine increases the VEGF/PEDF ratio in retinal pigment epithelium: a possible mechanism for CNV in passive smokers with AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(6): 3842-53.
5. Baraboi VA. Melanin: structure, biosynthesis, biological functions. *Ukr Biokhim Zh* 1999; 71(4): 5-14. [In Russian].
6. Limb GA, Daniels JT. Ocular regeneration by stem cells: present status and future prospects. *Br Med Bull* 2008; 85: 47-61.
7. Barton DE, Kwon BS, Francke U. Human tyrosinase gene, mapped to chromosome 11 (q14---q21), defines second region of homology with mouse chromosome 7. *Genomics* 1988; 3(1): 17-24.
8. Elejalde BR, Holguin J, Valencia A, Gilbert EF, Molina J, Marin G, et al. Mutations affecting pigmentation in man: I. Neuroectodermal melanolysosomal disease. *Am J Med Genet*

- 1979; 3(1): 65-80.
9. Kwon BS, Haq AK, Pomerantz SH, Halaban R. Isolation and sequence of a cDNA clone for human tyrosinase that maps at the mouse c-albino locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84(21): 7473-7.
  10. Klein PA, Xiang JH, Kimura AK. Melanoma cells growing in aggregates on a non-adhesive poly(HEMA) substrate exhibit polykaryocytosis but do not develop an increased metastatic capability. *Clin Exp Metastasis* 1984; 2(4): 287-95.
  11. Studenovska H, Slouf M, Rypacek F. Poly(HEMA) hydrogels with controlled pore architecture for tissue regeneration applications. *J Mater Sci Mater Med* 2008; 19(2): 615-21.
  12. Lombello CB, Malmonge SM, Wada ML. Poly-HEMA and Poly-HEMA-poly(MMA-co-AA) as substrates for culturing Vero cells. *J Mater Sci Mater Med* 2000; 11(9): 541-6.
  13. Flynn L, Dalton PD, Shoichet MS. Fiber templating of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) for neural tissue engineering. *Biomaterials* 2003; 24(23): 4265-72.
  14. Seidel JM, Malmonge SnM. Synthesis of Poly-HEMA hydrogels for using as biomaterials. Bulk and solution radical-initiated polymerization techniques. *Materials Research* 2000; 3: 79-83.
  15. Goda T, Ishihara K. Soft contact lens biomaterials from bioinspired phospholipid polymers. *Expert Rev Med Devices* 2006; 3(2): 167-74.
  16. Chirila TV. Melanized poly(HEMA) hydrogels: basic research and potential use. *J Biomater Appl* 1993; 8(2): 106-45.
  17. Sajadi SM, Samiei Sh, Kheirandish M, Ataie Z, Meshkani R, Kavari M, et al. The association of FXIII Val34Leu polymorphism with thrombotic events in patients referring to Iranian Blood Transfusion Organization. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2008; 4(4): 247-52.
  18. Soheili Z, Samiei S. Real time PCR: principles and application. *Hepat Mon* 2005; 5(3): 83-7.
  19. Packard RB, Garner A, Arnott EJ. Poly-HEMA as a material for intraocular lens implantation: a preliminary report. *Br J Ophthalmol* 1981; 65(8): 585-7.
  20. Glowacki J, Trepman E, Folkman J. Cell shape and phenotypic expression in chondrocytes. *Proc Soc Exp Biol Med* 1983; 172(1): 93-8.
  21. Jeyanthi R, Rao KP. Controlled release of anticancer drugs from collagen-poly(HEMA) hydrogel matrices. *J Controlled Rel* 1990; 13(1): 91-8.
  22. Kon M, de Visser AC. A poly(HEMA) sponge for restoration of articular cartilage defects. *Plast Reconstr Surg* 1981; 67(3): 288-94.

## The Effect of Polyhydroxyethylmethacrylate (Poly-HEMA), as a Cell Culture Substrate, on Viable and Preserving Nature of Retinal Pigment Epithelium (RPE) Cells

Fatemeh Nazem-Roaya MSc<sup>1</sup>, Zahra-Soheila Soheili PhD<sup>2</sup>, Razeih Heidari MSc<sup>1</sup>,  
Abdolkhalegh Deezagi PhD<sup>2</sup>, Hamid Ahmadih PhD<sup>3</sup>, Shahram Samiei PhD<sup>4</sup>,  
Abozar Bagheri MSc<sup>1</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Retinal pigment epithelium (RPE) cells play an important role in the maintenance of normal function of the retina. Tyrosinase is a marker of RPE cells that functions in synthesis of melanin. Polymer of polyhydroxyethylmethacrylate (Poly-HEMA) is the basic component of contact lenses. We investigated the effect of Poly-HEMA, as a cell culture substrate, on viable and preserving nature of RPE cells.

**Methods:** RPE cells between passages 2 and 5 were cultured on Poly-HEMA (12 mg/ml) in 24 wells culture palates. Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM/F12) + 10% Fetal bovine serum (FBS) were used to nourish cultured cells on polystyrene and Poly-HEMA coated vessels. Morphology, the rate of cell proliferation and cell death of RPE cells cultured on Poly-HEMA polymer were evaluated in periodic times. Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) was performed to evaluate tyrosinase in cultured RPE cells.

**Findings:** The cells cultured on Poly-HEMA formed many colonies. These colonies could be re-cultured on polystyrene. The number of RPE cells on Poly-HEMA and polystyrene were the same while the proliferation rate of the cultured cells on Poly-HEMA was reduced; no remarkable cell death was detected on polymer and on polystyrene plates. The giant colonies which were formed on Poly-HEMA were re-cultured. The expression of tyrosinase gene was detected 434.65 in cultured RPE cells on the polymer.

**Conclusion:** Poly-HEMA is a hydrophobic polymer. When RPE cells were cultured on Poly-HEMA they could not adhere to substrate and formed many colonies. Based on our study, Poly-HEMA did not induce cell death in RPE cells but the proliferation of cells was reduced. Tyrosinase expression revealed that Poly-HEMA could support RPE cultures to establish their population as the main constituents of the giant colonies.

**Keywords:** RPE cell, Polymer of Poly-HEMA, Tyrosinase

**Citation:** Nazem-Roaya F, Soheili ZS, Heidari R, Deezagi A, Ahmadih H, Samiei Sh, et al. **The Effect of Polyhydroxyethylmethacrylate (Poly-HEMA), as a Cell Culture Substrate, on Viability and Preserving Nature of Retinal Pigment Epithelium (RPE) Cells.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(300): 1444-60

1- National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Ophthalmic Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Assistant Professor, Iranian Blood Transfusion Organization Research Center, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Fatemeh Nazem-Roaya MSc, Email: nazemroaya@yahoo.com

## گزارش یک مورد ماستیت بروسلائی در یک خانم یائسه

دکتر معصومه بیانی<sup>۱</sup>، دکتر ناصر قائمیان<sup>۲</sup>، فاطمه ایزدپناه<sup>۳</sup>

## گزارش مورد

## چکیده

**مقدمه:** بیماری بروسلوز به صورت آندمیک در سراسر ایران دیده می‌شود. این بیماری توانایی ایجاد علایم به صورت سیستمیک را دارد، اما بعضی از اندام‌ها به ندرت درگیر می‌شوند. ابتلای بافت پستان در حیوانات اغلب گزارش می‌شود، اما در انسان عارضه‌ی نادری است.

**معرفی بیمار:** بیمار خانم ۶۷ ساله ساکن روستایی در بابل، دامدار که با علایم تب و لرز، تورم، قرمزی و درد یک طرفه‌ی پستان راست مراجعه نمود. از یک هفته قبل از مراجعه، بیمار دچار تب، ضعف و بی‌حالی، درد مفاصل و بی‌اشتهایی بود. در معاینات بالینی تورم، قرمزی و ایندوراسیون در پستان مشاهده شد. بیماری‌های بدخیم پستان مطرح گردید. گزارش اولترا سونوگرافی ماستیت بود. به دنبال عدم پاسخ به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، آزمایش‌های سرولوژی انجام شد و نتایج آزمایش‌های رایب (Wright) ۱/۶۴۰، کومبس رایب (Coombs- Wright) ۱/۶۴۰ و ۲- مرکاپتو اتانول (Mercaptoethanol-۲) ۱/۳۲۰ بود. بیمار تحت درمان با دوکسی سیکلین و استرپتومایسین قرار گرفت. بعد از دو ماه دریافت دارو، بیمار پیگیری شد. علایم بالینی بهبود یافت و یافته‌های سونوگرافی مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** با امکان مطرح نمودن بیماری‌های بدخیم پستان در شرایط موجود و در نواحی آندمیک، به علت هماتوزن بودن بروسلا و درگیری در هر اندام از بدن، باید این بیماری جزء تشخیص‌های افتراقی قرار گیرد.

**واژگان کلیدی:** بروسلوز، ماستیت، یائسگی

**ارجاع:** بیانی معصومه، قائمیان ناصر، ایزدپناه فاطمه. گزارش یک مورد ماستیت بروسلائی در یک خانم یائسه. مجله دانشکده پزشکی

اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۰): ۱۴۶۵-۱۴۶۱

## مقدمه

بروسلوز یک بیماری عفونی مشترک انسان و دام است که به عنوان یکی از مهم‌ترین مسایل بهداشتی جهان مطرح می‌باشد. این عفونت مربوط به حیوانات اهلی و وحشی و قابل انتقال به انسان است. بیماری بروسلوز به صورت آندمیک در سراسر ایران دیده می‌شود. تب مالت یک عفونت سیستمیک است که ممکن است بسیاری از اندام‌ها را مبتلا کند. راه انتقال

به انسان شامل تماس مستقیم با دام یا ترشحات آن از پوست آسیب دیده، استنشاق ذرات عفونی یا ورود از مخاط چشم و یا خوردن محصولات غیر پاستوریزه‌ی شیر می‌باشد (۱). این باکتری‌ها می‌توانند در اعضای مختلف بدن عفونت موضعی ایجاد کنند که شایع‌ترین اعضای مبتلا شامل استخوان‌ها، مفاصل، سیستم اعصاب مرکزی، قلب، ریه، طحال، بیضه‌ها، کبد، کیسه‌ی صفرا، کلیه‌ها، پروستات و پوست می‌باشند،

۱- دانشیار، گروه عفونی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۲- استادیار، گروه رادیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

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



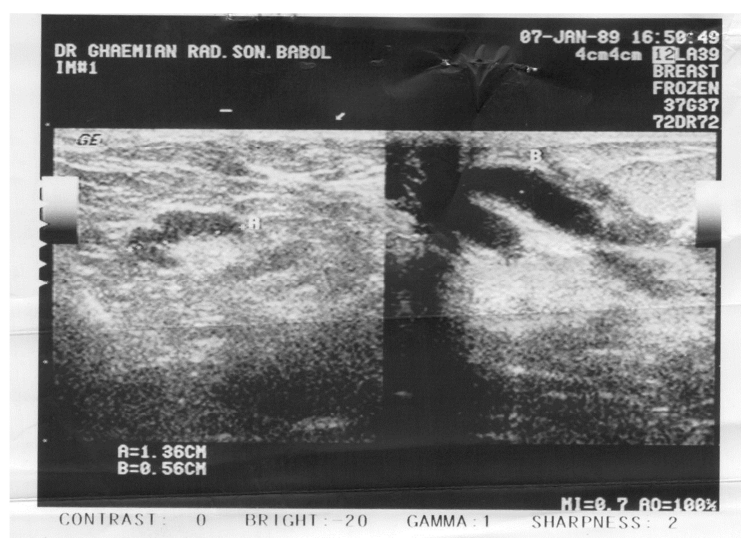
اما بعضی از اندام‌ها به ندرت درگیر می‌شوند (۲). عفونت بافت نرم از یافته‌های غیر معمول در بروسلوزیس می‌باشد. در همین راستا، ابتلای بافت پستان ناشی از بروسلوز در حیوانات به طور عمومی گزارش می‌شود، اما در انسان عارضه‌ی نادری است (۳-۵). بیماری که معرفی خواهد شد، یک خانم یائسه بود که دچار التهاب پستان ناشی از بروسلوزیس شده بود.

### معرفی بیمار

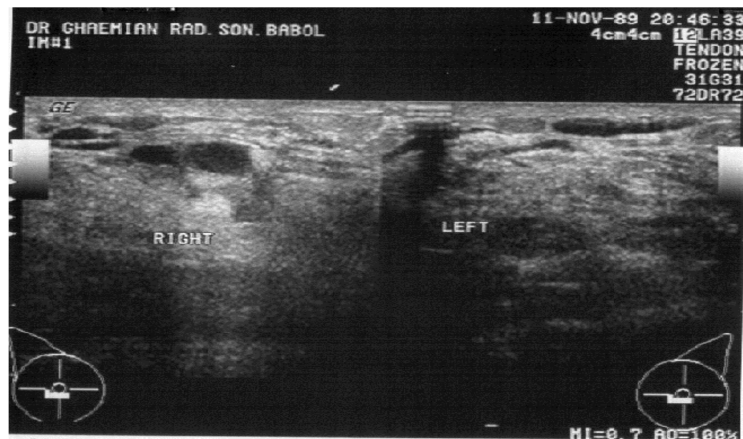
بیمار خانم ۶۷ ساله ساکن یکی از روستاهای اطراف شهرستان بابل و دامدار بود که با علایم تب، لرز، تورم، قرمزی و درد یک طرفه‌ی پستان راست به بیمارستان مراجعه نمود. بیمار از یک هفته قبل از مراجعه دچار تب، ضعف و بی‌حالی، درد مفاصل و بی‌اشتهایی شده بود. علایم حیاتی بیمار در بدو ورود شامل فشار خون (۱۲۰/۸۰ mmHg)، تعداد تنفس (۲۲)، تعداد نبض (۷۸) و درجه‌ی حرارت (۳۷/۵ °C) بود. در معاینات بالینی تورم، قرمزی و

ایندوراسیون در پستان مشاهده شد. با توجه به سن بیمار و این که در سنین غیر باروری قرار داشت، برای بیمار، بیماری‌های بدخیم پستان و ماستیت گرانولوماتوز مطرح گردید. از این رو، در اولترا سونوگرافی انجام شده، دیلاته بودن مجرای لاکتی فروس در رتروآرنول دو طرف دیده شد که در طرف راست با نشانه‌های التهاب همراه بود. توده، کیست، لنفادنوپاتی، اسپیکولاسیون و کلسیفیکاسیون مشاهده نشد (شکل‌های ۱ و ۲).

نتایج آزمایش‌های درخواستی برای بیمار از جمله CBC Diff (Complete blood count differential)، ESR (Erythrocyte sedimentation rate) و CRP (C-reactive protein) طبیعی گزارش شد. عامل روماتوئید بیمار منفی و Anti-CCP ۱/۱ گزارش شد که در محدوده‌ی طبیعی قرار داشت. بیمار جهت پوشش استافیلوکوکوی آرنوس (*Staphylococcus aureus*) تحت درمان با آنتی‌بیوتیک‌های سفازولین (۱ g، هر ۸ ساعت) و کلیندامایسین (۹۰۰ mg، هر ۸ ساعت) به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت.



شکل ۱. نمای پستان در سونوگرافی



شکل ۲. نمای پستان در سونوگرافی

زنانی در سنین غیر شیردهی بودند؛ در حالی که ماستیت بیشتر در زنان شیرده اتفاق می‌افتد (۸-۹). با توجه به سن و شرایط منوپوز بیمار معرفی شده، ابتدا بدخیمی پستان و ماستیت گرانولوماتوز مطرح گردید. ماستیت گرانولوماتوز ناشناخته، یک بیماری التهابی خوش‌خیم و نادر سینه است که علت آن مشخص نیست. این بیماری، می‌تواند علائم ماستیت غیر زایمانی، آبسه‌ی سینه و اغلب کارسینومای سینه را تقلید کند (۷) که با توجه به بررسی‌های انجام شده، این تشخیص نیز رد شد.

از آن جایی که بیمار مورد مطالعه، در سنین باروری و شیردهی نبود و عارضه به صورت بافت التهابی متورم بود و پاسخی مناسب به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام نداد، برای بیمار تشخیص کارسینوم التهابی پستان داده شد؛ اما با توجه به سابقه‌ی دامداری و تماس با مواد لبنی آلوده، آزمایش آگلوتیناسیون استاندارد جهت بروسلا درخواست شد که به دنبال مثبت بودن نتیجه و پاسخ مناسب به داروهای ضد بروسلا، تشخیص ماستیت بروسلائی داده شد.

از آن جایی که بروسلا یک ارگانیزم کند رشد در

به دنبال عدم پاسخ به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، آزمایش‌های سرولوژی درخواست شد. نتایج آزمایش‌های رایت (Wright) ۱/۶۴۰، کومبس رایت (Coombs- Wright) ۱/۶۴۰ و ۲-مرکاپتو اتانول (۲-Mercaptoethanol) ۱/۳۲۰ بود. از این رو بیمار تحت درمان با دوکسی‌سیکلین (۱۰۰ mg، روزی دو عدد) و استرپتومایسین (۷۵۰ mg، روزانه یک عدد) به مدت ۱۴ روز قرار گرفت. بعد از دو ماه دریافت دارو، بیمار پیگیری شد که طی آن علائم بالینی بهبود یافت و یافته‌های سونوگرافیک نیز منفی شد. نتایج آزمایش‌های مجدد رایت، کومبس رایت و ۲-مرکاپتو اتانول نیز به ترتیب ۱/۴۰، ۱/۴۰ و منفی گزارش شد.

### بحث

بروسلوز یک بیماری آندمیک در منطقه‌ی خاورمیانه، آمریکای جنوبی و کشورهای مدیترانه می‌باشد (۵-۶). درگیری پستان به صورت التهاب و ماستیت در حیوانات عارضه‌ی شایعی است؛ اما در انسان به صورت یک عارضه‌ی نادر گزارش می‌شود. موارد محدودی از ماستیت بروسلائی در انسان گزارش شده است (۷، ۲). بیشتر موارد ماستیت بروسلائی،

درگیری در هر اندام از بدن، باید این بیماری جزء تشخیص‌های افتراقی قرار گیرد.

محیط کشت می‌باشد، امکان تشخیص مواردی که با تظاهرات غیر معمول مراجعه می‌کنند، همیشه با مشکل روبه‌رو خواهد شد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران محترم بخش داخلی بیمارستان بابل کلینیک تشکر و قدردانی می‌گردد.

در مناطق آندمیک این بیماری، در صورتی که فرد در سنین شیردهی نباشد و با التهاب پستان و ماستیت مراجعه کند، به علت هماتوزن بودن بروسلا و

### References

1. Didgar F, Akbari M, Sarmadian H, Soufian M. Brucella osteomyelitis of the tibia: A case report. *J Arak Univ Med Sci* 2010; 13(3): 137-42. [In Persian].
2. Akay H, Girgin S, Ozmen CA, Kilic I, Sakarya H. An unusual bilateral mastitis in a postmenopausal woman caused by brucellosis. *Acta Chir Belg* 2007; 107(3): 320-2.
3. Gurleyik E. Breast abscess as a complication of human brucellosis. *Breast J* 2006; 12(4): 375-6.
4. Memish ZA, Alazzawi M, Bannatyne R. Unusual complication of breast implants: Brucella infection. *Infection* 2001; 29(5): 291-2.
5. Erdem G, Karakas HM, Yetkin F, Alkan A, Firat AK, Kahraman B. Brucellar breast abscess. *Breast* 2006; 15(4): 554-7.
6. Nemenqani D, Yaqoob N, Khoja H. Breast brucellosis in Taif, Saudi Arabia: cluster of six cases with emphasis on FNA evaluation. *J Infect Dev Ctries* 2009; 3(4): 255-9.
7. Orang R, Rouhi M, Sadegh Vahedi M, Kargar S, Taghipour Sh. Idiopathic granulomatous mastitis and arthraitis: a case report. *Iran J Breast Dis* 2012; 5(4): 53-6. [In Persain].
8. Ghazisaidi K, Fatemi Nasab F, Vatani Sh, Mohamadi M, Ghaemi E. Bacterial mastitis in lactating women attending mirzakochackkhan hospital during 2003-2004 and the sensitivity pattern of the involved bacteria. *J Kerman Univ Med Sci* 2007; 14(1): 1-8. [In Persian].
9. Ibis C, Albayrak D, Yagci M. Bilateral brucellar breast abscess in a 48-year-old woman. *Ann Saudi Med* 2009; 29(2): 158.

## A Case Report of Mastitis Due to Brucella Infection in Post-menopausal Woman

Masoumeh Bayani MD<sup>1</sup>, Naser Ghaemian MD<sup>2</sup>, Fatemeh Izadpanah<sup>3</sup>

### Case Report

#### Abstract

**Background:** Brucellosis is an endemic disease in Iran. It produces systemic symptoms in humans but organs such as breasts are rarely involved. Breast involvement of brucella can be frequently detected in animals; however, it is extremely rare in humans.

**Case Report:** A 67-year-old woman, living in rural area in Babol, Iran, with fever, trembling and inflammation on one side of right breast referred to a clinic. She had fever, weakness, arthritis and loss of appetite from one week prior to the visit. Ultrasound was requested and showed mastitis. Antibiotics in beta-lactam groups had no effect on the patient. Serology tests of Wright, Combs-Wright and 2-mercaptoethanol were positive with the titer of 1/640, 1/640 and 1/320, respectively. Treatment with a combination of doxycycline and streptomycin lead to clinical care. She was under observation for 2 months until her ultrasound results changed to negative.

**Conclusion:** In endemic area, brucellosis should be pointed out; as it is clinically difficult to distinguish this type of infection from an inflammatory carcinoma of the breast or any other organs.

**Keywords:** Brucellosis, Mastitis, Menopause

**Citation:** Bayani M, Ghaemian N, Izadpanah F. A Case Report of Mastitis due to Brucella Infection in Post-menopausal Woman. J Isfahan Med Sch 2014; 32(300): 1461-5

1- Associate Professor, Department of Infection Diseases, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

2- Assistant Professor, Department of Radiology, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

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

**Corresponding Author:** Fatemeh Izadpanah, Email: f.izadpanah@gmail.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:

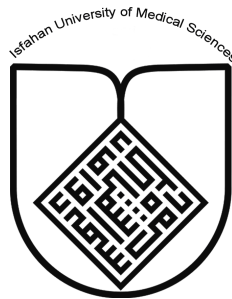
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
  - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

## INSTRUCTION TO AUTHORS

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

### ***Editorial Board (In alphabetical order)***

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



## JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 300, 1<sup>st</sup> week, November 2014

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

---

### Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: [publications@mui.ac.ir](mailto: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](mailto: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](mailto:esfahanfarzanegan@yahoo.com)

[f.radandish@gmail.com](mailto:f.radandish@gmail.com)

[www.farzaneganco.ir](http://www.farzaneganco.ir)

Circulation: 500

---

### This journal is indexed in the following international indexes

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

---

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

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