

مقاله های پژوهشی

- ۱۵۴۷ بررسی میزان بستری مجدد و میانگین مدت بستری نوزادان نارس کمتر از گرم در بیمارستان شهید بهشتی اصفهان ...
دکتر امیر محمد آرماتیان، دکتر مجید محمدی زاده، راضیه سلیمانی
- ۱۵۵۵ بررسی تأثیر شدت اضطراب بیماران قبل از عمل بر روی تغییرات همودینامیک در حین عمل با بی حسی نخاعی در بیماران تحت عمل جراحی فتق دیسک کمری
دکتر محمدعلی عطاری، سپهر اسلامی، حسین محمودزاده، مینا شاکری
- ۱۵۶۴ مقایسه بیان ژن های Foxa1 و Foxa2 در مخاط معده مردان و زنان
زهرآ محمدی، دکتر پرینا محمدی نژاد، دکتر مهدی مغنی باشی
- ۱۵۷۴ افزایش نفوذ نانوذرات طلا به داخل رده های سلولی سرطانی بر اثر اتصال با پپتید TAT
دکتر صدیقه خامه چیان، دکتر سامان حسینخانی، دکتر رسول مدنی، مریم نیکخواه

مقاله مروری

- ۱۵۸۴ نقش عوامل رونویسی در تنظیم توسعه و تمایز سلول های شبکه ی عصبی
راضیه حیدری، فاطمه ناظم رعایا، دکتر مجید خیراللهی

Original Articles

- The Rehospitalization Rates of Low-Birth-Weight Infants in Isfahan Shahid Beheshti Hospital, Iran 1554
Amirmohammad Armanian MD, Majid Mohammadizadeh MD, Razieh Soleimani
- The Effect of Preoperative Anxiety on Hemodynamic Changes during Spinal Anesthesia in Patients Undergoing the surgery for Lumbar Disc Herniation 1563
Mohammadali Attari MD, Sepehr Eslami, Hassan Mahmoudzadeh, Mina Shakeri
- Comparing the Expression of Foxa1 and Foxa2 Genes in the Stomach in Men and Women 1573
Zahra Mohammadi, Parisa Mohamadynejad PhD, Mehdi Moghanibashi PhD
- Enhanced Intracellular Translocation of Gold Nanoparticles Functionalized with TAT Peptide into Cancer Cell Lines 1583
Sedigheh Khomehchian PhD, Saman Hosseinkhani PhD, Rasool Madani PhD, Maryam Nikkhab PhD

Review Article

- The Role of Transcription Factors in Regulating the Development and Differentiation of Neural Retina Cells 1596
Razieh Heidari MSc, Fatemeh Nazemroaya MSc, Majid Kheirollahi PhD



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و سوم، شماره (۳۵۱)، بهمن‌موم آبان ۱۳۹۴

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

E-mail: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مسئول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

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

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

وب سایت مجله:

امور نشر:

(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)

شرکت فرزانتگان راداندیش

اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵

تلفن و دورنگار: ۰۳۱-۳۶۶۸۶۳۰۲

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

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

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

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

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

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

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

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

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

۱۵۴۷.....اصفهان بهشتی شهید بیمارستان شهادت نارس کمتر از گرم در بیمارستان شهید بهشتی اصفهان.....
دکتر امیر محمد آرمانیان، دکتر مجید محمدی‌زاده، راضیه سلیمانی

۱۵۵۵.....فتق دیسک کمری.....
دکتر محمدعلی عطاری، سپهر اسلامی، حسین محمودزاده، مینا شاکری

۱۵۶۴.....مقایسه‌ی بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در مخاط معده‌ی مردان و زنان.....
زهرا محمدی، دکتر پریسا محمدی‌نژاد، دکتر مهدی مغنی‌باشی

۱۵۷۴.....افزایش نفوذ نانوذرات طلا به داخل رده‌های سلولی سرطانی بر اثر اتصال با پپتید TAT.....
دکتر صدیقه خامه‌چیان، دکتر سامان حسینخانی، دکتر رسول مدنی، مریم نیکخواه

مقاله مروری

۱۵۸۴.....نقش عوامل رونویسی در تنظیم توسعه و تمایز سلول‌های شبکه‌ی عصبی.....
راضیه حیدری، فاطمه ناظم رعایا، دکتر مجید خیراللهی

بررسی میزان بستری مجدد و میانگین مدت بستری نوزادان نارس کمتر از ۲۵۰۰ گرم در بیمارستان شهید بهشتی اصفهان

دکتر امیر محمد آرمانیان^۱، دکتر مجید محمدی زاده^۱، راضیه سلیمانی^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در بسیاری موارد، این نگرانی وجود دارد که شاید ترخیص نوزادان بر اساس توانایی کنترل دمای بدن در دمای اتاق، عدم بروز آپنه یا برادی کاردی و نیز افزایش وزن به دنبال شیر خوردن مناسب نباشد و لازم است سن حاملگی و وزن بدو تولد نوزاد نیز مد نظر باشد. همچنین میزان پذیرش مجدد این نوزادان نارس به بخش‌های نوزادان بالا باشد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین میزان بستری مجدد و میانگین مدت بستری نوزادان نارس کمتر از ۲۵۰۰ گرم بستری شده در بیمارستان شهید بهشتی اصفهان انجام شد.

روش‌ها: طی یک مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی، پرونده‌ی نوزادان نارس و با وزن کمتر از ۲۵۰۰ گرم بستری شده در بیمارستان شهید بهشتی اصفهان در فاصله‌ی سال‌های ۹۰-۱۳۸۹ بررسی شد و عوارض زودرسی نوزاد (Prematurity) مانند PDA (Retinopathy of prematurity)، ROP، (Patent ductus arteriosus) RDS، (Respiratory distress syndrome) CLD، (Chronic lung disease) IVH، (Intraventricular hemorrhage) NEC، (Necrotizing enterocolitis)، عفونت خون و نیاز به INSURE (Intubation, surfactant, extubation)، CPAP (Continuous positive airway pressure) یا تهویه‌ی مکانیکی و همچنین طول مدت بستری اولیه‌ی آن‌ها بررسی شد. به علاوه، ضمن تماس با والدین آن‌ها، وضعیت بستری مجدد این نوزادان مشخص گردید.

یافته‌ها: متوسط زمان بستری برای نوزادان VLBW (Very low birth-weight) (با وزن کمتر از ۱۵۰۰ گرم) ۲۲ روز و در نوزادان با وزن تولد ۲۵۰۰-۱۵۰۰ گرم ۸ روز و اختلاف دو گروه معنی‌دار بود ($P < 0/001$). ۷۶٪ نوزاد (۱۵/۳ درصد) در طول اولین سال تولدشان مجدد بستری شدند که زمان بستری در ۲۰ نوزاد (۲/۶ درصد) در سه ماهه‌ی دوم و در ۳ نوزاد (۰/۶ درصد) در سه ماهه‌ی سوم بود. میزان بستری مجدد در نوزادان VLBW، کمتر از نوزادان با وزن تولد بیشتر از ۱۵۰۰ گرم بود ($P = 0/040$). ۲۸ نوزاد (۱۹/۴ درصد) با سن حاملگی کمتر از ۳۱ هفته و ۴۸ نوزاد (۱۳/۶ درصد) با سن حاملگی بیشتر از ۳۱ هفته بستری مجدد داشتند ($P = 0/045$).

نتیجه‌گیری: به علت تقاضاهای مکرر برای پذیرش نوزادان نارس جدید و همچنین امکان بسیار کم پذیرش و بستری مجدد، طبق نتایج این مطالعه، پیشنهاد می‌گردد نوزادان با امکان کنترل دمای بدن در دمای اتاق، عدم بروز آپنه یا برادی کاردی و نیز افزایش وزن به دنبال شیر خوردن مناسب، ترخیص گردند و کمتر به سن حاملگی و یا وزن بدنشان توجه شود.

واژگان کلیدی: وزن موقع تولد، بستری مجدد، نارس

ارجاع: آرمانیان امیر محمد، محمدی زاده مجید، سلیمانی راضیه. بررسی میزان بستری مجدد و میانگین مدت بستری نوزادان نارس

کمتر از ۲۵۰۰ گرم در بیمارستان شهید بهشتی اصفهان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۱): ۱۵۵۴-۱۵۴۷

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

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

Email: soleimani.razie@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: راضیه سلیمانی

مقدمه

مطالعات نشان داده است در طی چند دهه‌ی گذشته، تعداد تولد نوزادان نارس افزایش یافته است (۱). برای مثال، در ژاپن در سال ۱۹۹۷ از کل تولدها ۷/۹ درصد وزن تولد کمتر از ۲۵۰۰ گرم، ۶ درصد وزن تولد کمتر از ۱۵۰۰ گرم و ۲ درصد وزن تولد کمتر از ۱۰۰۰ گرم داشته‌اند (۲). اما در سال ۲۰۰۷، تعداد تولد نوزادان نارس و پذیرش در واحدهای مراقبت ویژه‌ی نوزادان (NICU یا Neonatal intensive care unit) افزایش یافته است؛ به طوری که نسبت نوزادان با وزن تولد کمتر از ۲۵۰۰ گرم ۹/۶ درصد، با وزن کمتر از ۱۵۰۰ گرم، ۸ درصد و با وزن کمتر از ۱۰۰۰ گرم، ۳ درصد بود (۳).

در این شرایط، به نظر می‌رسد بسیاری از واحدهای NICU به علت تقاضاهای مکرر برای پذیرش نوزادهای نارس جدید و همچنین به علت مشکلات اقتصادی و استرس‌های وارد شده به نوزادان و والدین آن‌ها، گرایش به ترخیص زودتر دارند (۴-۷) و در همین راستا، در بعضی مطالعات، شرایط خاصی برای ترخیص زودهنگام نوزادان زودرس (Premature) تعریف شده است (۸).

گرچه توصیه‌ی کلی این است که به طور معمول ترخیص تا رشد کامل به تأخیر بیفتد (۹-۱۰)، اما در عین حال، گاهی به علت نارسی شدید نوزاد متولد شده، چاره‌ای جز اقامت طولانی مدت وی وجود ندارد. در مطالعه‌ی Schmitt و Phibbs مشاهده شد که با هر هفته کاهش در سن حاملگی، مدت بستری و هزینه‌های بیمارستانی افزایش می‌یابد (۱۱). از طرف دیگر، در مطالعه‌ای که در بیمارستان آکسفورد

انجام شد، مشخص گردید که اغلب پزشکان پذیرفته بودند وقتی که شیرخوار توانایی شیر خوردن بیابد، وزن‌گیری مناسب و ثبات تنفسی بدون آپنه و همچنین توانایی حفظ درجه‌ی حرارت بدن در محیط باز را داشته باشد، می‌تواند مرخص گردد. اما با وجود این اجماع کلی، مشخص شد که مدت اقامت در بیمارستان‌ها متنوع و به طور متوسط برای کودکان با وزن هنگام تولد کمتر از ۱۵۰۰ گرم، بین ۸۰-۴۰ روز متفاوت است و این تفاوت، به سن حاملگی موقع تولد و همچنین، بروز بعضی عوارض زودرسی نوزاد مانند (Chronic lung disease) CLD و NEC (Necrotizing enterocolitis) و یا بروز عفونت خون (Sepsis) نوزادی مربوط است. به هر حال، تمایل کلی به ترخیص زودتر بود (۷).

در مطالعه‌ی دیگری، Brooten و همکاران نتیجه‌گیری کردند که ترخیص زودرس نوزادان نارس (Very low birth weight) VLBW، با پی‌گیری و مراقبت در منزل توسط پرستار با تجربه، امن و مقرون به صرفه است (۸).

Altman و همکاران، در مطالعه‌ی خود نشان دادند که طول مدت بستری نوزادان با سن حاملگی ۳۰-۳۴ هفته، از 11 ± 28 روز در سال ۱۹۸۳ به 7 ± 14 روز در سال ۲۰۰۲ کاهش یافته است و در نهایت، نتیجه‌گیری کردند که اقامت کوتاه‌تر در بیمارستان‌ها به نفع خانواده است، از ازدحام بیش از حد در واحدهای NICU جلوگیری می‌کند و همچنین، پیامدهای اقتصادی مثبت مهمی دارد (۶).

در عین حال، در برخی مطالعات مانند مطالعه‌ی بزرگ Underwood و همکاران در دانشگاه کالیفرنیا مشخص شده است که احتمال بستری مجدد نوزادان

بیمار و امکان تماس با خانواده جهت رفع نواقص بود. همچنین، وجود ناهنجاریهای شدید مادرزادی و تأخیر ترخیص به علت نیاز به همزمانی ترخیص با قلبهای دیگر (در موارد چندقلویی) به عنوان معیار خروج از مطالعه در نظر گرفته شد.

روش نمونه‌گیری به شیوه‌ی سرشماری بود. تمامی نوزادان نارس بستری شده با وزن کمتر از ۲۵۰۰ گرم از ابتدای سال ۱۳۸۹ تا انتهای سال ۱۳۹۰ (۵۱۰ نوزاد)، مورد بررسی قرار گرفتند.

روش کار بدین صورت بود که پس از تصویب پیش‌نویس طرح پژوهشی و انجام هماهنگی‌های لازم با مسؤولین مربوط، پرونده‌ی نوزادان نارس دارای معیارهای ورود به مطالعه از واحد مدارک پزشکی دریافت شد و ضمن مطالعه‌ی آنها، عوارض زودرسی نوزاد (۱۷-۱۳) مانند Retinopathy of prematurity (ROP)، Patent ductus arteriosus (PDA)، Respiratory distress syndrome (RDS)، CLD، Intraventricular haemorrhage (IVH)، NEC و عفونت خون و همچنین، نیاز به INSURE (Intubation, surfactant, extubation) و NCPAP یا (Nasal Continuous positive airway pressure) یا تهویه‌ی مکانیکی و همچنین طول مدت بستری اولیه‌ی آنها بررسی و در فرم جمع‌آوری اطلاعات ثبت شد. موارد بستری مجدد نوزادان در بیمارستان نیز از پرونده استخراج و در این فرم ثبت گردید. در صورت عدم وجود اطلاعات کافی، ضمن تماس با والدین، بستری مجدد و طول مدت بستری مجدد این نوزادان مشخص گردید.

در این مطالعه، بیماران بر حسب وزن موقع تولد به دو گروه با وزن کمتر از ۲۵۰۰ (LBW) یا

زودرس در طی سال اول تولد، تنها حدود ۱۵ درصد می‌باشد (البته این میزان در نوزادان کمتر از ۲۵ هفته به ۳۱ درصد می‌رسد) (۱۲). به همین علت، بر اساس مطالعات مختلفی که در این زمینه صورت گرفته است و به علت مواجهه با حجم بالای درخواست پذیرش نوزادان نارس و از طرفی، احتمال بستری مجدد نه چندان بالای آنها در واحدهای NICU (۱۲)، سعی بر این است که نوزادان نارس که توانایی کنترل درجه‌ی حرارت بدن خود را در دمای اتاق یافته‌اند و دچار آپنه یا برادی‌کاردی اخیر نشده‌اند و همچنین در حال افزایش وزن با شیردهی هستند، مرخص شوند و کمتر به سن حاملگی و یا وزن بدنشان توجه شود.

از سوی دیگر، در بسیاری از مراکز این نگرانی وجود دارد که شاید شرایط پیش‌گفته برای ترخیص نوزاد کافی نباشد و میزان پذیرش مجدد نوزادان نارس در بخش‌های نوزادان، افزایش یابد (۱). از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین میانگین طول مدت بستری نوزادان نارس کمتر از ۲۵۰۰ گرم در بیمارستان شهید بهشتی اصفهان طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۹ و میزان بستری مجدد آنها به انجام رسید.

روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه‌ی مقطعی بود که در سال ۱۳۹۳ در بیمارستان شهید بهشتی اصفهان به انجام رسید. جامعه‌ی آماری مورد مطالعه، نوزادان نارس متولد شده در این بیمارستان یا ارجاع شده به این بیمارستان بودند که طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۹ در این بیمارستان بستری شده بودند.

معیارهای ورود به مطالعه، شامل نارسی نوزاد و وزن کمتر از ۲۵۰۰ گرم، در دسترس بودن پرونده‌ی

هفته بود؛ ۱۴۴ نفر (۲۹/۰۹ درصد) دارای سن حاملگی کمتر از ۳۱ هفته و ۳۵۳ نفر (۷۱/۳۱ درصد) دارای سن حاملگی ۳۱ هفته و بیشتر بودند. ۱۵۵ نوزاد (۲۳/۱ درصد) آپگار دقیقه ۵ کمتر از ۶ و ۱۵ نوزاد (معادل ۳ درصد) آپگار دقیقه ۱۰ کمتر از ۶ داشتند.

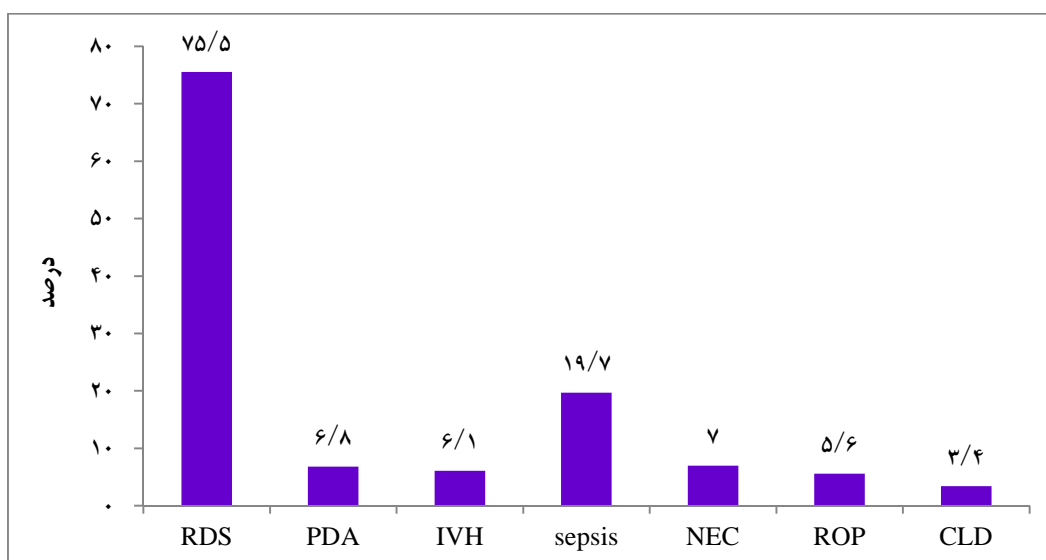
۳۷۵ نوزاد RDS داشتند که ۳۴۰ مورد از طریق NCPAP درمان شدند. ۲۶۶ نوزاد سورفاکتانت دریافت کردند و تنها ۳۸ نوزاد به تهویه مکانیکی نیاز داشتند. ۳۴ نوزاد PDA و ۳۱ نوزاد IVH داشتند. ۹۸ نوزاد عفونت خون و ۳۵ نوزاد NCE داشتند که تحت درمان قرار گرفتند. ۲۸ نوزاد ROP و ۱۷ نوزاد نیز CLD داشتند (شکل ۱).

متوسط زمان بستری همه‌ی نوزادان 2 ± 10 روز بود. از سوی دیگر، متوسط زمان بستری نوزادان VLBW $3/5 \pm 22/0$ و در نوزادان با وزن تولد ۲۵۰۰-۱۵۰۰ گرم، $1/3 \pm 8/0$ روز بود و تفاوت زمان بستری دو گروه، معنی‌دار بود ($P < 0/001$).

(Low birth weight) و وزن کمتر از ۱۵۰۰ گرم (VLBW) تقسیم شدند و برخی متغیرهای مورد مطالعه از جمله مدت زمان بستری بین این دو گروه مورد مقایسه قرار گرفت. داده‌های به دست آمده، در پایان وارد نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ (version 22, SPSS Inc., Chicago, IL) شد و با استفاده از آزمون‌های آماری χ^2 و t مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

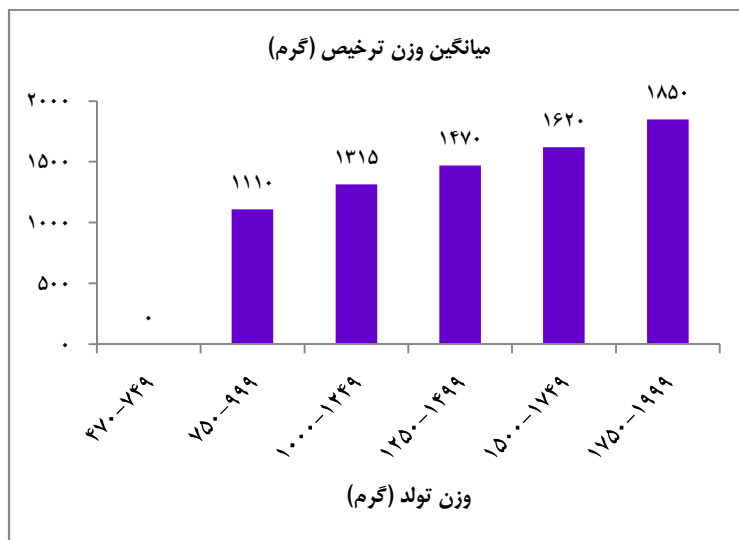
یافته‌ها

در این مطالعه، ۴۹۵ نوزاد مورد مطالعه قرار گرفتند. میانگین وزن موقع تولد نوزادان $489/70 \pm 16/1697$ گرم با دامنه‌ی ۲۵۰۰-۴۷۰ گرم بود. ۱۷۲ نفر (۳۴/۷۰ درصد) از نوزادان دارای وزن موقع تولد کمتر از ۱۵۰۰ گرم و ۳۲۵ نفر (۶۵/۲۵ درصد) دارای وزن ۱۵۰۰ گرم و بیشتر بودند. میانگین سن حاملگی در نوزادان $32/06 \pm 2/88$ هفته با دامنه‌ی ۲۴-۳۶



شکل ۱. درصد فراوانی علل بستری نوزادان مورد مطالعه

RDS: Respiratory distress syndrome; PDA: Patent ductus arteriosus; IVH: Intra ventricular haemorrhage; NEC: Necrotising enterocolitis; ROP: Retinopathy of prematurity; CLD: Chronic lung disease



شکل ۲. میانگین وزن ترخیص بر حسب وزن موقع تولد

قلب (۵/۲۶ درصد)، آسپیراسیون ریوی (۳/۹۴ درصد) و عفونت‌های ادراری (۱/۳۱ درصد) علل بستری مجدد در طول اولین سال تولد این نوزادان بود.

متوسط سن نوزادان در زمان بستری مجدد در سه ماهه اول تولد ۳۰ روز (۷-۸۷) و از سه تا دوازده ماهگی، ۶ ماه بود. نوزادان نارس با سن حاملگی ۲۶-۲۴ هفته فوت شدند و ۹/۵ درصد آن‌ها در طول اولین سال تولدشان بستری مجدد داشتند. شکل ۳ به وضعیت درصد بستری مجدد نوزادان بر حسب وزن موقع تولد پرداخته است.

از میان ۱۱۵ نوزادی که آپگار دقیقه‌ی ۵ کمتر از ۶ داشتند، ۲۳ نوزاد (۲۰ درصد) بستری مجدد شدند. نوزادانی که آپگار دقیقه‌ی ۵ کمتر از ۶۰ داشتند، مکرر بستری می‌شدند ($P = 0/040$). آپگار دقیقه‌ی ۱۰ کمتر از ۶، بر میزان بستری مجدد تأثیری نداشت. در این مطالعه، جنس، تأثیر چشمگیری بر میزان بستری مجدد داشت؛ به طوری که میزان بستری مجدد در پسران (۴۸ نوزاد، ۱۸/۸ درصد) بیشتر از دختران (۲۸ دختر، ۱۱/۶ درصد) بود ($P = 0/030$).

متوسط وزن ترخیص همه‌ی نوزادان، برابر با 1770 ± 540 گرم (۳۰۰-۴۷۰۰ گرم) و متوسط وزن ترخیص نوزادان VLBW، $1400/0 \pm 348/5$ گرم (۲۸۹۰-۴۷۰۰ گرم) بود. در شکل ۲، متوسط وزن نوزادان در هنگام ترخیص بر حسب وزن موقع تولد آمده است.

۷۶ نوزاد (۱۵/۳ درصد) در طول اولین سال تولدشان مجدد بستری شدند که بستری مجدد در ۲۰ نوزاد (۲/۶ درصد) در سه ماهه‌ی دوم و ۳ نوزاد (۰/۶ درصد) در سه ماهه‌ی سوم بود و فراوانی بستری مجدد در نوزادان با وزن کمتر از ۱۵۰۰ گرم به طور چشمگیری کمتر از نوزادان با وزن تولد بیشتر از ۱۵۰۰ گرم بود ($P = 0/040$). ۲۸ نوزاد (۱۹/۴ درصد) با سن حاملگی کمتر از ۳۱ هفته و ۴۸ نوزاد (۱۳/۶ درصد) با سن حاملگی بیشتر از ۳۱ هفته بستری مجدد داشتند و اختلاف دو گروه معنی‌دار بود ($P = 0/045$).

از بین علل بستری، پنومونی (۳۲/۸۹ درصد)، ایکنتر (۱۷/۱۰ درصد)، ROP (۱۰/۵۲ درصد)، عفونت خون (۹/۲۰ درصد)، تشنج (۷/۸۹ درصد)، جراحی

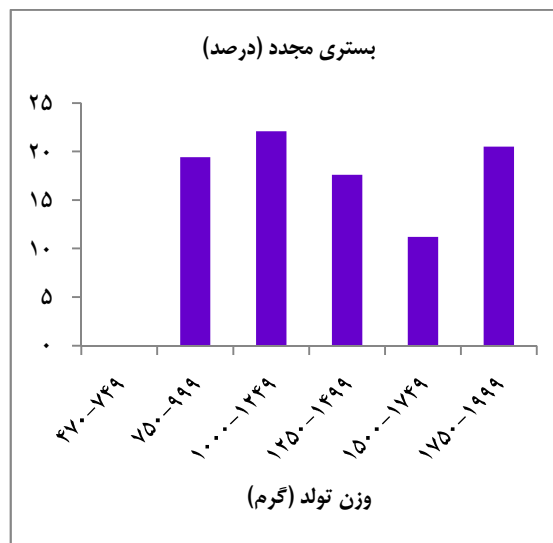
به بستری مجدد پیدا نکرد (۲۰). از طرفی، Smith و همکاران در مطالعه‌ای ثابت کردند که آپگار دقیقه‌ی ۵ کمتر از ۶، تأثیری بر میزان بستری مجدد نوزادان نارس ندارد ($P = 0.320$)؛ در حالی که در مطالعه‌ی حاضر، آپگار دقیقه‌ی ۵ کمتر از ۶، موجب افزایش میزان بستری مجدد نوزادان نارس شده است (۲۱).

در مطالعه‌ی حاضر، مدت زمان بستری با سن حاملگی رابطه‌ی معکوس داشت. میانگین زمان بستری نوزادان با سن حاملگی ۲۸-۲۶ هفته، ۴۲ روز (۲-۷۵ روز) و در نوزادان با سن حاملگی ۳۲-۳۴ هفته، ۸ روز (۱-۳۳ روز) بود. در برخی مطالعات، تأثیر جنس بر میزان بستری مجدد بررسی شده است. به عنوان مثال، Smith و همکاران گزارش کردند که نوزادان دختر کمتر از نوزادان پسر در طول اولین سال زندگی بستری مجدد داشته‌اند (۴۸ نوزاد پسر معادل ۱۸/۸ درصد و ۲۸ نوزاد دختر معادل ۱/۶ درصد) (۲۱). نقطه‌ی قوت این مطالعه، حجم زیاد نمونه و محدودیت آن، دشواری بازیابی حجم زیادی از اطلاعات در رابطه با این حجم نمونه بود.

نتیجه‌گیری نهایی این که به علت تقاضاهای مکرر برای پذیرش نوزادان نارس جدید و همچنین امکان بسیار کم پذیرش و بستری مجدد، ثابت شد که نوزادان نارس که توانایی کنترل درجه‌ی حرارت بدن خود را در درمای اتاق یافته‌اند، دچار آپنه یا برادی‌کاردی نشده‌اند و همچنین، در حال افزایش وزن با شیردهی هستند، مرخص شوند و کمتر به سن حاملگی و یا وزن بدن توجه شود.

تشریح و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای



شکل ۳. درصد بستری مجدد نوزادان بر حسب وزن موقع تولد

بحث

از ۴۹۵ نوزادی که در این مطالعه بررسی شدند، ۱۵/۳ درصد از نوزادان در طول اولین سال تولدشان بستری مجدد داشتند. Seki و همکاران گزارش کردند که ۷/۴ درصد از نوزادان با سن حاملگی ۲۶-۳۴ هفته در طول اولین سال تولدشان بستری مجدد شدند (۱). به نظر می‌رسد که هر چه سن حاملگی و وزن زمان تولد بیشتر باشد، میزان بستری مجدد نوزادان کمتر است. احمدپور کچو و همکاران، طی یک مطالعه گزارش کردند که ۱۵ درصد از نوزادان با وزن تولد کمتر از ۱۵۰۰ گرم، در طول اولین سال تولدشان نیاز به بستری مجدد داشته‌اند (۱۸).

نتایج مطالعه‌ی Underwood و همکاران نشان داد که میزان بستری مجدد در نوزادان با سن حاملگی ۲۹ هفته، ۲۷ درصد بود اما در مطالعه‌ی Tomashek و همکاران در نوزادان با سن حاملگی ۳۴-۳۶ هفته، ۴/۳ درصد بوده است (۱۹). در یک طرح ترخیص زودرس نوزادان نارس با استفاده از لوله بینی-معدی توسط Bathie و همکاران، هیچ نوزادی نیاز

کارکنان محترم بخش NICU بیمارستان شهید بهشتی اصفهان به انجام رسید. نویسندگان مقاله از زحمات بی دریغ ایشان، سپاسگزاری می نمایند.

راضیه سلیمانی به شماره‌ی ۳۹۲۲۲۱ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است که در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی به تصویب رسید و با حمایت و پشتیبانی این معاونت و نیز همکاری

References

1. Seki K, Iwasaki S, An H, Horiguchi H, Mori M, Nishimaki S, et al. Early discharge from a neonatal intensive care unit and rates of readmission. *Pediatr Int* 2011; 53(1): 7-12.
2. Health and Welfare and Statistics Association. Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Vital statistics. Tokyo, Japan: Health and Welfare and Statistics Association; 1997.
3. Health and Welfare and Statistics Association. Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Vital statistics. Tokyo, Japan: Health and Welfare and Statistics Association; 2007.
4. Kotagal UR, Perlstein PH, Gamblian V, Donovan EF, Atherton HD. Description and evaluation of a program for the early discharge of infants from a neonatal intensive care unit. *J Pediatr* 1995; 127(2): 285-90.
5. Merritt TA, Pillers D, Prows SL. Early NICU discharge of very low birth weight infants: a critical review and analysis. *Semin Neonatol* 2003; 8(2): 95-115.
6. Altman M, Vanpee M, Bendito A, Norman M. Shorter hospital stay for moderately preterm infants. *Acta Paediatr* 2006; 95(10): 1228-33.
7. Rose C, Ramsay L, Leaf A. Strategies for getting preterm infants home earlier. *Arch Dis Child* 2008; 93(4): 271-3.
8. Brooten D, Kumar S, Brown LP, Butts P, Finkler SA, Bakewell-Sachs S, et al. A randomized clinical trial of early hospital discharge and home follow-up of very-low-birth-weight infants. *NLN Publ* 1987; (21-2194): 95-106.
9. Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC. Fanaroff and Martin's neonatal-perinatal medicine: Diseases of the fetus and infant. 9th ed. Philadelphia, PA: Mosby; 2010.
10. Cruz H, Guzman N, Rosales M, Bastidas J, Garcia J, Hurtado I, et al. Early hospital discharge of preterm very low birth weight infants. *J Perinatol* 1997; 17(1): 29-32.
11. Phibbs CS, Schmitt SK. Estimates of the cost and length of stay changes that can be attributed to one-week increases in gestational age for premature infants. *Early Hum Dev* 2006; 82(2): 85-95.
12. Underwood MA, Danielsen B, Gilbert WM. Cost, causes and rates of rehospitalization of preterm infants. *J Perinatol* 2007; 27(10): 614-9.
13. Kero PO, Makinen EO. Comparison between clinical and radiological classification of infants with the respiratory distress syndrome (RDS). *Eur J Pediatr* 1979; 130(4): 271-8.
14. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163(7): 1723-9.
15. Walsh MC, Kliegman RM. Necrotizing enterocolitis: treatment based on staging criteria. *Pediatr Clin North Am* 1986; 33(1): 179-201.
16. Armanian AM, Kazempour S, Mirbod SM, Hassanzade A. Comparison of prolonged low volume milk and routine volume milk on incidence of necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *Pak J Med Sci* 2013; 29(1 Suppl): 312-6.
17. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr* 1978; 92(4): 529-34.
18. Ahmadpour-Kacho M, Pasha YZ, Aliabadi BM. Outcomes of very-low-birthweight infants after discharge with a discharge weight of 1500 grams. *Pediatr Int* 2012; 54(2): 196-9.
19. Tomashek KM, Shapiro-Mendoza CK, Weiss J, Kotelchuck M, Barfield W, Evans S, et al. Early discharge among late preterm and term newborns and risk of neonatal morbidity. *Semin Perinatol* 2006; 30(2): 61-8.
20. Bathie J, Shaw J. Early discharge home from the neonatal unit with the support of nasogastric tube feeding. *J Neonatal Nurs* 2013; 19(4): 213-6.
21. Smith VC, Zupancic JAF, McCormick MC, Croen LA, Greene J, Escobar GJ, et al. Rehospitalization in the first year of life among infants with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 144(6): 799-803.

The Rehospitalization Rates of Low-Birth-Weight Infants in Isfahan Shahid Beheshti Hospital, Iran

Amirmohammad Armanian MD¹, Majid Mohammadizadeh MD¹, Razieh Soleimani²

Original Article

Abstract

Background: Gradually over time, the number of premature deliveries has increased. In these circumstances, many neonatal intensive care units (NICUs) show a tendency towards early discharge due to frequent requests for admission of new premature newborns.

Methods: In a descriptive-analytical study, we retrospectively surveyed the premature infants' files for gestational age (GA), birth weight (BW), and the duration of the first hospitalization during 2010-2011. Furthermore, the readmission rate during the first year of life and causes were identified.

Findings: During the study period, 495 infants were enrolled. The ranges of gestational age and birth weight of infants who were admitted in neonatal intensive care unit were 24-36 weeks and 470-2500 g, respectively. 172 (34.74%) infants had a birth weight of less than 1500 g (very low birth weight or VLBW); and 144 of them (29.09%) were severely premature (gestational age of 24-31 weeks). The median (range) time of hospitalization in VLBW infants was 22 days (1-75). 67 (15.3%) infants were rehospitalized during the first year of life. Only 32 (6.4%) of all infants were readmitted during the first three months of life. Pneumonia (32.89%), icter (17.10%), treatment of retinopathy of prematurity (ROP) (10.52%) and sepsis (9.20%) were the four most common causes of rehospitalization during the first year of life.

Conclusion: Due to the high rate of reception requests for premature newborns and the low possibility for readmission, this research suggested that premature neonates who could have controlled body temperature at room temperature, with no recent apnea or bradycardia and with weight increasing via feeding, could be discharged regardless of gestational age and body weight.

Keywords: Neonatal intensive care, Prematurity, Infant, Early discharge home, Feeding

Citation: Armanian A, Mohammadizadeh M, Soleimani R. **The Rehospitalization Rates of Low-Birth-Weight Infants in Isfahan Shahid Beheshti Hospital, Iran.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(351): 1547-54

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

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

Corresponding Author: Razieh Soleimani, Email: soleimani.razieh@yahoo.com

بررسی تأثیر شدت اضطراب بیماران قبل از عمل بر روی تغییرات همودینامیک در حین عمل با بی‌حسی نخاعی در بیماران تحت عمل جراحی فتق دیسک کمری

دکتر محمدعلی عطاری^۱، سپهر اسلامی^۲، حسین محمودزاده^۳، مینا شاکری^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اضطراب یکی از مشکلات شایع در بیماران تحت عمل جراحی محسوب می‌گردد که در صورت شدت بالا و عدم اقدامات کنترلی قبل از عمل جراحی، می‌تواند منجر به بروز عوارض ناخواسته مانند افت فشار خون و تاکی‌کاردی گردد. از آن جایی که بیماران تحت عمل جراحی به روش بی‌حسی نخاعی نیز با افت فشار خون مواجه می‌گردند، این مطالعه با هدف تعیین تأثیر شدت اضطراب بیماران قبل از عمل بر روی تغییرات همودینامیک در حین عمل جراحی فتق دیسک کمری به روش بی‌حسی نخاعی به انجام رسید.

روش‌ها: در این مطالعه، ۱۰۰ بیمار کاندیدای عمل جراحی فتق دیسک بین مهره‌ای انتخاب شدند و شدت اضطراب آن‌ها قبل و حین عمل با استفاده از پرسش‌نامه‌ی Zung (Zung Anxiety Status Inventory یا ASI) و همچنین، فشار خون بیماران در قبل و حین عمل اندازه‌گیری شد و همبستگی بین سطح اضطراب و فشار خون مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین نمره‌ی اضطراب Zung در بیماران مورد مطالعه $14/40 \pm 54/64$ بود. ۲۴، ۴۲، ۲۳ و ۱۱ درصد بیماران به ترتیب دارای سطح اضطراب خفیف، متوسط، شدید و خیلی شدید بودند. بیماران دارای اضطراب خفیف، متوسط و شدید، با افت معنی‌دار فشار خون سیستول، دیاستول و متوسط شریانی و همچنین کاهش ضربان قلب مواجه شدند. اما در بیماران دچار اضطراب خیلی شدید، فشار خون و ضربان قلب در دقیقه‌ی ۳۰ نسبت به قبل عمل، اختلاف معنی‌دار پیدا نکرد.

نتیجه‌گیری: شدت اضطراب بیماران در قبل و حین عمل، از عوامل مؤثر بر تغییرات فشار خون و ضربان قلب، به ویژه افت فشار خون بیماران می‌باشد. لازم است نسبت به کاهش شدت اضطراب در بیماران تحت عمل جراحی، به ویژه جراحی‌های همراه با بی‌حسی نخاعی اقدام نمود.

واژگان کلیدی: اضطراب، فشار خون، بی‌حسی نخاعی

ارجاع: عطاری محمدعلی، اسلامی سپهر، محمودزاده حسین، شاکری مینا. بررسی تأثیر شدت اضطراب بیماران قبل از عمل بر روی تغییرات همودینامیک در حین عمل با بی‌حسی نخاعی در بیماران تحت عمل جراحی فتق دیسک کمری. مجله دانشکده پزشکی

اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۱): ۱۵۵۵-۱۵۶۳

عفونت مانند ورم چرکی مهره‌ها (مراحل اولیه یا پیشرفته با ناپایداری نخاع، درد و مشکلات عصبی)، سرطان یا غده‌ها، بیماری‌های مادرزادی و ناشناخته مانند اسکولیوز و بیماری‌های از بین برنده‌ی بافت،

مقدمه

جراحی ستون فقرات در برگیرنده‌ی انواع مختلفی از اعمال جراحی است. بیماران اغلب با یکی از پنج علت تروما مانند شکستگی استخوان‌های مهره،

۱- استاد، گروه بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۳- دانشجوی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف‌آباد، اصفهان، ایران

فعالیت سیستم سمپاتیک می‌شود (۷-۱۰). در مطالعه‌ی Caton و Frolich ضربان قلب اولیه، پیش‌بینی‌کننده‌ی افت فشار خون بعد از بی‌حسی نخاعی بوده است (۱۱). Orbach-Zinger و همکاران، اثر اضطراب قبل از عمل روی افت فشار خون بعد از بی‌حسی نخاعی را بررسی کردند. آنان، ۱۰۰ بیمار تحت عمل جراحی سزارین به روش بی‌حسی نخاعی را به ۳ گروه با درجه‌ی اضطراب قبل از عمل شدید، متوسط و کم تقسیم‌بندی نمودند و اثر بارزی از اضطراب، روی افت فشار بعد از بی‌حسی نخاعی را مشاهده کردند (۱۲).

در عمل جراحی فتق دیسک مهره‌ای که اعصاب تحت فشار می‌باشند، افت فشار بعد از بی‌حسی نخاعی علاوه بر عوارض پیش‌گفته، می‌تواند باعث ایسکمی عصبی شود و از این رو، شناخت عوامل مؤثر بر این کاهش، می‌تواند در پیش‌گیری از آن کمک‌کننده باشد. از این رو، با توجه به این که تا کنون مطالعه‌ای در این زمینه در داخل کشور انجام نشده، پژوهش حاضر با هدف تعیین تأثیر اضطراب بر تغییرات همودینامیک حین عمل فتق دیسک کمری بعد از بی‌حسی نخاعی به انجام رسید.

روش‌ها

این مطالعه، یک پژوهش توصیفی-تحلیلی بود که در سال‌های ۹۳-۱۳۹۲ در مرکز آموزشی-درمانی الزهرای (س) اصفهان انجام گرفت. جامعه‌ی هدف مطالعه، بیماران کاندیدای عمل جراحی فتق دیسک کمری تحت بی‌حسی نخاعی در این مرکز بودند. معیارهای ورود به مطالعه، شامل بیمار کاندیدای عمل جراحی فتق دیسک کمری به روش بی‌حسی

تحت عمل جراحی قرار می‌گیرند (۱). اعمال جراحی ستون فقرات، دارای شیوع بالایی است؛ به طوری که هر ساله بیش از ۹۰۰۰۰۰ بیمار در ایالات متحده‌ی آمریکا تحت جراحی ستون فقرات قرار می‌گیرند (۲). هر دو روش بی‌هوشی کامل و بی‌حسی نخاعی برای اعمال جراحی ستون فقرات به کار گرفته می‌شوند. اگر چه بی‌هوشی کامل، روشی بسیار متداول است و بسیاری از جراحان به دلیل رجحان بیماران و یا در اختیار داشتن زمان طولانی‌تر برای انجام عمل جراحی، این روش را انتخاب می‌کنند، اما بی‌حسی نخاعی روش علمی‌تری است که با کاهش میزان از دست رفتن خون و ناپایداری همودینامیک همراه است. در این روش، به دلیل کاهش فشار سرخرگ‌های محیطی، مزایایی وجود دارد که با کاهش ضایعات و مشکلات ریوی ناشی از بی‌هوشی کامل، همراه است (۳). با این وجود یکی از عوارض جانبی عمل جراحی به روش بی‌حسی نخاعی، فشار خون پایین است که در حدود ۸۳ درصد بیماران تحت عمل با این روش دیده می‌شود (۴-۵) و اگر چه بروز آن بستگی به تعریف فشار خون پایین دارد، اما از آن جایی که این عارضه می‌تواند سبب ایسکمی مغزی-قلبی و یا عوارض مغزی و قلبی شود، شناسایی عوامل مؤثر و یا تشدیدکننده‌ی آن، به نظر ضروری می‌رسد.

مکانیسم اصلی کاهش فشار خون در عمل جراحی به روش بی‌حسی نخاعی، بلوکه شدن اعصاب سمپاتیک است. از این جهت، بیماران با فعالیت بالاتر اعصاب سمپاتیک با کاهش بیشتر فشار خون بعد از بی‌حسی نخاعی مواجه می‌شوند (۶). اضطراب، یکی از عواملی است که باعث افزایش

مضطرب به صورت مشروح ضبط گردیده است؛ سپس، از تک تک موارد طرح شده در ساخت آزمون استفاده شده است. ملاک‌های تشخیصی SAS (Sensitivity and specificity) دارای ۵ نشانه‌ی عاطفی و ۱۵ نشانه‌ی بدنی است.

امتیاز این پرسش‌نامه نسبت به مقیاس‌های مشابه در این است که مراجع کمتر می‌تواند شیوه‌ی خاصی را در جواب‌هایش دنبال کند؛ چرا که از ۲۰ سؤال استفاده شده در مقیاس، تعدادی از سؤالات (۱۶ سؤال) بر نشانگان مثبت و برخی دیگر (۴ سؤال) بر نشانگان منفی تأکید دارد (سؤالات ۵، ۹، ۱۳، ۱۹). برای آن که پاسخگو جواب‌های علامت زده‌ی خود را مورد تجدید نظر قرار ندهد، به جای پاسخ‌های بلی و خیر (که در اکثر پرسش‌نامه‌ها رایج است) از ستون‌های هیچ گاه یا به ندرت، گهگاه، بیشتر اوقات و دایم یا تقریباً همیشه استفاده شده است. این پرسش‌نامه، به گونه‌ای ساخته شده است که افرادی که اضطراب کمتری دارند، نمره‌ی کمتر و آن‌هایی که اضطراب بیشتری دارند، نمره‌ی بالاتری را در این مقیاس دریافت می‌کنند.

در موقع نمره‌گذاری، با توجه به نوع سؤال، اگر مثبت باشد، به هیچ گاه، ۱ نمره و به بقیه به ترتیب ۲، ۳ و ۴ نمره اختصاص می‌یابد، اما اگر سؤال منفی بود، بر عکس به دایم یا تقریباً همیشه ۱ نمره و به هیچ گاه ۴ اختصاص می‌یابد. حد اکثر نمره‌ی ممکن در این مقیاس، ۸۰ است و نمره‌ی هر آزمودنی برابر مجموع نمرات یا کل ارزش‌های به دست آمده از هر یک از سؤالات است و میزان اضطراب هر پاسخگو از نمره‌ی به دست آمده تقسیم بر ۸۰ ضربدر ۱۰۰ به دست می‌آید. برابر نمره‌ی به دست آمده، امتیاز

نخاعی، دامنه‌ی سنی ۶۵-۲۰ سال، عدم وجود بیماری زمینه‌ای اعم از بیماری‌های قلبی، فشار خون و دیابت، عدم اختلالات روانی و سوء مصرف مواد، عدم استفاده از داروهای مؤثر بر همودینامیک قبل از عمل جراحی و موافقت بیمار برای شرکت در مطالعه بود. همچنین، بروز آریتمی حین عمل، استفاده از داروهای مؤثر بر قلب و عروق (به استثنای افدرین) در حین عمل، استفاده از داروی آرام‌بخش اضافی در حین عمل و تغییر در تکنیک بیهوشی حین عمل، به عنوان معیارهای خروج از مطالعه در نظر گرفته شد.

حجم نمونه‌ی مورد نیاز این مطالعه با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مطالعات شیوع و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، شیوع اضطراب در بیماران تحت بی‌حسی نخاعی که معدل ۰/۵ در نظر گرفته شده و همچنین پذیرش میزان خطای ۰/۱، به تعداد ۹۶ بیمار برآورد گردید که جهت اطمینان بیشتر، ۱۰۰ بیمار مورد مطالعه قرار گرفتند.

روش کار بدین صورت بود که بیماران کاندیدای جراحی فتق دیسک کمری با بی‌حسی نخاعی، پس از اخذ رضایت آگاهانه وارد مطالعه شدند و میزان اضطراب بیماران، نبض و فشار خون در قسمت پذیرش اتاق عمل در حالی که در انتظار نوبت بودند، مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. جهت تعیین اضطراب بیماران از پرسش‌نامه‌ی اضطراب Zung استفاده گردید. این پرسش‌نامه، دارای ۲۰ سؤال چهار گزینه‌ای است و بر مبنای نشانگان بدنی - عاطفی اضطراب تهیه شده است. به منظور ساختن این مقیاس، از ملاک‌های تشخیصی استفاده شده است که با شایع‌ترین ویژگی‌های اختلال اضطرابی مطابق و هماهنگ بودند؛ یعنی مصاحبه‌های بالینی مراجعین

داده‌های به دست آمده در نهایت وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, SPSS Inc., Chicago, IL) شد و با استفاده از آزمون‌های آماری t Paired، Repeated measures و One-way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۰۰ بیمار تحت عمل جراحی فتق دیسک بین مهره‌ای با بی‌حسی نخاعی با میانگین سنی $34/8 \pm 3/9$ سال وارد مطالعه شدند. ۴۸ نفر از بیماران مرد و ۵۲ نفر زن بودند. میانگین سن مردان و زنان به ترتیب $33/3 \pm 3/5$ و $34/3 \pm 4/3$ سال بود و اختلاف معنی‌داری بین دو جنس مشاهده نشد ($P = 0/340$). میانگین شاخص BMI (Body mass index) بیماران $23/3 \pm 3/3$ kg/m² بود.

میانگین نمره‌ی اضطراب در بیماران مورد مطالعه، $14/40 \pm 54/64$ با دامنه‌ی ۸۰-۲۶ بود و بر حسب آن، ۲۴ نفر (۲۴ درصد) دارای سطح اضطراب خفیف، ۴۲ نفر (۴۲ درصد) دارای اضطراب متوسط، ۲۳ نفر (۲۳ درصد) دارای اضطراب شدید و ۱۱ نفر (۱۱ درصد) دارای اضطراب خیلی شدید بودند.

در جدول ۱، میانگین و انحراف معیار فشار خون بیماران بر حسب شدت اضطراب آمده است. بر حسب آزمون One-way ANOVA، میانگین فشار خون سیستول، دیاستول و متوسط شریانی و نیز ضربان قلب بر حسب شدت اضطراب اختلاف معنی‌دار داشت؛ به طوری که با افزایش شدت اضطراب، فشار خون سیستول، دیاستول، متوسط شریانی و ضربان قلب نیز افزایش می‌یافت. از طرف دیگر، انجام آزمون Paired t بر روی

۴۴-۲۵ به عنوان طیف طبیعی، ۴۵-۵۹ اضطراب متوسط و نمرات ۷۵ و بالاتر، به عنوان اضطراب شدید در نظر گرفته می‌شود. طبق مطالعه‌ی کرمی، ضریب پایایی نسخه‌ی فارسی شده‌ی این پرسش‌نامه، ۰/۸۴ بوده است (۱۳).

قبل از انتقال بیمار به تخت عمل، ۱ mg میدازولام تزریق شد و پس از انتقال بیمار به تخت عمل، بار دیگر میزان اضطراب بیمار، فشار خون و نبض، ارزیابی و ثبت شد. تمام بیماران قبل از انجام بی‌حسی، ۷ cc/kg نرمال سالین به عنوان Preload و همچنین، ۵ mg فنتانیل به عنوان آرام‌بخش قبل از بی‌حسی نخاعی دریافت کردند.

بیماران با سوزن اسپینال ۲۵ در سطح L_۳-L_۴ تحت بی‌حسی نخاعی قرار گرفتند. داروی مورد استفاده، بوپیواکائین هایپرباریک ۰/۵ درصد به مقدار ۲-۳ cc به اضافه‌ی ۲۵ μg فنتانیل بود. بعد از انجام بی‌حسی نخاعی، سر بیمار ۵-۱۰ درجه در وضعیت Trendelenburg قرار گرفت تا سطح بی‌حسی به سطح T_{۱۰} برسد. سپس بیمار به تخت منتقل و در وضعیت Knee chest قرار گرفت. نبض و فشار خون هر ۵ دقیقه و میزان خون‌ریزی و داروی مصرفی تا ۳۰ دقیقه بعد از شروع عمل، محاسبه و ثبت شد.

در صورتی که فشار خون متوسط شریانی بیمار از ۷۰ mmHg کمتر می‌شد، ۱۰۰ mg افرین وریدی تزریق می‌گردید و در صورتی که ضربان قلب به زیر ۴۵ بار در دقیقه می‌رسید، ۰/۵ mg آتروپین و در صورت عدم پاسخ، ۰/۵ mg مجدد تزریق می‌شد. همچنین، در صورتی که میزان دوز مصرفی آتروپین از ۰/۰۴ μg/kg در مدت زمان ۳۰ دقیقه بیشتر می‌شد، بیمار از مطالعه خارج می‌گردید.

معنی دار وجود داشت ($P < 0/001$) (شکل ۱). در طی مدت عمل، ۱۶ نفر (۱۶ درصد) از بیماران مورد مطالعه افدرین و ۲۱ نفر (۲۱ درصد) آتروپین دریافت کردند. مقدار افدرین دریافتی در بیماران ۱۰۰ mg بود و ۷ بیمار (۷ درصد) مقدار ۰/۵ mg و ۱۴ نفر (۱۴ درصد) ۱ mg آتروپین دریافت کردند. در جدول ۲، توزیع فراوانی دریافت افدرین و آتروپین بر حسب شدت اضطراب آمده است. بر اساس جدول ۲، از بین افرادی که دارای نمره‌ی اضطراب خفیف بودند، تنها ۱ بیمار (۴/۲ درصد) افدرین دریافت کرده بود و هیچ بیماری آتروپین دریافت نکرد. همچنین از بین بیماران دارای اضطراب متوسط، هیچ بیماری آتروپین و افدرین دریافت نکرد، در صورتی که از گروه دارای اضطراب شدید، ۱۰ نفر (۴۳/۵ درصد) آتروپین و ۹ نفر (۳۹/۱ درصد) افدرین دریافت کردند.

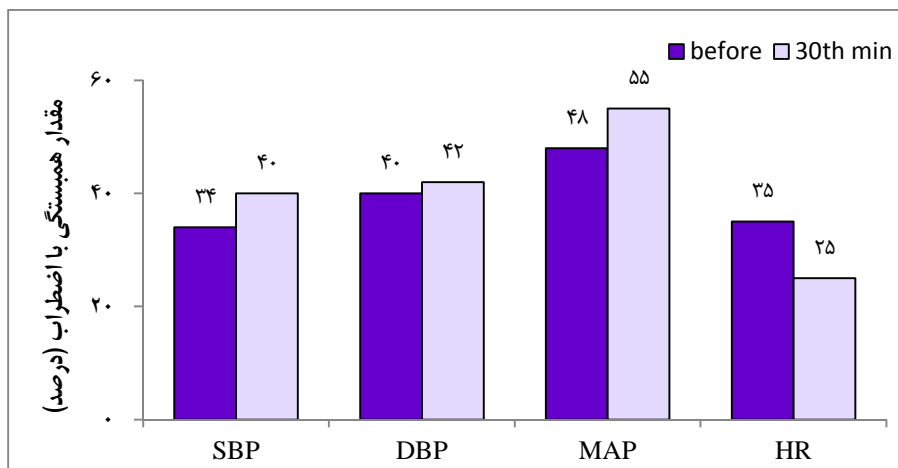
داده‌های به دست آمده نشان داد، بیماران دارای اضطراب خفیف، متوسط و شدید، با افت معنی دار فشار خون سیستول، دیاستول و متوسط شریانی و همچنین کاهش ضربان قلب مواجه شدند، اما در بیماران دچار اضطراب خیلی شدید، فشار خون و ضربان قلب در دقیقه‌ی ۳۰ نسبت به قبل از عمل، اختلاف معنی دار مشاهده نشد. Repeated measures ANOVA نشان داد، تغییرات فشار خون در ۳۰ دقیقه بعد از عمل نسبت به قبل از عمل بر حسب شدت اضطراب اختلاف معنی دار داشت؛ در صورتی که سن، جنس و BMI بیماران بر روی تغییرات فشار خون تأثیر معنی دار نداشت.

همچنین بر حسب آزمون همبستگی Spearman، بین نمره‌ی اضطراب و فشار خون سیستول، دیاستول و متوسط شریانی و نیز ضربان قلب همبستگی مستقیم و

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار فشار خون و ضربان قلب بر حسب شدت اضطراب

فشار خون	شدت اضطراب	خفیف [†]	متوسط [‡]	شدید [§]	خیلی شدید ^{¶¶}	مقدار P [*]
سیستول (mmHg)	قبل عمل	۱۱۳/۱ ± ۸/۷ ^{****}	۱۲۵/۶ ± ۱۳/۹	۱۲۶/۲ ± ۱۲/۰	۱۲۷/۴ ± ۱۷/۲	۰/۰۰۱
	دقیقه‌ی ۳۰	۹۹/۲ ± ۵/۹	۱۰۸/۸ ± ۸/۲	۱۱۳/۸ ± ۲۶/۳	۱۲۷/۲ ± ۱۱/۳	< ۰/۰۰۱
	مقدار P ^{**}	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۰۳۲	۰/۹۷۰	< ۰/۰۰۱
دیاستول (mmHg)	قبل از عمل	۷۵/۲ ± ۶/۱	۸۳/۰ ± ۱۰/۵	۸۴/۴ ± ۹/۳	۸۷/۹ ± ۱۰/۵	۰/۰۰۱ ^{***}
	دقیقه‌ی ۳۰	۶۳/۰ ± ۶/۶	۷۰/۴ ± ۶/۷	۷۴/۶ ± ۲۱/۷	۸۷/۵ ± ۱۰/۳	< ۰/۰۰۱
	مقدار P ^{**}	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۰۴۳	۰/۹۳۰	< ۰/۰۰۱ ^{***}
متوسط (mmHg)	قبل از عمل	۸۷/۸ ± ۶/۳	۹۷/۲ ± ۱۲	۹۹/۷ ± ۱۱/۷	۱۰۹/۹ ± ۹/۷	< ۰/۰۰۱
	دقیقه‌ی ۳۰	۷۴/۴ ± ۳/۷	۸۹/۱ ± ۲۳/۴	۸۳/۹ ± ۵/۰	۱۱۶/۱ ± ۱۱/۶	< ۰/۰۰۱
	مقدار P ^{**}	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۲۲۰	< ۰/۰۰۱ ^{***}
ضربان قلب (بار در دقیقه)	قبل از عمل	۶۸/۵ ± ۶/۳	۷۶/۸ ± ۱۳/۷	۸۰/۷ ± ۱۲/۵	۸۲/۰ ± ۱۳/۲	۰/۰۰۲
	دقیقه‌ی ۳۰	۵۹/۵ ± ۱۲/۹	۶۰/۰ ± ۲۸/۰	۶۲/۹ ± ۶/۸	۸۰/۶ ± ۱۴/۸	۰/۰۲۲
	مقدار P ^{**}	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۸۴۰	۰/۰۰۱ ^{***}

P*: سطح معنی داری بین چهار گروه؛ P**: سطح معنی داری در قبل و دقیقه‌ی ۳۰ در درون هر گروه؛ P***: اختلاف میانگین قبل و دقیقه‌ی ۳۰ عمل بین چهار گروه بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA؛ ****: داده‌ها بر حسی میانگین ± انحراف معیار می‌باشد
 †نمره‌ی Zung ۲۴-۲۵؛ ‡نمره‌ی Zung ۴۵-۵۹؛ §نمره‌ی Zung ۶۰-۷۴؛ ¶نمره‌ی Zung ۷۵ و بیشتر



شکل ۱. ارتباط نمره اضطراب و فشار خون سیستول، دیاستول و متوسط شریانی با ضربان قلب

SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure; Map: Mean arterial pressure; HR: Heart rate

جدول ۲. توزیع فراوانی دریافت افدرین و آتروپین بر حسب شدت اضطراب

مقدار P	خیلی شدید ^{††}	شدید [§]	متوسط [‡]	خفیف [†]	شدت اضطراب	گروه
< ۰/۰۰۱	۵ (۴۵/۵)	۱۳ (۵۶/۵)	۲۴ (۱۰۰)	۲۴ (۱۰۰)	خیر	دریافت آتروپین
	۶ (۵۴/۵)	۱۰ (۴۳/۵)	۰ (۰)	۰ (۰)	بلی	تعداد (درصد)
< ۰/۰۰۱	۷ (۶۳/۶)	۹ (۳۹/۱)	۴۲ (۱۰۰)	۲۳ (۹۵/۸)	خیر	دریافت افدرین
	۴ (۳۶/۴)	۱۴ (۶۰/۹)	۰ (۰)	۱ (۴/۲)	بلی	تعداد (درصد)

نمره‌ی Zung ۲۵-۴۴؛ نمره‌ی Zung ۴۵-۵۹؛ نمره‌ی Zung ۶۰-۷۴؛ نمره‌ی Zung ۷۵ و بیشتر

نخاعی، ۲۴ درصد دارای اضطراب خفیف، ۴۲ درصد دارای اضطراب متوسط، ۲۳ درصد دارای اضطراب شدید و ۱۱ نفر دارای اضطراب خیلی شدید بودند. بررسی فشار خون و ضربان قلب بیماران قبل از عمل و دقیقه‌ی ۳۰ نشان داد که بیماران سه گروه با اضطراب خفیف، متوسط و شدید، با افت قابل ملاحظه و معنی‌دار فشار خون و ضربان قلب مواجه بودند. در صورتی که در بیمارانی که اضطراب خیلی شدید داشتند، تغییرات فشار خون و ضربان قلب در دقیقه‌ی ۳۰ نسبت به قبل از عمل اختلاف معنی‌دار پیدا نکرد. از طرف دیگر، مقایسه‌ی فشار خون و ضربان قلب در بیماران نشان داد، به تناسب افزایش شدت

در گروه اضطراب خیلی شدید نیز ۶ نفر (۵۴/۵ درصد) آتروپین و ۴ نفر (۳۶/۴ درصد) افدرین دریافت کردند. انجام آزمون Kruskal-Wallis بر روی داده‌های مطالعه نشان داد، توزیع فراوانی دریافت آتروپین و افدرین بر حسب شدت اضطراب اختلاف معنی‌دار دارد ($P > ۰/۰۰۱$).

بحث

هدف کلی از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر اضطراب بر تغییرات فشار خون و نبض بیماران تحت بی‌حسی نخاعی بود. برابر نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر، از ۱۰۰ بیمار تحت عمل جراحی با بی‌حسی

اضطراب، فشار خون و ضربان قلب بیماران نیز، هم در قبل از عمل و هم در دقیقه‌ی ۳۰ عمل افزایش داشت. Orbach-Zinger و همکاران، اثر اضطراب قبل عمل بر روی افت فشار خون بعد از بی‌حسی نخاعی را بررسی کردند. آنان ۱۰۰ بیمار تحت عمل جراحی سزارین به روش بی‌حسی نخاعی را به ۳ گروه با درجه‌ی اضطراب شدید، متوسط و خفیف تقسیم‌بندی نمودند و اثر بارزی از اضطراب روی افت فشار بعد از بی‌حسی نخاعی مشاهده کردند (۱۲).

بدین ترتیب، شدت اضطراب بیماران، یک عامل تأثیرگذار بر فشار خون و ضربان قلب بیماران است و از آن جایی که اختلال در فشار خون و ضربان قلب در طی عمل، می‌تواند عواقب جدی برای بیمار به همراه داشته باشد، لازم است نسبت به کاهش اضطراب بیماران قبل از عمل اقدام نمود.

امروزه، روش‌های مختلفی برای آرام‌سازی و کاهش اضطراب بیماران قبل از عمل انجام می‌گیرد که از جمله‌ی آن‌ها، می‌توان به روش‌های آرام‌بخشی، آرام‌سازی با پخش آوای قرآن و موسیقی ملایم، توجیه بیماران قبل از عمل و آماده‌سازی آن‌ها برای عمل جراحی می‌باشد که به نظر می‌رسد عامل اخیر (توجیه بیماران)، یکی از مهم‌ترین اقدامات برای بیمارانی باشد که تحت عمل جراحی با بی‌حسی نخاعی قرار می‌گیرند؛ چرا که مهم‌ترین دغدغه‌ی بیماران قبل از عمل این است که در طی فرایند عمل جراحی، چه اتفاقی برای آن‌ها خواهد افتاد و در صورتی که بیماران از نحوه‌ی القای بی‌حسی نخاعی، مدت زمان عمل، دردناکی عمل و خطراتی که متوجه آن‌ها خواهد بود، اطلاع داشته باشند، به احتمال زیاد می‌توانند آمادگی بیشتری برای پذیرش عمل و انجام

فرایندهایی که در حین عمل بر روی آن‌ها انجام می‌گیرد، پیدا کنند (۱۰).

از دیگر مؤلفه‌هایی که می‌تواند بر اضطراب بیماران تأثیر قابل توجه داشته باشد، مدت زمان انتظار برای عمل است و بدیهی است که هر قدر زمان انتظار کوتاه‌تر باشد، بیماران از شدت اضطراب کمتری برخوردار هستند.

در حال حاضر، در اکثر بیمارستان‌ها و مراکز درمانی، غالب بیماران مدت زمان زیادی را برای رفتن به اتاق عمل در انتظار می‌گذرانند. به عنوان مثال، بیماری که صبح نوبت عمل داشته‌اند، ممکن است حتی تا ۱۰ ساعت در انتظار اعزام به اتاق عمل باقی بمانند و این انتظار طولانی مدت، بر وضعیت روحی و اضطراب بیماران تأثیر قابل توجهی خواهد داشت؛ حتی دیده شده است، بیماران در اتاق عمل نیز برای مدتی برای مهیا شدن امکانات و حضور پرسنل اتاق عمل در انتظار می‌مانند.

خوشبختانه راه‌اندازی واحدهای دی کلینیک در بسیاری از مراکز درمانی طی چند سال اخیر، نه تنها باعث کاهش هزینه‌های بیمارستان و اشغال تخت بیمارستان‌ها شده است؛ بلکه به علت کاهش زمان انتظار بیماران برای عمل، در کم شدن مدت زمان مواجهه با اضطراب نیز مؤثر بوده است. از این رو، با توجه به نتایج به دست آمده، نتیجه‌گیری کلی که می‌توان از این مطالعه داشت، این است که شدت اضطراب بیماران در قبل و حین عمل، از عوامل مؤثر بر تغییرات فشار خون و ضربان قلب، به ویژه افت فشار خون بیماران می‌باشد. لازم است نسبت به کاهش شدت اضطراب در بیماران تحت عمل جراحی، به ویژه جراحی همراه با بی‌حسی نخاعی اقدام نمود.

پزشکی به تصویب رسید و با پشتیبانی این معاونت اجرا گردید. نویسندگان مقاله، از حمایت‌های بی‌دریغ ایشان سپاسگزاری می‌نمایند.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای به شماره‌ی ۳۹۳۷۷۸ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است که در معاونت پژوهشی دانشکده‌ی

References

1. Raw DA, Beattie JK, Hunter JM. Anaesthesia for spinal surgery in adults. *Br J Anaesth* 2003; 91(6): 886-904.
2. Deyo RA, Mirza SK. Trends and variations in the use of spine surgery. *Clin Orthop Relat Res* 2006; 443: 139-46.
3. McLain RF, Bell GR, Kalfas I, Tetzlaff JE, Yoon HJ. Complications associated with lumbar laminectomy: a comparison of spinal versus general anesthesia. *Spine (Phila Pa 1976)* 2004; 29(22): 2542-7.
4. Rocke DA, Rout CC. Volume preloading, spinal hypotension and caesarean section. *Br J Anaesth* 1995; 75(3): 257-9.
5. Rout CC, Rocke DA. Prevention of hypotension following spinal anesthesia for cesarean section. *Int Anesthesiol Clin* 1994; 32(2): 117-35.
6. Hanss R, Bein B, Ledowski T, Lehmkuhl M, Ohnesorge H, Scherkl W, et al. Heart rate variability predicts severe hypotension after spinal anesthesia for elective cesarean delivery. *Anesthesiology* 2005; 102(6): 1086-93.
7. Jeon YT, Hwang JW, Kim MH, Oh AY, Park KH, Park HP, et al. Positional blood pressure change and the risk of hypotension during spinal anesthesia for cesarean delivery: an observational study. *Anesth Analg* 2010; 111(3): 712-5.
8. Cervantes Blasquez JC, Rodas FG, Capdevila OL. Heart-rate variability and precompetitive anxiety in swimmers. *Psicothema* 2009; 21(4): 531-6.
9. Delaney JP, Brodie DA. Effects of short-term psychological stress on the time and frequency domains of heart-rate variability. *Percept Mot Skills* 2000; 91(2): 515-24.
10. Pagani M, Mazzuero G, Ferrari A, Liberati D, Cerutti S, Vaitl D, et al. Sympathovagal interaction during mental stress. A study using spectral analysis of heart rate variability in healthy control subjects and patients with a prior myocardial infarction. *Circulation* 1991; 83(4 Suppl): II43-II51.
11. Frolich MA, Caton D. Baseline heart rate may predict hypotension after spinal anesthesia in prehydrated obstetrical patients. *Can J Anaesth* 2002; 49(2): 185-9.
12. Orbach-Zinger S, Ginosar Y, Elliston J, Fadon C, Abu-Lil M, Raz A, et al. Influence of preoperative anxiety on hypotension after spinal anaesthesia in women undergoing Caesarean delivery. *Br J Anaesth* 2012; 109(6): 943-9.
13. Karami A. Zung Anxiety Self-report Scale. Tehran, Iran: Sina Psychometric Institution; 2004.

The Effect of Preoperative Anxiety on Hemodynamic Changes during Spinal Anesthesia in Patients Undergoing the surgery for Lumbar Disc Herniation

Mohammadali Attari MD¹, Sepehr Eslami², Hassan Mahmoudzadeh³, Mina Shakeri²

Original Article

Abstract

Background: One of the most common problems among patients who candidate for operation is anxiety and intensity of it; uncontrolling can led to unwanted complications such as hypotension and tachycardia. Due to high prevalence rate of hypotension in patients under the operation with spinal anesthesia, which can be related to patient's anxiety, this study aimed to determine the effect of preoperative anxiety on hemodynamic changes during spinal anesthesia in patients undergoing the surgery for lumbar disc herniation.

Methods: In a cross-sectional study, 100 patients who were candidates for surgery for lumbar disc herniation were selected. The intensity of anxiety was assessed using Zung Anxiety Status Inventory (ASI) and the blood pressure was measured before and during surgery; and correlation between the anxiety and blood pressure was evaluated.

Findings: The mean \pm SD of Zung score was 54.64 ± 14.40 . 24, 42, 23 and 11 percent of the patients had mild, moderate, sever and very sever anxiety, respectively. The patients with low, moderate and sever anxiety faced significant decreases in systolic, diastolic and mean blood pressure levels and heart rate; but changing in blood pressure and heart rate in patients with very sever anxiety was not significantly different compared to before the operation.

Conclusion: Intensity of anxiety in the before and during surgery is one of the factors effect on blood pressure changing and heart rate specially hypotension and applying of preventive activities for decrease of anxiety.

Keywords: Anxiety, Blood pressure, Spinal anesthesia

Citation: Attari M, Eslami S, Mahmoudzadeh H, Shakeri M. **The Effect of Preoperative Anxiety on Hemodynamic Changes during Spinal Anesthesia in Patients Undergoing the surgery for Lumbar Disc Herniation.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(351): 1555-63

1- Professor, Department of Anesthesiology, School of Medicine AND Anesthesiology and Critical Care Research Center, Isfahan University on Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

3- Student of Medicine, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mohammadali Attari MD, Email: ma_attari@med.mui.ac.ir

مقایسه‌ی بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در مخاط معده‌ی مردان و زنان

زهرا محمدی^۱، دکتر پریسا محمدی‌نژاد^۲، دکتر مهدی مغنی‌باشی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در سال‌های اخیر مشخص شده است که تعداد زیادی از ژن‌ها در دو جنس بیان متفاوتی دارند که به آن دو شکلی جنسیتی در بیان ژن می‌گویند. یکی از دلایل اصلی تفاوت بیان ژن‌ها در دو جنس، به هورمون‌های جنسی نسبت داده می‌شود. با توجه به وجود عنصر پاسخ دهنده به استروژن و آندروژن در ناحیه‌ی تنظیمی ژن‌های Foxa1 و Foxa2 و دو شکلی جنسیتی در بروز سرطان معده، در این مطالعه بیان این دو ژن در معده‌ی زنان و مردان سالم مقایسه شد.

روش‌ها: نمونه‌گیری از ۲۰ مرد و ۲۱ زن سالم با استفاده از آندوسکوپی از ناحیه‌ی آنتروم معده انجام شد. پس از استخراج RNA و سنتز cDNA (Complementary DNA)، با تکنیک نیمه کمی RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در مردان و زنان مقایسه شد. از آزمون‌های آماری Independent sample t و ANOVA برای تحلیل داده‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها: بیان ژن Foxa1 در زنان به طور معنی‌داری بیشتر از مردان بود ($t = 2/12$, $df = 36$, $P = 0/041$). همچنین، بیان این ژن در افراد زیر ۴۵ سال به طور قابل توجهی بیشتر از افراد بالای ۴۵ سال بود ($t = 2/71$, $df = 36$, $P = 0/010$)؛ اما در مورد ژن Foxa2 نتایج معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: بیان ژن Foxa1 در معده‌ی زنان بیشتر از مردان می‌باشد. همچنین، بیان این ژن در معده‌ی افراد مورد مطالعه، با افزایش سن به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد.

واژگان کلیدی: دو شکلی جنسیتی، بیان ژن، هورمون‌های جنسی، Foxa1، Foxa2

ارجاع: محمدی زهرا، محمدی‌نژاد پریسا، مغنی‌باشی مهدی. مقایسه‌ی بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در مخاط معده‌ی مردان و زنان.

مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۱): ۱۵۷۳-۱۵۶۴

دو جنس به هورمون‌های جنسی استروژن و آندروژن نسبت داده می‌شود (۲-۳).

دو شکلی جنسیتی در بروز انواع بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی-عروقی و فیروز کبدی با بروز بیشتر در مردان نسبت به زنان و بیماری‌های خود ایمنی از جمله آرتريت روماتوئید، دیابت نوع ۱،

مقدمه

در سال‌های اخیر، مشخص شده است که تعداد زیادی از ژن‌ها در دو جنس بیان متفاوتی دارند که به آن دو شکلی جنسیتی در بیان ژن می‌گویند که در موجودات مختلف از جمله انسان نیز گزارش شده است (۱). یکی از دلایل اصلی تفاوت بیان ژن‌ها در

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- استادیار، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران

می‌شوند (۱۴).

عامل رونویسی Foxa1، عملکرد گیرنده‌های هورمون‌های استروئیدی را میانجی‌گری می‌کند (۱۶-۱۵). این عامل رونویسی به طور مستقیم به گیرنده‌ی آندروژن متصل می‌شود و در تنظیم رونویسی چندین ژن دخیل می‌باشد (۱۵، ۱۲). همچنین، گزارش شده است که بیان Foxa1 برای فعالیت گیرنده‌ی استروژن در توسعه‌ی غدد پستانی ضروری است (۷).

عامل رونویسی Foxa1 و Foxa2 در نزدیکی عناصر پاسخ دهنده به هورمون‌های استروئیدی به DNA متصل می‌شوند و در اتصال هورمون‌های آندروژنی و استروژنی به عناصر پاسخ دهنده کمک می‌کنند (۱۷).

مشخص شده است که کاهش بیان ژن Foxa1 و Foxa2 با کاهش بیان E-cadherin‌ها همراه است. در نتیجه، کاهش آن می‌تواند با تهاجم تومور و مراحل پیشرفته‌ی سرطان ارتباط داشته باشد (۱۸، ۷).

علاوه بر این، مطالعاتی که در زمینه‌ی سرطان کبد انجام گرفته است، نشان می‌دهد که تفاوت بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در دو جنس می‌تواند در بروز بیشتر این سرطان در مردان نسبت به زنان نقش داشته باشد و پیشنهاد شده است که تفاوت بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در دو جنس به دلیل هورمون‌های جنسی (استروژن و آندروژن) است. پیشنهاد شده است که دو شکلی جنسیتی در بروز سرطان کبد، وابسته به Foxa1 و Foxa2 می‌باشد (۲).

همان‌طور که اشاره شد، شیوع سرطان معده در مردان به طور معنی‌داری بیشتر از زنان می‌باشد و اکثر مطالعات این امر را به دلیل نقش محافظتی

لوپوس اریتماتوس سیستمیک با شیوع بیشتری در زنان نسبت به مردان گزارش شده است (۵-۴). علاوه بر این، در بعضی از سرطان‌ها مانند سرطان مثانه، سرطان کبد و نوعی سرطان روده‌ی بزرگ ارثی HNPCC (Hereditary nonpolyposis colorectal cancer) با بروز قابل توجه بیشتر در مردان نسبت به زنان گزارش شده است (۷-۶، ۲). یکی از دلایل دو شکلی جنسیتی در بروز بیماری‌ها، می‌تواند تفاوت بیان ژن‌ها در دو جنس باشد.

یکی از سرطان‌هایی که فراوانی متفاوتی در دو جنس دارد، سرطان معده است که در اکثر کشورها تعداد مردان مبتلا به سرطان معده ۲-۴ برابر زنان می‌باشد و طبق آمار سازمان بهداشت جهانی (WHO یا World Health Organization) در سال ۲۰۰۸ تعداد مردان مبتلا به سرطان معده ۶۳۵۰۰۰ نفر اما تعداد زنان مبتلا ۳۸۰۰۰۰ نفر بود (۹-۸).

بعضی از مطالعات اپیدمیولوژی این فرضیه را مطرح کرده‌اند که هورمون‌های جنسی، در ابتلا به سرطان معده نقش دارند (۱۰). شواهد تجربی قوی جهت نقش استروژن در الگوی شیوع وابسته به جنسیت سرطان معده ارائه شده است و تصور کلی بر این است که استروژن خطر ابتلا به سرطان معده را کاهش می‌دهد (۱۱).

ژن Foxa1 بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره‌ی ۱۴ (۱۲) و ژن Foxa2 بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره‌ی ۲۰ قرار گرفته است (۱۳). Foxa1 و Foxa2 از عوامل رونویسی مهمی می‌باشند که در تمایز سلول‌های دستگاه گوارش پستانداران نقش دارند و در تمام سلول‌های اپی‌تلیوم دستگاه گوارش که منشأ جنینی دارند، در بزرگ‌سالی بیان

نمونه‌های بافتی در این مطالعه، از نظر زخم معده، سرطان معده و التهاب معده سالم بودند. مشخصات افراد مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. مشخصات افراد مورد مطالعه

مشخصات	
تعداد نمونه‌ها	۴۱
جنسیت	تعداد (درصد)
مرد	۲۰ (۴۸/۷۸)
زن	۲۱ (۵۱/۲۲)
سن (سال)	انحراف معیار ± میانگین
دامنه‌ی سنی	۱۶-۷۹
کل	۴۴/۰۰ ± ۱۲/۳۳
مرد	۳۹/۰۰ ± ۹/۹۰
زن	۴۴/۰۰ ± ۱۳/۴۷
وضعیت قاعدگی	تعداد (درصد)
قبل از یائسگی	۱۵ (۷۱/۴۲)
بعد از یائسگی	۶ (۲۸/۵۸)

برای جلوگیری از تخریب RNA، نمونه‌های بافتی بلافاصله در محلول RNA later (کیاژن، ایران) قرار داده شدند. پس از استخراج RNA تام سلولی با استفاده از Trizol (Invitrogen)، با استفاده از کیت فرمتاز، سنتز cDNA (Complementary DNA) انجام گرفت. برای مقایسه‌ی بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 بین مردان و زنان و گروه‌های سنی مختلف، از تکنیک RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) استفاده شد. با توجه به این که RT-PCR یک تکنیک نیمه کمی است، برای بهبود دقت آن برای ژن‌های مورد نظر، جداگانه گرادیانت چرخه‌ای گذاشته شد؛ به این صورت که برای یک نمونه و در شرایط یکسان اما در تعداد چرخه‌های ۲۵، ۲۸، ۳۱، ۳۴ و ۳۷ RT-PCR انجام شد و کمترین چرخه‌ای که شدت

هورمون‌های جنسی در زنان می‌دانند. هورمون‌های جنسی اغلب از طریق تأثیر بر بیان ژن نقش خود را ایفا می‌کنند که به طور معمول از طریق تأثیر بر گیرنده‌های خود و کنش با ناحیه‌ی تنظیمی ژن مورد هدف می‌باشد. ژن‌های Foxa1 و Foxa2 عناصر تنظیمی پاسخ دهنده به استروژن و آندروژن را دارند و در مطالعات قبلی دیده شده است که بیان متفاوت این دو ژن در حالت طبیعی، می‌تواند در بیشتر بودن سرطان کبد در مردان نسبت به زنان نقش داشته باشد. بنا بر این، با توجه به این که این دو ژن در معده بیان می‌شوند و در سال‌های اخیر دیده شده است که دو شکلی جنسیتی در بیان بعضی از ژن‌ها دیده می‌شود، در این مطالعه به مقایسه‌ی بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در معده‌ی زنان و مردان سالم پرداخته شد تا مشخص شود که «آیا تفاوت در بیان این دو ژن در دو جنس وجود دارد یا خیر؟». در صورتی که جواب مثبت باشد و در مطالعات دیگر با روش‌های کمی هم این نتایج تکرار شود و ثابت شود که به طور مستقیم به دلیل نقش هورمون‌های جنسی این تفاوت بیان ایجاد می‌شود، می‌توان در درمان یا پیشگیری سرطان معده از هورمون‌های جنسی کمک گرفت.

روش‌ها

در این مطالعه، از طریق آندوسکوپی، نمونه‌ی بافتی ناحیه‌ی آنتروم معده از ۲۱ زن و ۲۰ مرد سالم مراجعه کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان امین اصفهان در سه گروه سنی زیر ۳۵ سال، ۳۵-۵۰ سال (در زنان ۳۵ سال تا یائسگی) و بالای ۵۰ سال (در زنان بعد از یائسگی) تهیه گردید. رضایت‌نامه‌ی کتبی از تمام افراد شرکت کننده در این مطالعه دریافت شد.

۰/۴۵ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ میلی-مولار)
(سیناژن، ایران)، ۰/۶ میکرولیتر dNTP
(Deoxynucleotide triphosphate) (۵ میلی-مولار)
(سیناژن، ایران)، ۰/۶ میکرولیتر پرایمر F
(۵ پیکومول)، ۰/۶ میکرولیتر پرایمر R (۵ پیکومول)،
۰/۱ میکرولیتر آنزیم Taq (۵ واحد بر میکرولیتر)
(سیناژن، ایران) و ۰/۶ میکرولیتر cDNA
(۵۰ نانوگرم) بود.

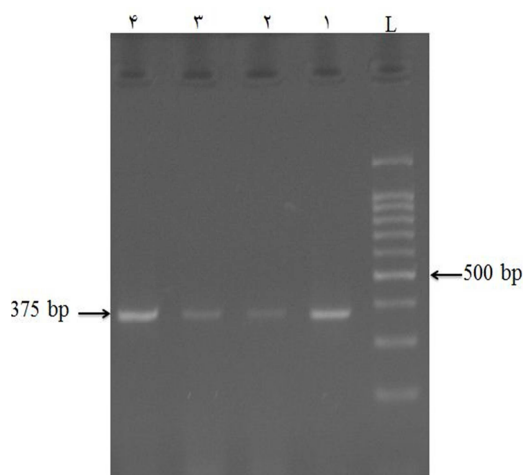
محصول RT-PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد
الکتروفورز شد و با DNA STAIN (کیازن، ایران)
رنگ‌آمیزی گردید و از ژل‌ها عکس‌برداری شد.
نمونه‌های مورد مقایسه، هم‌زمان RT-PCR و
الکتروفورز شدند تا متغیرهای مختلف به حداقل
برسد و شرایط یکسان باشد. سپس برای کمی
کردن باندهای به دست آمده، از نرم‌افزار ImageJ
استفاده شد. برای طبیعی‌سازی داده‌ها، شدت باند
ژن مورد نظر بر شدت باند بتا اکتین هر نمونه
تقسیم شد و اعداد به دست آمده با نرم‌افزار SPSS
نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL)
و آزمون آماری Independent sample t دو طرفه و
ANOVA مقایسه شدند. در این مطالعه،
 $P < 0/050$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر
گرفته شد.

باند قابل شناسایی بود، به عنوان تعداد چرخه‌ی
RT-PCR انتخاب شد. در این مطالعه، از ژن بتا اکتین
به عنوان ژن مرجع برای طبیعی‌سازی نتایج استفاده
شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه که
با استفاده از نرم‌افزار Oligo طراحی گردیده بود، در
جدول ۲ آمده است.

شرایط RT-PCR برای ژن‌های Foxa1, Foxa2 و
بتا اکتین به صورت یک چرخه‌ی مصنوعی‌سازی اولیه
در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه،
۳۵ چرخه (برای ژن Foxa1 ۳۱ چرخه و ژن Foxa2
۲۸ چرخه) با شرایط مصنوعی‌سازی در ۹۴ درجه‌ی
سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال پرایمر در
۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد (برای ژن Foxa1
۵۵/۸ درجه‌ی سانتی‌گراد و برای ژن Foxa2
۵۹/۸ درجه‌ی سانتی‌گراد) به مدت ۴۵ ثانیه،
طول‌سازی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت
۴۵ ثانیه (برای ژن‌های Foxa1 و Foxa2 ۱ دقیقه) و
طول‌سازی نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای
۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام گرفت. حجم واکنش
RT-PCR و مواد مورد استفاده برای هر سه ژن،
یکسان و به صورت حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر و
شامل ۱۰/۵۵ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر،
۱/۵ میکرولیتر بافر (۱۰ X) (سیناژن، ایران)،

جدول ۲. توالی پرایمرهای ژن‌های Foxa1, Foxa2 و β -actin

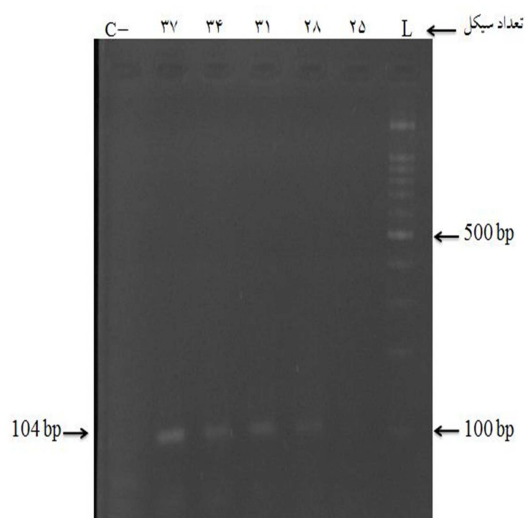
ژن	طول قطعه‌ی تکثیر شده	توالی
Foxa1	۱۰۴ bp	Forward: 5'-GTGTAGACATCCTCCGTAT-3' Reverse: 5'-GGGGTCCTTGTAACCTTTC-3'
Foxa2	۲۰۴ bp	Forward: 5'-GTTCTCCTCCATTGCTGTTG-3' Reverse: 5'-CACCGTGTCAAGATTGGGA-3'
β -actin	۳۷۵ bp	Forward: 5'-CGTGACATTAAGGAGAAGCTGTGC-3' Reverse: 5'-CTCAGGAGGAGCAATGATCTTGAT-3'



شکل ۱. بررسی صحت سنتز Complementary DNA (cDNA) با استفاده از RT-PCR

(Reverse transcription polymerase chain reaction)

پس از الکتروفورز بر روی ژل ۲ درصد چاهک L: Ladder DNA (۱۰۰ bp) و در چاهک ۱ تا ۴، باند ۳۷۵ bp نشان دهنده‌ی تکثیر cDNA بتا اکتین در نمونه‌های متفاوت می‌باشد که دال بر سنتز صحیح cDNA است.



شکل ۲. گرادیانت چرخه‌ای ژن Foxa1. پس از انجام

Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) در تعداد چرخه‌های مختلف (۲۵، ۲۸، ۳۱، ۳۴ و ۳۷).

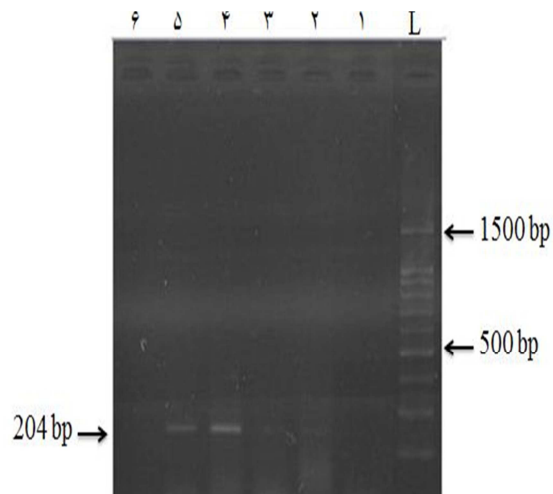
محصولات در ژل ۲ درصد به همراه (۱۰۰ bp) DNA Ladder (چاهک L: DNA Ladder و چاهک c-: شاهد منفی) الکتروفورز شدند. باند ۱۰۴ bp نشان دهنده‌ی تکثیر cDNA Foxa1 (Complementary DNA) در چرخه‌های مختلف در یک نمونه می‌باشد.

یافته‌ها

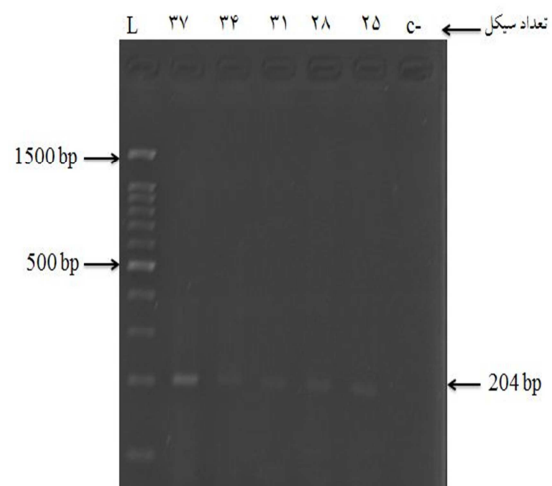
جمعیت مورد بررسی در این مطالعه، ۴۱ فرد سالم شامل ۲۰ مرد (۴۸/۷۸ درصد) و ۲۱ زن (۵۱/۲۲ درصد) بود. میانگین سنی مردان $39/00 \pm 9/90$ سال و میانگین سنی زنان $44/00 \pm 13/47$ سال و دامنه‌ی سنی افراد مورد مطالعه ۱۶-۷۹ سال بود.

پس از بهینه‌سازی شرایط استخراج RNA و سنتز cDNA، بر اساس شدت باند مشاهده شده در گرادیانت چرخه‌ای، به ترتیب ۳۱ و ۲۸ چرخه برای RT-PCR ژن‌های Foxa1 و Foxa2 انتخاب شد (شکل‌های ۱ و ۲). سپس برای تمامی نمونه‌ها برای ژن‌های Foxa1، Foxa2 و بتا اکتین، RT-PCR گذاشته شد و همان طور که انتظار می‌رفت، به ترتیب باندهای ۱۰۴، ۲۰۴، ۳۷۵ و ۲۰۴ bp (شکل‌های ۳، ۴ و ۵) پس از کمی کردن شدت باندها و طبیعی کردن آن‌ها، میانگین بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 بین زنان و مردان و در گروه‌های سنی مختلف مردان و زنان مقایسه شد.

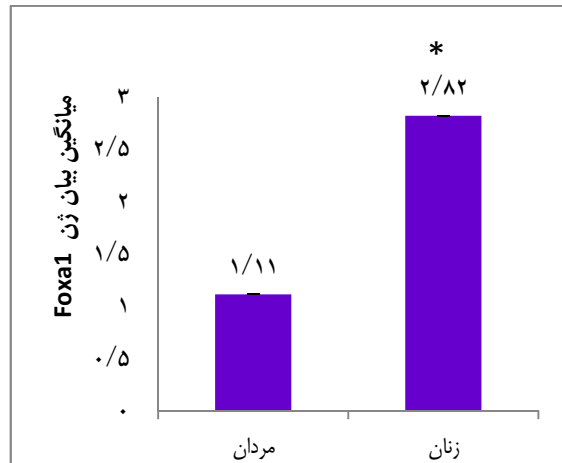
تفاوت معنی‌داری در بیان ژن Foxa1 بین زنان و مردان وجود داشت ($P = 0/041$, $df = 36$ ، $t = 2/120$)؛ به طوری که میانگین بیان این ژن در زنان ($2/82 \pm 0/69$) نسبت به میانگین بیان آن در مردان ($1/11 \pm 0/21$) $2/54$ برابر بود (شکل ۶). علاوه بر این، میزان بیان این ژن در زنان یائسه (مردان نیز در این گروه قرار داده شدند) و زنان غیر یائسه تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P = 0/047$, $df = 36$ ، $t = 2/057$)؛ به طوری که میانگین بیان این ژن در زنان غیر یائسه ($3/12 \pm 0/72$) نسبت به میانگین در مردان و زنان یائسه ($1/63 \pm 0/35$) بیشتر بود (شکل ۷).



شکل ۵. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) برای ژن Foxa2 پس از انجام RT-PCR. محصولات در ژل ۲ درصد به همراه DNA Ladder (۱۰۰ bp) (چاهک L: DNA Ladder) الکتروفورز شدند و چاهک‌های ۱ تا ۵ (چاهک شماره ۶ شاهد منفی). باند ۲۰۴ bp مربوط به تکثیر Foxa2 cDNA (Complementary DNA) در افراد مختلف می‌باشد.

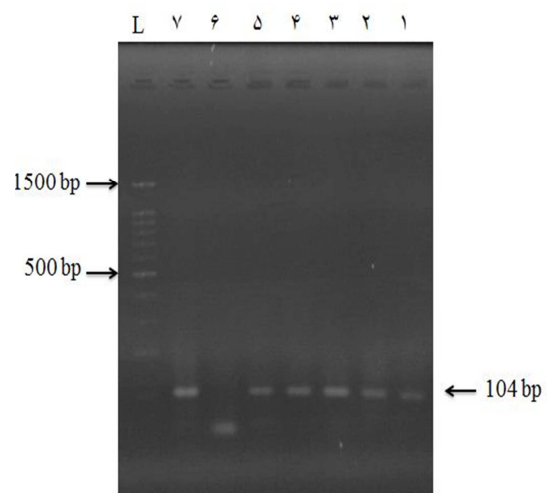


شکل ۳. گرادینانت چرخه‌ای ژن Foxa2. پس از انجام Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) در تعداد چرخه‌های مختلف (۲۵، ۲۸، ۳۱، ۳۴ و ۳۷)، محصولات در ژل ۲ درصد به همراه (۱۰۰ bp) DNA Ladder (چاهک L: DNA Ladder و چاهک c-) شاهد منفی) الکتروفورز شدند و باند ۲۰۴ bp نشان دهنده تکثیر Foxa2 cDNA (Complementary DNA) در چرخه‌های مختلف در یک نمونه می‌باشد.



شکل ۶. مقایسه‌ی بیان ژن Foxa1 در بافت معده بین مردان و زنان سالم. میانگین بیان این ژن در زنان بیش از دو برابر مردان می‌باشد.
(*) نشان دهنده‌ی انحراف معیار میانگین بیان ژن می‌باشد.

همچنین، مقایسه‌ی بیان این ژن بین زنان و مردان زیر ۴۵ سال (در یک گروه) و زنان و مردان بالای



شکل ۴. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) برای ژن Foxa1 پس از انجام RT-PCR. محصولات در ژل ۲ درصد به همراه چاهک L: DNA Ladder (۱۰۰ bp) الکتروفورز شدند و چاهک‌های ۱ تا ۷ (چاهک شماره ۶ شاهد منفی) باند ۱۰۴ bp مربوط به تکثیر cDNA Foxa1 (Complementary DNA) در افراد مختلف می‌باشد.

آنالیزهای آماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بیان ژن Foxa2 بین زنان و مردان وجود نداشت ($t = 1/447, df = 39, P = 0/156$).

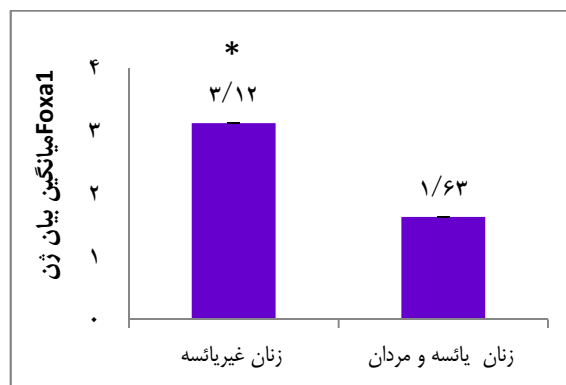
بحث

با توجه به تغییر بیان ژن Foxa1 در سرطان‌های مثانه، آدنوکارسینومای ریه، تیروئید، پروستات، روده‌ی بزرگ، سرطان مری- معده‌ای و سرطان کبد (۱۹، ۷، ۲)، فراوانی بیشتر سرطان معده در مردان نسبت به زنان و ارتباط آن با هورمون‌های جنسی و نقش ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در بروز بیشتر سرطان کبد در مردان نسبت به زنان، این مطالعه به مقایسه‌ی بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 که حاوی ARE و ERE در ناحیه‌ی تنظیمی خود می‌باشند، بین مردان و زنان در سه گروه سنی زیر ۳۵ سال، ۳۵-۵۰ سال (در زنان ۳۵ سال تا قبل از یائسگی) و بالای ۵۰ سال (در زنان بعد از یائسگی) پرداخته شد.

نتایج این مطالعه نشان داد که بیان ژن Foxa1 بین زنان و مردان سالم تفاوت معنی‌داری داشت و میانگین بیان این ژن در زنان نسبت به مردان حدود ۲/۵۴ برابر افزایش داشت. در مطالعه‌ی Lopes و همکاران مشاهده شد که میزان بیان ژن PCDH11X در مغز زنان، حدود دو برابر مردان می‌باشد (۲۰).

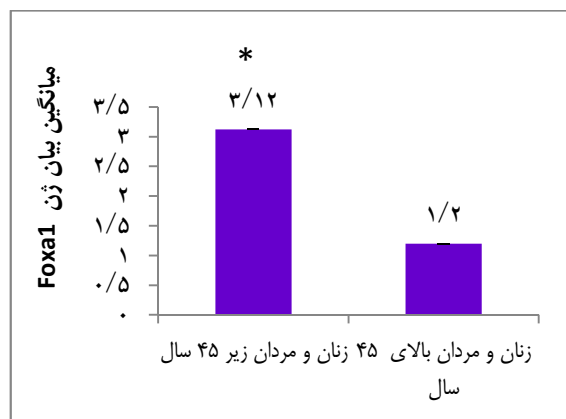
نتایج نشان داد که بیان این ژن در زنان غیر یائسه در بیش از دو برابر گروه دیگر (مردان و زنان یائسه در یک گروه با توجه به هم سطح بودن میزان استروژن) بود و این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار بود. در همین راستا، Murphy و Steenberg بیان کردند که قبل از سن یائسگی، خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی در بین زنان بسیار کمتر می‌باشد و این امر، می‌تواند

۴۵ سال (در گروه دیگر) اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($t = 2/71, df = 36, P = 0/010$)؛ به طوری که میانگین بیان این ژن در زنان و مردان زیر ۴۵ سال ($3/12 \pm 0/67$) نسبت به میانگین در مردان و زنان بالای ۴۵ سال ($1/20 \pm 0/20$) برابر بود (شکل ۸).



شکل ۷. مقایسه‌ی بیان ژن Foxa1 در بافت معده بین زنان یائسه و مردان (در یک گروه) با زنان غیر یائسه میانگین بیان ژن Foxa1 در زنان غیر یائسه برابر زنان یائسه و مردان (در یک گروه) می‌باشد.

(*) نشان دهنده‌ی انحراف معیار میانگین بیان ژن می‌باشد.



شکل ۸. مقایسه‌ی بیان ژن Foxa1 در بافت معده بین زنان و مردان زیر ۴۵ سال و زنان و مردان بالای ۴۵ سال. میانگین بیان ژن Foxa1 در زنان و مردان زیر ۴۵ سال برابر زنان و مردان بالای ۴۵ سال می‌باشد.

(*) نشان دهنده‌ی انحراف معیار میانگین بیان ژن می‌باشد.

مطالعه نشان داد که اگر چه میانگین بیان این ژن در مردان (۲/۶۵) بیشتر از زنان (۱/۲۸) بود، اما به لحاظ آماری، این اختلاف معنی‌دار نبود.

در نهایت، می‌توان پیشنهاد کرد که بیان متفاوت این ژن Foxa1 در طی سالیان متمادی، ممکن است با بروز متفاوت سرطان معده در دو جنس ارتباط داشته باشد.

تشکر و قدردانی

در پایان، از جناب آقای دکتر پیمان ادیبی و جناب آقای دکتر مجید خیراللهی جهت راهنمایی‌های ارزنده و نیز از تمامی افراد شرکت کننده در این پژوهش، سپاسگزاری می‌گردد.

ناشی از تأثیر گیرنده‌های استروژن در بیان برخی از ژن‌های قلب مانند نیتریک اکسید سنتتاز و پروتئین‌های شوک حرارتی باشد (۲۱).

همچنین، با توجه به این که میانگین بیان این ژن در افراد زیر ۴۵ سال ۲/۶ برابر افراد بالای ۴۵ سال بود، نشان می‌دهد که میزان بیان این ژن با افزایش سن به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. Berchtold و همکاران نیز نشان دادند که با افزایش سن، بیان بعضی از ژن‌ها در مغز انسان تغییر می‌کند؛ به طوری که بیان بعضی از ژن‌ها افزایش و بعضی دیگر کاهش می‌یابد (۲۲).

مقایسه‌ی بیان ژن Foxa2 در مردان و زنان مورد

References

1. Saito K, Negishi M, James SE. Sexual dimorphisms in zonal gene expression in mouse liver. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 436(4): 730-5.
2. Li Z, Tuteja G, Schug J, Kaestner KH. Foxa1 and Foxa2 are essential for sexual dimorphism in liver cancer. *Cell* 2012; 148(1-2): 72-83.
3. Isensee J, Witt H, Pregla R, Hetzer R, Regitz-Zagrosek V, Noppinger PR. Sexually dimorphic gene expression in the heart of mice and men. *J Mol Med (Berl)* 2008; 86(1): 61-74.
4. Gilbert JS, Nijland MJ. Sex differences in the developmental origins of hypertension and cardiorenal disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 295(6): R1941-R1952.
5. Sharma S, Eghbali M. Influence of sex differences on microRNA gene regulation in disease. *Biol Sex Differ* 2014; 5(1): 3.
6. Campbell-Thompson M, Lynch IJ, Bhardwaj B. Expression of estrogen receptor (ER) subtypes and ERbeta isoforms in colon cancer. *Cancer Res* 2001; 61(2): 632-40.
7. DeGraff DJ, Clark PE, Cates JM, Yamashita H, Robinson VL, Yu X, et al. Loss of the urothelial differentiation marker FOXA1 is associated with high grade, late stage bladder cancer and increased tumor proliferation. *PLoS One* 2012; 7(5): e36669.
8. Danaei G, Vander HS, Lopez AD, Murray CJ, Ezzati M. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *Lancet* 2005; 366(9499): 1784-93.
9. Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, et al. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(1): 10-30.
10. Pricci M, Linsalata M, Russo F, Messa C, Amati L, Caradonna L, et al. Effects of 17beta-estradiol administration on apoptosis and polyamine content in AGS cell line. *Anticancer Res* 2001; 21(5): 3215-20.
11. Camargo MC, Goto Y, Zabaleta J, Morgan DR, Correa P, Rabkin CS. Sex hormones, hormonal interventions, and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012; 21(1): 20-38.
12. Lin L, Miller CT, Contreras JI, Prescott MS, Dagenais SL, Wu R, et al. The hepatocyte nuclear factor 3 alpha gene, HNF3alpha (FOXA1), on chromosome band 14q13 is amplified and overexpressed in esophageal and lung adenocarcinomas. *Cancer Res* 2002; 62(18): 5273-9.
13. Basseres DS, D'Alo F, Yeap BY, Lowenberg EC, Gonzalez DA, Yasuda H, et al. Frequent downregulation of the transcription factor Foxa2 in lung cancer through epigenetic silencing. *Lung Cancer* 2012; 77(1): 31-7.
14. Ye DZ, Kaestner KH. Foxa1 and Foxa2 control the differentiation of goblet and enteroendocrine

- L- and D-cells in mice. *Gastroenterology* 2009; 137(6): 2052-62.
15. Imamura Y, Sakamoto S, Endo T, Utsumi T, Fuse M, Suyama T, et al. FOXA1 promotes tumor progression in prostate cancer via the insulin-like growth factor binding protein 3 pathway. *PLoS One* 2012; 7(8): e42456.
 16. Naderi A, Meyer M, Dowhan DH. Cross-regulation between FOXA1 and ErbB2 signaling in estrogen receptor-negative breast cancer. *Neoplasia* 2012; 14(4): 283-96.
 17. Sahu B, Laakso M, Pihlajamaa P, Ovaska K, Sinielnikov I, Hautaniemi S, et al. FoxA1 specifies unique androgen and glucocorticoid receptor binding events in prostate cancer cells. *Cancer Res* 2013; 73(5): 1570-80.
 18. Tang Y, Shu G, Yuan X, Jing N, Song J. FOXA2 functions as a suppressor of tumor metastasis by inhibition of epithelial-to-mesenchymal transition in human lung cancers. *Cell Res* 2011; 21(2): 316-26.
 19. Chandanos E, Lagergren J. Oestrogen and the enigmatic male predominance of gastric cancer. *Eur J Cancer* 2008; 44(16): 2397-403.
 20. Lopes AM, Ross N, Close J, Dagnall A, Amorim A, Crow TJ. Inactivation status of PCDH11X: sexual dimorphisms in gene expression levels in brain. *Hum Genet* 2006; 119(3): 267-75.
 21. Murphy E, Steenbergen C. Gender-based differences in mechanisms of protection in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2007; 75(3): 478-86.
 22. Berchtold NC, Cribbs DH, Coleman PD, Rogers J, Head E, Kim R, et al. Gene expression changes in the course of normal brain aging are sexually dimorphic. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(40): 15605-10.

Comparing the Expression of Foxa1 and Foxa2 Genes in the Stomach in Men and Women

Zahra Mohammadi¹, Parisa Mohamadynejad PhD², Mehdi Moghanibashi PhD³

Original Article

Abstract

Background: In recent years, it is found that a large number of genes are differentially expressed in two sexes; this can be referred to sexual dimorphism in gene expression. One of the main reasons for the differences in gene expression between male and female is assigned to sex hormones. Regarding to the presence of estrogen and androgen response elements in the regulatory region of Foxa1 and Foxa2 genes and sexual dimorphism in the incidence of gastric cancer, in this study, we compared the expression of these genes in the stomach of healthy men and women.

Methods: Sampling was done from 20 healthy men and 21 healthy women using endoscopy from the gastric antrum. Following RNA extraction and complementary DNA (cDNA) synthesis, expression of Foxa1 and Foxa2 genes was compared between the men and women using semi-quantitative technique of reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Then, the data were analyzed using statistical t and ANOVA tests.

Findings: The expression of Foxa1 was significantly higher in women than men ($P = 0.041$, $df = 36$, $t = 2.12$). In addition, the expression of this gene was significantly higher in people under the age of 45 years than people above it ($P = 0.010$, $df = 36$, $t = 2.71$). But about Foxa2 gene, no significantly results were seen.

Conclusion: Foxa1 gene expression in women's stomach is higher than men's; besides, the expression of this gene in the stomach is decreased by age.

Keywords: Sexual dimorphism, Gene expression, Sex hormones, Foxa2, Foxa1

Citation: Mohammadi Z, Mohamadynejad P, Moghanibashi M. **Comparing the Expression of Foxa1 and Foxa2 Genes in the Stomach in Men and Women**. J Isfahan Med Sch 2015; 33(351): 1564-73

1- MSc Student, Department of Genetics, School of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biology, School of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

3- Assistant Professor, Department of Genetics, School of Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Corresponding Author: Mehdi Moghanibashi PhD, Email: mehdimoghani@yahoo.com

افزایش نفوذ نانوذرات طلا به داخل رده‌های سلولی سرطانی بر اثر اتصال با پپتید TAT

دکتر صدیقه خامه‌چیان^۱، دکتر سامان حسینخانی^۲، دکتر رسول مدنی^۳، مریم نیکخواه^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: نانوذرات طلا (GNPs یا Gold nanoparticles) با داشتن خصوصیات نظیر عدم سمیت، سنتز آسان و قابلیت اتصال به پپتیدهای نفوذ کننده در سلول (Cell penetrating peptides یا CPPs)، برای اهدافی نظیر ره‌ایش هدفمند و تصویربرداری زیستی مناسب می‌باشند.

روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر، افزایش جذب نانوذره‌ی طلا در سلول بر اثر اتصال به پپتید TAT را نشان می‌دهد. نانوذرات طلا پس از اتصال به پپتید با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی فرابنفش- مرئی (Ultraviolet-visible spectrophotometry)، عکس‌برداری TEM (Transmission electron microscopy)، روش تفرق نور پویا (Dynamic light scattering یا DLS) و زتا پتانسیل (Zeta potential) توصیف شدند. سپس سیتوتوکسیسیته‌ی نانوذرات طلا در برابر سلول‌های HeLa و A431 مورد مطالعه قرار گرفت. در آخر، جذب نانوذره‌ی متصل به پپتید TAT (TAT-C-GNP) در سلول‌ها بررسی شد.

یافته‌ها: اثر سیتوتوکسیسیته‌ی GNP و TAT-C-GNP بر روی سلول‌ها بسیار ناچیز بود. پس از تیمار سلول‌ها با نانوذرات طلا، رده‌ی سلولی A431 مقدار زیادی از TAT-C-GNP را نسبت به GNP جذب کرد. در حالی که در رده‌ی سلولی HeLa هیچ یک از ذرات GNP و TAT-C-GNP جذب نشدند.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده نشان داد که TAT-C-GNP می‌تواند جذب نانوذره‌ی طلا را در سلول افزایش دهد و نانوکمزوگه‌ی مناسبی در جهت اهداف مختلف زیست‌پزشکی باشد.

واژگان کلیدی: نانوذره‌ی طلا، پپتید نفوذ کننده در سلول، جذب سلولی، سیتوتوکسیسیته

ارجاع: خامه‌چیان صدیقه، حسینخانی سامان، مدنی رسول، نیکخواه مریم. افزایش نفوذ نانوذرات طلا به داخل رده‌های سلولی سرطانی بر

اثر اتصال با پپتید TAT. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۱): ۱۵۸۳-۱۵۷۴

مقدمه

در سال‌های اخیر، نانوذرات طلا به دلیل قابلیت ره‌ایش مواد مختلف در جایگاه هدف، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱-۲). نانوذرات طلا با توجه به شکل‌ها و اندازه‌های مختلف، خواص فیزیکی و

شیمیایی مختلفی در جهت انتقال و بارگذاری مواد دارویی از خود نشان می‌دهند. این نانوذرات، غیر سمی هستند (۳)، سنتز آن‌ها ساده است و خواص فیزیکی شیمیایی آن‌ها می‌تواند منجر به آزادسازی دارو در نقاط مورد دست شود (۴). نانوذرات طلا،

۱- گروه نانو بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- استاد، گروه بیوشیمی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- استاد، بخش بیوتکنولوژی، مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران

۴- استادیار، گروه نانو بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر سامان حسینخانی

نانویه به نام CADY (۲۰)، پپتید مشتق از متیلین (۷)، پپتید Rev (برگرفته از پروتئین تنظیمی HIV-1) (۲۱) و CALNRR8 (۲۲) اشاره کرد. نانوذرات طلای متصل به CPP، می‌توانند به داخل سیتوپلاسم و هسته جابه‌جا شوند (۲۳). بنا بر این، هدف از مطالعه‌ی حاضر، تولید یک نانوحامل ترکیبی (از نانوذره‌ی طلا و CPP) در جهت ره‌ایش بیومولکول‌ها و افزایش جذب سلولی بود که در این راستا، پپتید TAT به نانوذره‌ی طلا متصل و اثر پپتید در افزایش ورود نانوذره به داخل سلول‌های HeLa و A431 بررسی گردید.

روش‌ها

سنتز نانوذرات طلا

نانوذرات طلا بر اساس روش Turkevich (۲۴) سنتز شدند. به ۵۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۱ درصد تتراکلرید طلای در حال جوش، ۷۵۰ میکرولیتر از محلول تری‌سدیم سیترات دی‌هیدرات به عنوان عامل احیایی اضافه گردید. بعد از این مرحله، رنگ محلول از زرد به بی‌رنگ و در نهایت به قرمز تغییر یافت. این محلول، پس از تغییر رنگ به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد و سپس گرمادهی متوقف گردید.

عامل دار کردن نانوذرات طلا با پپتیدها و بررسی

خواص فیزیکوشیمیایی آن‌ها

جهت اتصال پپتید به نانوذرات طلای کروی، غلظت ۲۵ نانومولار TAT-C (توالی GRKKRRQRRR-C) به ۱ میلی‌لیتر از نانوذره‌ی طلا افزوده شد و به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه روی هم‌زن قرار گرفت. سپس این محلول، با سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه شستشو شد. نانوذرات

می‌توانند به نوکلئیک اسید، دارو، آنتی‌بادی، پلی‌اتیلن گلیکول (۵)، SiRNA (Small interfering RNA) (۶-۵) و پپتیدها (۷-۸) متصل شوند و با حداقل سمیت، به شکل گسترده‌ای توزیع شوند (۹). این نانوذرات وظیفه‌مند، در انتقال هدفمند دارو و ژن (۷)، تشخیص داخل سلولی، تصویربرداری بیولوژیک (۸)، مطالعه‌ی سرطان (۱۱-۱۰) و حسگرهای زیستی (۱۲) مورد استفاده قرار می‌گیرند. در میان نانوذرات طلای وظیفه‌مند، به طور معمول نانوذرات متصل به پپتید برای افزایش انتقال به داخل سلول مورد استفاده قرار می‌گیرند.

معمول‌ترین نوع پپتیدهایی که برای عامل‌دار کردن نانوذرات طلا به کار می‌روند، پپتیدهای نفوذ کننده به داخل سلول (CPPs یا Cell penetrating peptides) می‌باشند. این پپتیدها کوچک و دارای قابلیت عبور از غشای سلولی هستند و برای آزادسازی مولکول‌های درمانی، پروتئین‌ها، لیپوزوم‌ها، نانوذرات، نوکلئیک اسیدها و SiRNA استفاده می‌شوند (۱۳). به طور معمول، پپتیدهای CP از میان غشای سلولی و از طریق نفوذ مستقیم، تشکیل میسل وارونه یا منافذ ناپایدار، ماکرو پینوسیتوز (۱۴)، کلاترین یا اندوسیتوز از طریق کاوتول (۱۵) یا میکروپینوسیتوز (۱۶) جابه‌جا می‌شوند. متداول‌ترین پپتید CP، پپتید تجاری HIV TAT می‌باشد که برای آزادسازی ماکرو مولکول‌ها و یا داروها به داخل هسته و یا سیتوپلاسم مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۷-۱۸). از دیگر پپتیدهایی که به منظور افزایش ره‌ایش مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌توان به پروتئین B سورفکتانت انسانی، (سورفکتانت ریه)، لاکتو فریسین (یک گلیکوپروتئین گلوبولار) (۱۹)، یک CPP آمفپاتیک

چاهک شاهد که تنها حاوی محیط بود و ۱۰۰ درصد سلول‌ها زنده در نظر گرفته شدند، محاسبه گردید.

مطالعه‌ی میکروسکوپی زمینه تاریک

برای مطالعه‌ی جذب نانوذرات عامل‌دار شده در سلول‌های HeLa و A431، $10^4 \times 3$ از هر نوع سلول، روی لامل‌هایی به اندازه‌ی 18×18 که از قبل داخل چاهک‌های پلیت ۶ خانه جای گرفته بودند، قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد حاوی ۵ درصد CO_2 انکوبه شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از GNP و TAT-C-GNP بر روی هر یک از سلول‌ها ریخته شد و به مدت ۲ ساعت انکوبه شدند. پس از شستشو، سلول‌ها در متانول تثبیت شدند. سپس سلول‌ها بر اساس خاصیت پراکنش نوری نانوذرات طلا، زیر میکروسکپ زمینه تاریک Olympus مطالعه گردیدند.

یافته‌ها

در این مطالعه، نانوذرات کرومی طلا سنتز شدند و سپس خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن‌ها تعیین گردید. سپس اثر اتصال پپتید در کاهش میزان سیتوتوکسیسیته‌ی نانوذرات بر روی رده‌های سلولی HeLa و A431 مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت، اثر پپتید در افزایش میزان جذب نانوذرات به داخل سلول مطالعه شد.

عامل‌دار کردن GNP با پپتید

توالی پپتید TAT-C، GRKKRRQRRR-C می‌باشد. در انتهای کربوکسیلیک پپتید TAT یک ریشه‌ی سیستمین قرار گرفته است که اتصال پپتید با نانوذره‌ی طلا را از طریق گروه تیول امکان‌پذیر می‌کند. چنان‌که در شکل ۱ نشان داده شده است، با افزودن شدن

عامل‌دار شده با استفاده از طیف‌سنجی فرابنفش-مرئی (UV-Vis spectrophotometry) و عکس‌برداری TEM (Transmission electron microscopy) مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین، اندازه، شاخص توزیع اندازه (Polydispersity index یا PDI) و پتاسیل زتای (Zeta potential) این نانوذرات با اندازه‌گیری DLS (Dynamic light scattering) بررسی شد.

اثر سیتوتوکسیسیته‌ی نانوذرات عامل‌دار شده بر

روی سلول‌های HeLa و A431

$10^4 \times 2$ سلول HeLa و $10^4 \times 1$ سلول A431 در ۱۰۰ میکرولیتر از محیط RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute) حاوی ۱۰ درصد از FBS (Fetal bovine serum) و ۱ درصد پنی‌سیلین-استرپتومایسین (PS یا Penicillin-estreptomycin) در پلیت ۹۶ خانه قرار گرفتند و برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد حاوی ۵ درصد CO_2 انکوبه شدند. پس از شستشوی پلیت با PBS (Phosphate-buffered saline)، ۱۰۰ میکرولیتر از نانوذره‌ی تنها (GNP یا Gold nanoparticle) و نانوذره‌ی متصل به پپتید TAT (TAT-C-GNP) به چاهک‌ها افزوده شد و به مدت ۲ ساعت تحت شرایط قبلی انکوبه گردید.

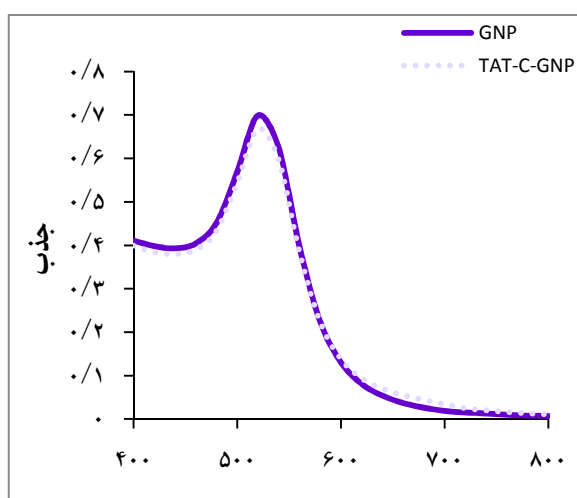
پس از شستشوی مجدد، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱۰ درصد رنگ MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) به چاهک‌ها افزوده شد و بعد از گذشت یک دوره‌ی انکوباسیون ۳ ساعته، جذب چاهک‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه Reader خوانده شد. در نهایت، درصد سلول‌های زنده با در نظر گرفتن

۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد تعیین گردید. اندازه‌ی GNP پس از اتصال به پپتید TAT-C از ۵۳/۵۴ به ۹۶/۰۴ افزایش و زتا پتانسیل آن از ۳۱/۶- به ۱۲/۶- کاهش یافت (جدول ۱). همچنین، نمودار توزیع اندازه‌ی ذرات GNP و TAT-C-GNP در شکل ۲ آمده است. تصاویر TEM مربوط به GNP و TAT-C-GNP نیز در شکل ۳ آمده است.

اثر سیتوتوکسیسیته نانوذرات

با استفاده از آزمون MTT، اثر سیتوتوکسیسیته GNP و TAT-C-GNP بر روی سلول‌های HeLa و A431 مطالعه گردید. ۱۰۰ درصد سلول‌های A431 و ۹۱ درصد سلول‌های HeLa، پس از تیمار با GNP زنده ماندند. همچنین، درصد حیات سلول‌ها پس از تیمار با TAT-C-GNP بیش از ۸۷ درصد بود (شکل ۴). مقدار P محاسبه شده برای سلول‌های A431 تیمار شده با GNP و TAT-C-GNP در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده‌ی همین رده‌ی سلولی (شاهد) به ترتیب ۰/۴۵ و ۰/۱۸ بود. این مقادیر، برای سلول‌های HeLa نیز محاسبه گردید و معادل ۰/۱۸ و ۰/۲ برای GNP و TAT-C-GNP به دست آمد. در همه‌ی موارد ذکر شده، مقدار P بیش از ۰/۰۵ بود. بنا بر این، مرگ سلولی سلول‌های تیمار شده در مقایسه با شاهد آن رده‌ی سلولی، معنی‌دار نبود و GNP و TAT-C-GNP برای هیچ یک از رده‌های سلولی سمی و کشنده نبود.

پپتید TAT-C به نانوذره‌ی طلا در غلظت ۲۵ نانومولار، شدت جذب نانوذره نسبت به حالت بدون پپتید کاهش یافته است که نشان دهنده‌ی جذب پپتید بر روی سطح نانوذره می‌باشد. برای عامل‌دار کردن نانوذره‌ی طلا، از غلظت ۲۵ نانومولار پپتید TAT-C استفاده گردید که این بالاترین غلظت پپتیدی است که در حضور آن، نانوذره برای مدت بیش از دو هفته در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد پایدار می‌باشد.

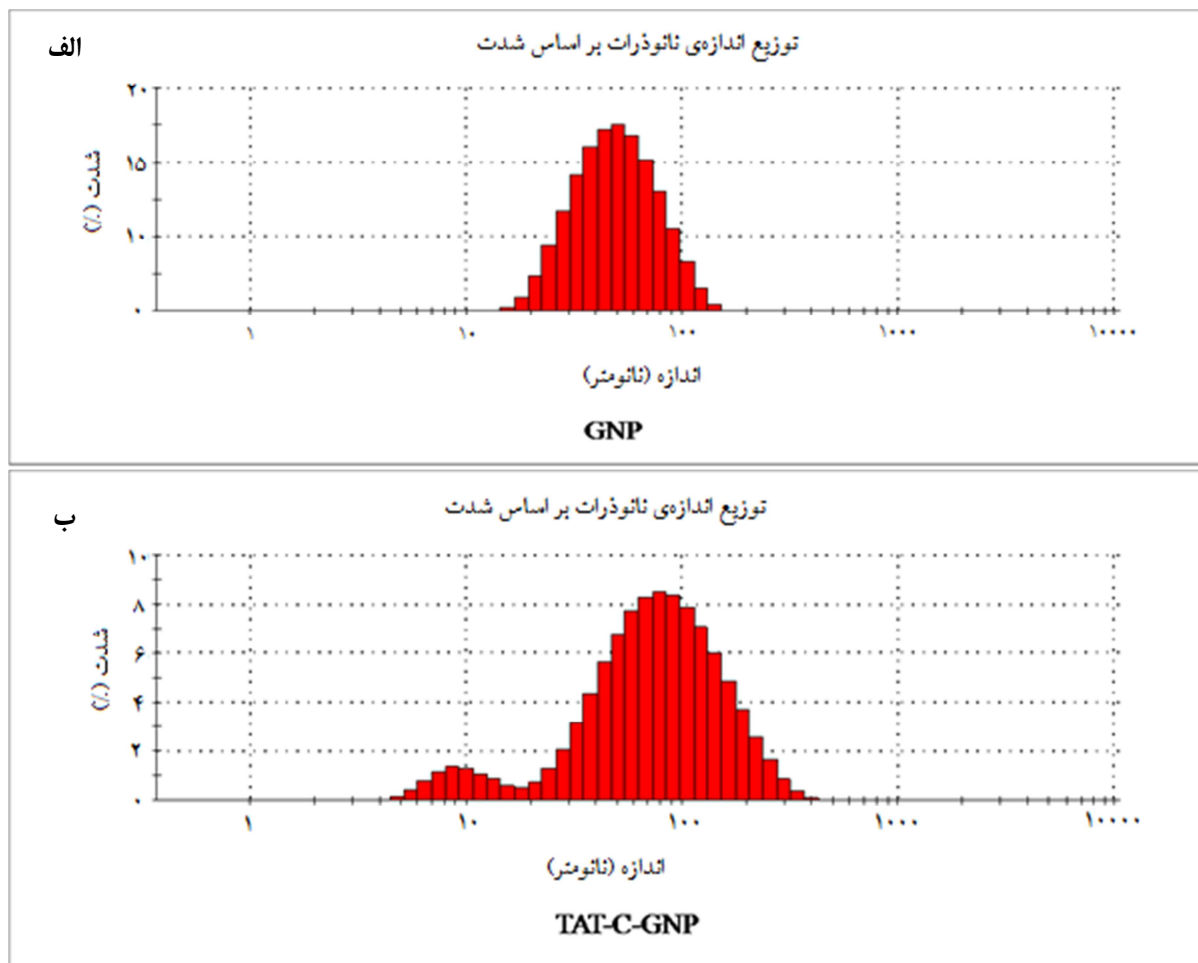


شکل ۱. اسپکتروم جذب نانوذره طلا (Gold nanoparticle) با GNP و TAT-C-GNP (۲۵ نانومولار). به تنهایی و نانوذره بعد از اتصال به پپتید

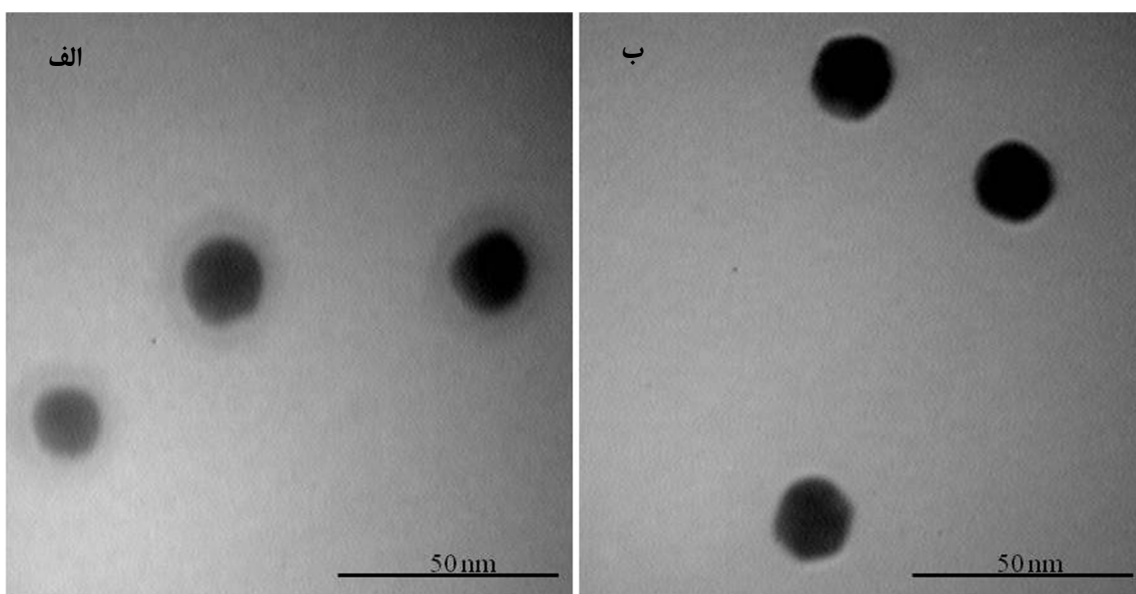
پس از تأیید اتصال پپتید به GNP، در مرحله‌ی بعد، اندازه‌گیری DLS در مورد GNP و TAT-C-GNP انجام شد. اندازه، شاخص توزیع اندازه (PDI) و زتا پتانسیل نانوذرات در دمای

جدول ۱. نتایج DLS (Dynamic light scattering)، اندازه، توزیع اندازه و زتا پتانسیل GNP (Gold nanoparticle) و TAT-C-GNP

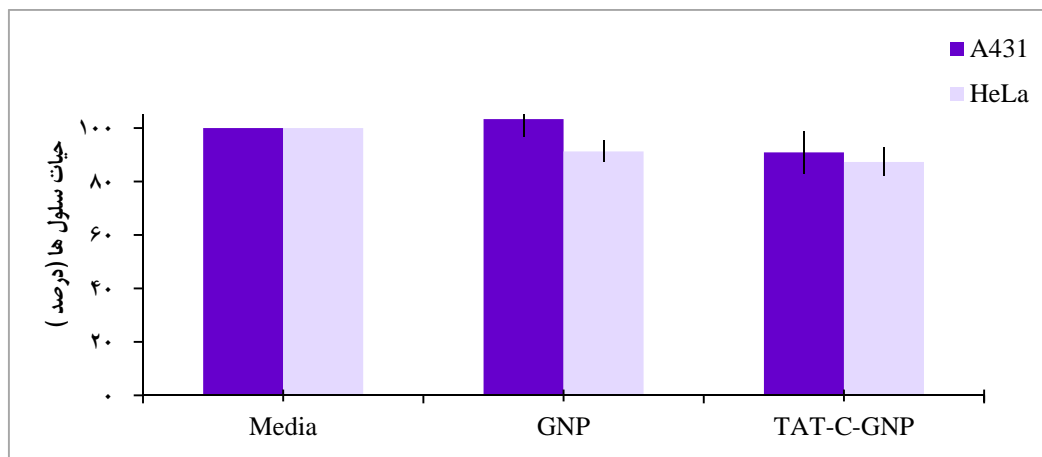
متغیر	اندازه (نانومتر)	شاخص توزیع اندازه‌ی ذرات	زتا پتانسیل (میلی ولت)
GNP	۵۳/۵۴	۰/۲۴۹	-۳۱/۶
TAT-C-GNP	۹۶/۰۵	۰/۴۱۵	-۱۲/۶



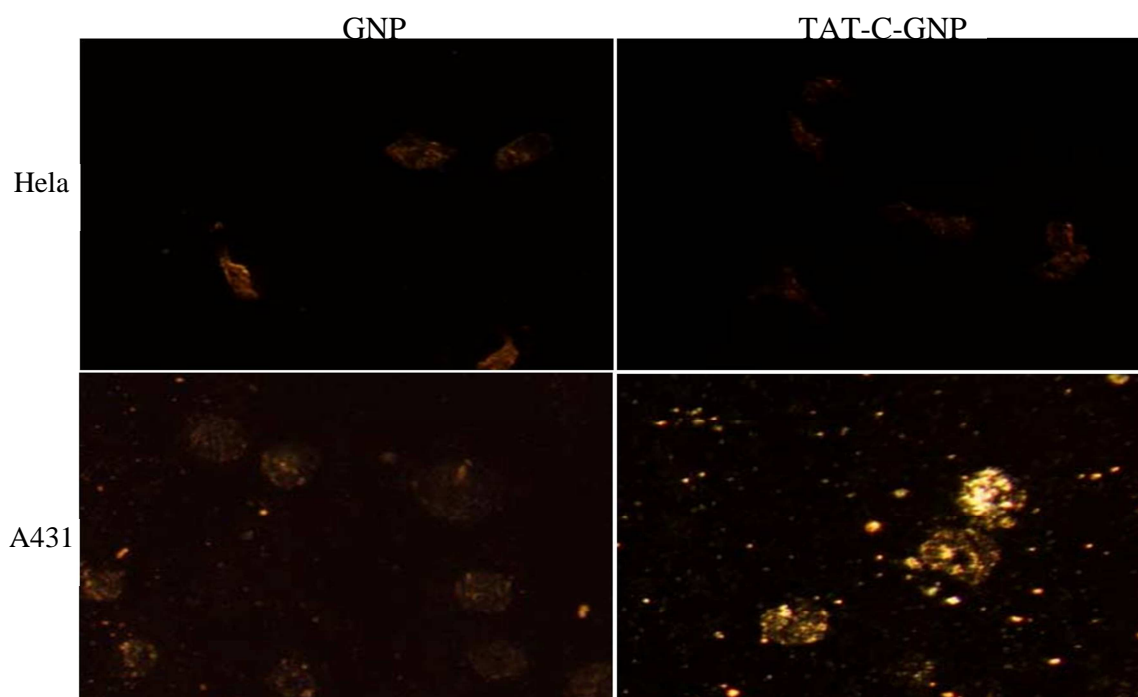
شکل ۲. نمودار هیستوگرام توزیع اندازه‌ی نانوذرات بر اساس شدت. الف) GNP (Gold nanoparticle) ب) TAT-C-GNP



شکل ۳. تصاویر TEM (Transmission electron microscopy) الف) نانوذره‌ی طلا (GNP یا Gold nanoparticle) و ب) TAT-C-GNP



شکل ۴. اثر سیتوتوکسیسیته GNP (Gold nanoparticle) و TAT-C-GNP بر روی سلول‌های HeLa و A431



شکل ۵. تصاویر میکروسکوپ زمینه تاریک سلول‌های HeLa و A431 در اثر تیمار با GNP (Gold nanoparticle) و TAT-C-GNP (بزرگ‌نمایی $\times 20$).

میان‌کنشی نشان نداد؛ در حالی که نفوذ آن به داخل سلول A431 قابل ملاحظه بود. بنا بر این، پپتید TAT توانست به شکل انتخابی ورود GNP به سلول‌های A431 را افزایش دهد؛ در حالی که بر روی نفوذ GNP به سلول‌های HeLa بی‌تأثیر بود (شکل ۵).

جذب نانوذره به داخل سلول‌ها

نانوذرات طلا دارای قدرت پراکنش نوری قوی هستند. بر اساس این خاصیت، از میکروسکوپ زمینه تاریک برای بررسی اثر پپتید بر روی افزایش میزان جذب نانوذرات به داخل سلول‌ها استفاده گردید. مقایسه با GNP، TAT-C-GNP با سلول HeLa

بحث

مطالعه‌ی اخیر با هدف افزایش نفوذ نانوذرات طلا به داخل سلول‌های سرطانی با تکیه بر اتصال پپتید نفوذ کننده در سلول یا CPP (پپتید TAT) به نانوذره به منظور تولید یک نانوحامل با پتانسیل حمل دارو صورت پذیرفت.

در بیش از ۱۵ سال گذشته، روش‌های مختلفی در جهت رهایش هدفمند طراحی شده است تا ورود الیگونوکلتوتیدهای کوچک، پلاسمیدها، پپتیدها و پروتئین‌ها تسهیل گردد. از زمان کشف پروتئین‌ها تسهیل گردد. از زمان کشف پپتیدهای کاتیونی کوچکی (CPPs) که بدون آسیب به غشای سلولی می‌توانستند از آن عبور کنند، شگفتی فراوانی را به وجود آورد (۲۶-۲۷). از آن زمان به بعد، پپتیدهای مختلف دیگری با این خصوصیت نظیر TAT، ترانسپورتن و پلی‌آرژنین شناسایی شدند (۲۸). تا کنون نانوذرات طلا با انواع مختلف CPP عامل‌دار شده‌اند و اثر آن‌ها در رهایش نانوذرات مورد مطالعه قرار گرفته است. نکته‌ی روشن آن است که جذب بر اثر اتصال با CPP افزایش پیدا می‌کند (۲۹).

در مطالعه‌ی حاضر، نانوذرات طلا با پپتید TAT-C جذب شدت جذب TAT-C-GNP نسبت به GNP در محدوده‌ی مرئی به اثبات رسید (شکل ۱). در مرحله‌ی بعد، مطالعه‌ی DLS (اندازه، زتا پتانسیل و توزیع اندازه‌ی ذرات) به منظور تعیین خصوصیات GNP و TAT-C-GNP و مقایسه‌ی آن‌ها با یکدیگر، انجام شد (جدول ۱). این مطالعه نشان داده است، اندازه‌ی TAT-C-GNP نسبت به GNP افزایش یافته است و این افزایش، نشان دهنده‌ی

اتصال پپتید با نانوذره است. همچنین، در مطالعه‌ی زتا پتانسیل، بار منفی TAT-C-GNP نسبت به GNP کاهش یافته است. بار نانوذره‌ی طلا به دلیل وجود لایه‌ی سیترات بر روی آن منفی می‌باشد که به دلیل نشستن پپتید با بار مثبت، میزان بار منفی نانوذره‌ی عامل‌دار شده با پپتید کاهش یافته است که خود، دلیل دیگری بر اتصال پپتید با نانوذره می‌باشد. در شکل ۲، هیستوگرام پراکنش GNP (الف) و TAT-C-GNP (ب) نشان داده شده است. پیک کوچکی که در هیستوگرام مربوط به پراکنش ذرات TAT-C-GNP مشخص شده است، غیر واقعی و مربوط به حرکات چرخشی ذرات غیر کروی می‌باشد (۳۰).

به علاوه، تصاویر TEM از GNP و TAT-C-GNP گرفته شده است (شکل ۳). این تصاویر حاکی از آن است که در سطح خارجی GNP، لایه‌ای با چگالی کمتر نسبت به خود نانوذره قرار گرفته است که این لایه پس از اتصال پپتید در TAT-C-GNP حذف شده است. در این جا نیز اتصال پپتید به نانوذره تأیید گردید.

اثر سیتوتوکسیسیته‌ی GNP و TAT-C-GNP بر روی رده‌های سلولی HeLa و A431 آزمایش شد که در همه‌ی موارد، میزان سمیت کمتر از ۱۵ درصد بود. بنا بر این، در مرحله‌ی بعد نفوذ آن‌ها به داخل هر یک از سلول‌ها با استفاده از میکروسکوپ زمینه تاریک مورد مطالعه قرار گرفت (شکل ۵). بین هیچ یک از نانوذرات طلا (GNP و TAT-C-GNP) و رده‌ی سلولی HeLa میان‌کنشی صورت نگرفت؛ یعنی وجود پپتید TAT نیز نتوانست باعث افزایش جذب نانوذره‌ی طلا به داخل سلول شود؛ چرا که به طور کلی، نانوذراتی با اندازه‌ی کمتر از ۵۰ نانومتر،

ورود موادی نظیر داروهای ضد سرطان را به داخل سلول‌های سرطانی نظیر A431 افزایش دهد.

تشکر و قدردانی

از اعضای محترم بخش بانک ژن و سلول و نیز جناب آقای دکتر مجید تیبانیان در بخش تصفیه‌ی سرم‌های درمانی مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج که در انجام مراحل مختلف این مطالعه همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد. این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد.

نمی‌توانند به داخل سلول HeLa نفوذ کنند (۳۱). اما در مورد سلول A431، پپتید TAT توانست باعث افزایش نفوذ نانوذره‌ی طلا به داخل سلول شود؛ در حالی که خود GNP به تنهایی نتوانست به داخل سلول A431 نفوذ بکند.

در مجموع، نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که پپتید TAT می‌تواند با توجه به نوع سلول و اندازه‌ی نانوذره‌ی طلا، ورود نانوذره به داخل رده‌های سلولی از جمله رده‌های سلولی سرطانی را افزایش دهد. بنا بر این، TAT-C-GNP به عنوان یک نانوحامل، پتانسیل آن را خواهد داشت که بتواند

References

- Paciotti GF, Kingston DGI, Tamarkin L. Colloidal gold nanoparticles: a novel nanoparticle platform for developing multifunctional tumor-targeted drug delivery vectors. *Drug Dev Res* 2006; 67(1): 47-54.
- Ghosh P, Han G, De M, Kim CK, Rotello VM. Gold nanoparticles in delivery applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2008; 60(11): 1307-15.
- Connor EE, Mwamuka J, Gole A, Murphy CJ, Wyatt MD. Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. *Small* 2005; 1(3): 325-7.
- Pissuwan D, Niidome T, Cortie MB. The forthcoming applications of gold nanoparticles in drug and gene delivery systems. *J Control Release* 2011; 149(1): 65-71.
- Nelson CE, Kintzing JR, Hanna A, Shannon JM, Gupta MK, Duvall CL. Balancing cationic and hydrophobic content of PEGylated siRNA polyplexes enhances endosome escape, stability, blood circulation time, and bioactivity in vivo. *ACS Nano* 2013; 7(10): 8870-80.
- Hou KK, Pan H, Ratner L, Schlesinger PH, Wickline SA. Mechanisms of nanoparticle-mediated siRNA transfection by melittin-derived peptides. *ACS Nano* 2013; 7(10): 8605-15.
- Jin E, Zhang B, Sun X, Zhou Z, Ma X, Sun Q, et al. Acid-active cell-penetrating peptides for in vivo tumor-targeted drug delivery. *J Am Chem Soc* 2013; 135(2): 933-40.
- Chanda N, Kattumuri V, Shukla R, Zambre A, Katti K, Upendran A, et al. Bombesin functionalized gold nanoparticles show in vitro and in vivo cancer receptor specificity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(19): 8760-5.
- Tiwari PM, Vig K, Dennis VA, Singh SR. Functionalized gold nanoparticles and their biomedical applications. *Nanomaterials* 2011; 1(1): 31-63.
- Bartczak D, Muskens OL, Sanchez-Elsner T, Kanaras AG, Millar TM. Manipulation of in vitro angiogenesis using peptide-coated gold nanoparticles. *ACS Nano* 2013; 7(6): 5628-36.
- Oyelere AK, Chen PC, Huang X, El-Sayed IH, El-Sayed MA. Peptide-conjugated gold nanorods for nuclear targeting. *Bioconjug Chem* 2007; 18(5): 1490-7.
- Wang C, Wang J, Liu D, Wang Z. Gold nanoparticle-based colorimetric sensor for studying the interactions of beta-amyloid peptide with metallic ions. *Talanta* 2010; 80(5): 1626-31.
- Hoyer J, Neundorf I. Peptide vectors for the nonviral delivery of nucleic acids. *Acc Chem Res* 2012; 45(7): 1048-56.
- Deshayes S, Morris MC, Divita G, Heitz F. Cell-penetrating peptides: tools for intracellular delivery of therapeutics. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62(16): 1839-49.
- Hao X, Wu J, Shan Y, Cai M, Shang X, Jiang J, et al. Caveolae-mediated endocytosis of biocompatible gold nanoparticles in living Hela cells. *J Phys Condens Matter* 2012; 24(16): 164207.

16. Trabulo S, Cardoso AL, Mano M, De Lima MCP. Cell-penetrating peptides-mechanisms of cellular uptake and generation of delivery systems. *Pharmaceuticals* 2010; 3(4): 961-93.
17. de la Fuente JM, Berry CC. Tat peptide as an efficient molecule to translocate gold nanoparticles into the cell nucleus. *Bioconjug Chem* 2005; 16(5): 1176-80.
18. Frankel AD, Pabo CO. Cellular uptake of the tat protein from human immunodeficiency virus. *Cell* 1988; 55(6): 1189-93.
19. Karagiannis ED, Urbanska AM, Sahay G, Pelet JM, Jhunjhunwala S, Langer R, et al. Rational design of a biomimetic cell penetrating peptide library. *ACS Nano* 2013; 7(10): 8616-26.
20. Crombez L, Aldrian-Herrada G, Konate K, Nguyen QN, McMaster GK, Brasseur R, et al. A new potent secondary amphipathic cell-penetrating peptide for siRNA delivery into mammalian cells. *Mol Ther* 2009; 17(1): 95-103.
21. Tran NT, Wang TH, Lin CY, Tsai YC, Lai CH, Tai Y, et al. Direct synthesis of Rev peptide-conjugated gold nanoparticles and their application in cancer therapeutics. *Bioconjug Chem* 2011; 22(7): 1394-401.
22. Sun L, Liu D, Wang Z. Functional gold nanoparticle-peptide complexes as cell-targeting agents. *Langmuir* 2008; 24(18): 10293-7.
23. Tkachenko AG, Xie H, Liu Y, Coleman D, Ryan J, Glomm WR, et al. Cellular trajectories of peptide-modified gold particle complexes: comparison of nuclear localization signals and peptide transduction domains. *Bioconjug Chem* 2004; 15(3): 482-90.
24. Turkevich J. Colloidal gold. Part I. *Gold Bull* 1985; 18(3): 86-91.
25. Derossi D, Joliot AH, Chassaing G, Prochiantz A. The third helix of the Antennapedia homeodomain translocates through biological membranes. *J Biol Chem* 1994; 269(14): 10444-50.
26. Vives E, Brodin P, Lebleu B. A truncated HIV-1 Tat protein basic domain rapidly translocates through the plasma membrane and accumulates in the cell nucleus. *J Biol Chem* 1997; 272(25): 16010-7.
27. Fischer R, Fotin-Mleczek M, Hufnagel H, Brock R. Break on through to the other side-biophysics and cell biology shed light on cell-penetrating peptides. *Chembiochem* 2005; 6(12): 2126-42.
28. Pujals S, Fernandez-Carneado J, Lopez-Iglesias C, Kogan MJ, Giralt E. Mechanistic aspects of CPP-mediated intracellular drug delivery: relevance of CPP self-assembly. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1758(3): 264-79.
29. Levy R, Shaheen U, Cesbron Y, See V. Gold nanoparticles delivery in mammalian live cells: a critical review. *Nano Rev* 2010; 1: 1-18.
30. Khlebtsov BN, Khlebtsov NG. On the measurement of gold nanoparticle sizes by the dynamic light scattering method. *Colloid J* 2011; 73(1): 118-27.
31. Trono JD, Mizuno K, Yusa N, Matsukawa T, Yokoyama K, Uesaka M. Size, concentration and incubation time dependence of gold nanoparticle uptake into pancreas cancer cells and its future application to X-Ray Drug Delivery System. *J Radiat Res* 2011; 52(1): 103-9.

Enhanced Intracellular Translocation of Gold Nanoparticles Functionalized with TAT Peptide into Cancer Cell Lines

Sedigheh Khomehchian PhD¹, Saman Hosseinkhani PhD², Rasool Madani PhD³,
Maryam Nikkhah PhD⁴

Review Article

Abstract

Background: Reduced toxicity and ease of modification make gold nanoparticles (GNPs) suitable for targeted delivery and bioimaging via conjugating cell-penetrating peptides (CPPs). This study aimed to assess the enhanced penetration of gold nanoparticles into cells via using TAT peptide as a cell-penetrating peptide.

Methods: Gold nanoparticles and TAT-conjugated gold nanoparticles (TAT-C-GNP) were characterized using ultraviolet-visible spectrophotometry, dynamic light scattering, zeta potential method, and transmission electron microscopy. The cytotoxicity effects of nanoparticles on HeLa, and A431 cell lines were studied. Uptake of TAT-conjugated gold nanoparticles was tested in cells, using dark field microscopy.

Findings: Gold nanoparticles and TAT-conjugated gold nanoparticles had little to no effect on cell viability. Upon exposure to gold nanoparticles, TAT-conjugated gold nanoparticles displayed higher uptake than gold nanoparticles in A431 cell line; whereas none of the nanoparticles showed penetration in HeLa cell.

Conclusion: Thus, TAT-conjugated gold nanoparticles have enhanced cellular internalization and are suitable for various biomedical applications as nanoconjugates.

Keywords: Gold nanoparticle, Cell penetration peptide, Cellular uptake, Cytotoxicity

Citation: Khomehchian S, Hosseinkhani S, Madani R, Nikkhah M. **Enhanced Intracellular Translocation of Gold Nanoparticles Functionalized with TAT Peptide into Cancer Cell Lines.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(351): 1574-83

1- Department of Nanotechnology, School of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- Professor Department of Biochemistry, School of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3- Professor, Department of Biotechnology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran

4- Assistant Professor, Department of Nanotechnology, School of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Saman Hosseinkhani, Email: saman_h@modares.ac.ir

نقش عوامل رونویسی در تنظیم توسعه و تمایز سلول‌های شبکیه‌ی عصبی

راضیه حیدری^۱، فاطمه ناظم رعایا^۱، دکتر مجید خیراللهی^۲

مقاله مروری

چکیده

شبکیه‌ی عصبی بخشی از Diencephalon است که به دلیل ساختار به نسبت ساده، به عنوان یک مدل مناسب برای مطالعه‌ی مکانیسم‌های ملکولی توسعه‌ی سیستم عصبی مرکزی کاربرد دارد. حس بینایی، حاصل عملکرد شش نوع نورون است که در ساختار شبکیه‌ی عصبی سازمان‌دهی شده است. پیدایش شبکیه‌ی عصبی، حاصل تکثیر یک سلول پیش‌ساز مشترک در لایه‌ی داخلی جام بینایی است که تحت عوامل متفاوت در یک شیوه‌ی وابسته به زمان و حفاظت شده در پستانداران، صلاحیت تمایز به سرنوشت‌های مختلف سلولی را کسب می‌کند. تخریب و فقدان عملکرد سلول‌های شبکیه در بیماری‌های مختلف شبکیه ایجاد می‌شود و فرایند بینایی را در انسان دچار اختلال می‌سازد. عدم بازسازی سلول‌های عصبی آسیب دیده‌ی شبکیه در پستانداران از جمله انسان، یک مشکل شناخته شده است؛ در دهه‌های اخیر، طیف وسیعی از تحقیقات در زمینه‌ی چشم به بررسی امکان جایگزینی سلول‌های شبکیه اختصاص داده شده و تلاش‌های زیادی برای درمان این بیماری‌ها انجام شده است. مطالعه و شناسایی عوامل رونویسی دخیل در تمایز نورونی، می‌تواند ابزار سودمندی در ژن درمانی با هدف بازسازی نورون‌های شبکیه در آینده‌ی نزدیک فراهم سازد.

واژگان کلیدی: عامل رونویسی، شبکیه‌ی عصبی، سلول‌های پیش‌ساز شبکیه

ارجاع: حیدری رضیه، ناظم رعایا فاطمه، خیراللهی مجید. نقش عوامل رونویسی در تنظیم توسعه و تمایز سلول‌های شبکیه‌ی عصبی.

مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۱): ۱۵۹۶-۱۵۸۴

مقدمه

شبکیه، یک ساختار لایه‌ای از جنس بافت عصبی است که در ناحیه‌ی پشتی چشم قرار دارد. این ساختار از سیستم عصبی مرکزی مشتق شده است و ساختاری مشابه در بین پستانداران دارد. شبکیه‌ی عصبی، متشکل از شش نوع اصلی نورون و یک نوع اصلی Glia به نام Muller glia می‌باشد. نورون‌های گانگلیونی در لایه‌ی داخلی، نورون‌های دو قطبی، افقی و آماکرین در لایه‌ی میانی و گیرنده‌های نوری

استوانه‌ای و مخروطی در لایه‌ی خارجی شبکیه قرار دارند. بعضی از انواع اصلی نورون، خود به زیرنوع‌هایی تقسیم می‌شوند که از نظر مورفولوژی، بیوشیمیایی و عملکرد در شبکیه متفاوت هستند. شبکیه‌ی غیر عصبی، با رنگدانه‌های کوچک، لایه‌ی پوششی رنگدانه‌ای شبکیه است که در خارجی‌ترین بخش شبکیه قرار دارد (۱-۳).

مطالعه‌ی شبکیه و چگونگی شکل‌گیری نورون‌های آن، مدل بسیار مناسبی را برای فهم

۱- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و پژوهشکده‌ی پیشگیری اولیه از بیماری‌های غیر واگیر و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه

علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲- استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و پژوهشکده‌ی پیشگیری اولیه از بیماری‌های غیر واگیر و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه

علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مجید خیراللهی

Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir

سیگنال‌ها پردازش می‌شوند و تصویر نهایی را تشکیل می‌دهند (۶).

تکامل ملکولی شبکه

چشم در مرحله‌ی رویانی از هر دو لایه‌ی اکتودرم و مزودرم منشأ می‌گیرد و شبکه‌ی به‌طور خاص از اکتودرمی که از لوله‌ی عصبی مشتق می‌شود، شکل می‌گیرد. قسمت انتهایی وزیکول بینایی، در تماس با سطح اکتودرم است، در حالی که قسمت پشتی آن با مزانشیم دور چشم در تماس است. به نظر می‌رسد سیگنال‌های خارجی که از این بافت‌ها می‌آیند، نقش اساسی در تقسیم‌بندی اولیه‌ی نواحی وزیکول بینایی به لایه‌ی پوششی رنگدانه‌دار چشم و شبکه‌ی عصبی دارند (۳).

بخش پشتی وزیکول بینایی که توسط بافت مزانشیمی احاطه شده است، لایه‌ی پوششی رنگدانه‌دار چشم را تشکیل می‌دهد. سیگنال‌های القایی مانند Transforming growth factor beta (TGF- β) که از بافت مزانشیمی به این قسمت می‌رسد، در القای اولین مراحل تخصصی شدن لایه‌ی پوششی رنگدانه‌دار چشم اثر می‌گذارد. این مسیر پیام‌رسانی، شکل‌گیری هویت شبکه‌ی عصبی را در این منطقه از وزیکول بینایی مهار می‌سازد.

ActivinA یک عضو از خانواده‌ی TGF- β است که گیرنده‌ی آن در قسمت تشکیل دهنده‌ی لایه‌ی پوششی رنگدانه‌دار چشم از وزیکول بینایی وجود دارد. بخش شکمی وزیکول بینایی، در تماس با سطح اکتودرم است و مسیرهای سیگنالینگ FGF (Fibroblast growth factors) را از این ناحیه دریافت می‌کند که به‌طور معمول، مانع از شکل‌گیری لایه‌ی پوششی رنگدانه‌دار چشم می‌شود و تخصصی

چگونگی تمایز نورون‌ها در پیدایش سیستم عصبی مرکزی فراهم می‌کند. در توسعه‌ی شبکه‌ی عصبی، عوامل رونویسی، محیط و سیگنال‌هایی که از سلول‌های مجاور دریافت می‌شوند، دخیل هستند. تخصصی شدن هر نوع از سلول‌های شبکه‌ی با بیان یک سری عوامل خاص در طی یک فرایند وابسته به زمان صورت می‌گیرد؛ به طوری که سلول‌های گانگلیونی در ابتدای پیدایش شبکه‌ی و سلول‌های Muller glia در مراحل نهایی شکل می‌گیرند (۴-۵). در این مطالعه، نقش عوامل رونویسی مختلف در تمایز سلول‌های شبکه‌ی عصبی بررسی شده است.

عملکرد شبکه‌ی عصبی

نور پس از ورود به داخل چشم و عبور از همه‌ی لایه‌های عصبی شبکه‌ی عصبی، به گیرنده‌های نوری مخروطی و استوانه‌ای می‌رسد و توسط آن‌ها جذب می‌شود. در این سلول‌ها، در طی جذب نور، یک سری فعل و انفعالات شیمیایی رخ می‌دهد که منجر به تولید سیگنال‌های عصبی می‌شوند.

این سیگنال، از طریق محل سیناپس گیرنده‌های نوری با سلول‌های دو قطبی و افقی، به این سلول‌ها منتقل می‌شوند و از آن‌ها به سلول‌های آماکرین و گانگلیون ارسال می‌گردند. در طی این مسیر، تغییراتی در سیگنال‌های ارسالی از طرف گیرنده‌های نوری توسط نورون‌های میانی صورت می‌گیرد.

در نهایت، این نورون‌ها در محل آکسون‌های خود، پتانسیل عمل تولید می‌کنند و در نتیجه‌ی آن، سیگنال‌های تولید شده از طریق عصب بینایی از چشم خارج می‌شوند و به مرکز بینایی در بخش پس سری مغز ارسال می‌گردند. در مغز این

بنا بر این، مسیر Notch در حفظ حالت طبیعی در سلول‌های پیش‌ساز شرکت می‌کند و برای القای چنین اثری قادر است سیگنال‌های خارجی را با سیگنال‌های داخلی برای تنظیم تکثیر و تمایز سلولی مرتبط کند. Effectorهای پایین‌دستی مسیر Notch یعنی Hes1 و Hes5 با اتصال به نواحی Promoter ژن‌های ویژه‌ی تمایز نورون، مانع از بیان این ژن‌ها می‌گردند. این دو عامل رونویسی از خانواده‌ی عامل رونویسی Helix-loop-helix بازی می‌باشند.

Hes1، عامل رونویسی و تنظیم‌کننده‌ی کلیدی فرایند تکثیر سلولی در شبکه‌ی همچنین در سایر قسمت‌های سیستم عصبی است. موتاسیون در این ژن در تکثیر سلول‌های پیش‌ساز شبکه‌ی اختلال ایجاد می‌کند و باعث می‌شود که بیان عوامل رونویسی که در تمایز نورون‌ها دیده می‌شود، خیلی زودتر از زمان مقرر صورت گیرد و در نتیجه، نورون‌زایی زود هنگام در شبکه‌ی رخ دهد. Hes5 دیگر عامل مؤثر در تکثیر سلولی و حفظ منبع سلول‌های پیش‌ساز شبکه‌ی است. در موش‌های فاقد فعالیت Hes5 و Hes1، عدم تشکیل وزیکول بینایی مشاهده شده است که نشان دهنده‌ی این است که این دو عامل، اثر تعاونی در تکثیر و حفظ حالت غیر تمایزی سلول‌های پیش‌ساز شبکه‌ی دارند.

مکانیسم دقیقی که عوامل رونویسی پرونورال در طی تمایز نورونی عوامل رونویسی منفی را سرکوب می‌نمایند، نامشخص است، اما عامل Hes6 در این مورد شناخته شده است که با واکنش مستقیم با Hes1 آن را غیر فعال می‌سازد و باعث بیان ژن‌های پرونورال می‌گردد و از تمایز نورونی حمایت می‌کند (۱۰-۱۱).

شدن سلول‌های شبکه‌ی عصبی را هدایت می‌کند. مسیرهای سیگنالینگ اثر خود را با فعال و غیر فعال کردن یک شبکه از عوامل رونویسی انجام می‌دهند. اگر چه عملکرد ملکولی این مسیرهای سیگنالینگ، تا حد زیادی ناشناخته مانده است (۷-۹).

تکثیر و نگهداری سلول‌های پیش‌ساز شبکه‌ی

عوامل رونویسی متعددی در تأمین ذخیره‌ی سلول‌های پیش‌ساز شبکه‌ی شناسایی شده‌اند. عوامل رونویسی RAX, Notch, Hes1 و Hes5 نقش دوگانه بسته به مراحل تکوین شبکه‌ی بر عهده دارند. در مراحل ابتدایی تکوین شبکه‌ی، نقش این عوامل نگهداری منبع سلولی پیش‌ساز شبکه‌ی (سلول‌های پیش‌ساز شبکه‌ی) با تنظیم تکثیر سلول‌های پیش‌ساز شبکه‌ی صورت می‌گیرد. پس از تکثیر مناسب از پیش‌سازها، تمایز نورونی شروع می‌گردد و تمایز موفق نورون‌ها با تأمین و ذخیره‌ی پیوسته‌ی پیش‌سازها صورت می‌گیرد. تکثیر تا بعد از تولد ادامه می‌یابد؛ چرا که برای سازمان‌دهی تعداد صحیح نورون‌ها ضروری است. در مراحل آخر تکوین شبکه‌ی، این عوامل در تمایز و ایجاد Glia cell نقش دارند (۱۰).

در مسیر Notch، اتصال لیگاند دلتا به گیرنده‌ی اثر القایی مثبت در بیان عوامل رونویسی Hes1 و Hes5 دارد. این مسیر، همچنین در سرکوب بیان ژن‌های مرتبط با تمایز نورونی همانند Mash1 و Math5 فعالیت دارد. فعالیت این مسیر، باعث حفظ خاصیت سلول بنیادی و ممانعت از تمایز سلول‌هایی که این مسیر در آن‌ها فعال است، به نورون‌ها می‌گردد.

سلول‌های گانگلیونی

سلول‌های گانگلیونی اولین نورون‌هایی می‌باشند که در شبکه‌ی شکل می‌گیرند. پروژنیوتورهایی که از چرخه‌ی سلولی خارج می‌شوند و شروع به بیان نشانگرهای گانگلیونی می‌کنند، داخلی‌ترین لایه‌ی شبکه‌ی را ایجاد می‌نمایند. سلول‌های گانگلیونی، پیام‌بینایی را از گیرنده‌های نوری که در خارجی‌ترین لایه‌ی شبکه‌ی قرار دارند، به واسطه‌ی نورون‌های دو قطبی و آماکرین دریافت می‌نمایند. حدود ۱/۵ میلیون سلول گانگلیونی در شبکه‌ی انسان وجود دارد که با وجود تنوع در مورفولوژی، ارتباطات سلولی و پاسخ به تحریکات، همگی در داشتن یک آکسون بلند که تا مغز کشیده شده و عصب بینایی را تشکیل می‌دهد، مشترک هستند. در روند شناسایی عوامل رونویسی ضروری برای تمایز سلول گانگلیونی، دو عامل اصلی نقش عمده دارند که مشخص شده است در شبکه‌ی تنظیمی ژنی مسئول شکل‌گیری سلول گانگلیونی، نقش مرکزی دارند.

بیان عامل رونویسی Helix-loop-helix بازی Math5 رخدادی است که برای آغاز نورون‌زایی در شبکه‌ی پستانداران و شکل‌گیری سلول‌های گانگلیونی حیاتی است (۱۱-۱۳). عناصر تنظیمی بیان این عامل ناشناخته است، اما مطالعات بیوانفورماتیک موش دست‌ورزی شده نشان داده است، یک ناحیه‌ی تنظیمی در ژن Math5 وجود دارد که افزایشدهنده است. بیان این ژن نیاز به واکنش با Homeobox عامل رونویسی Pax6 به این توالی دارد. چنین جایگاه مشابهی در انسان مشاهده شده است و با توجه به این که Pax6 در همه‌ی سلول‌های جام بینایی بیان می‌گردد، عوامل دیگری نیازند که به طور مستقیم

زمان و مکان دقیق فعال‌سازی Math5 را کنترل کنند. به نظر می‌رسد Pax6 در یک کمپلکس پروتئینی عمل می‌کند که مجموعه‌ای از سلول‌های پیش‌ساز شبکه‌ی را از چرخه‌ی سلولی خارج می‌سازد و بیان Math5 را القا و به ناحیه‌ی شکل‌گیری سلول‌های گانگلیونی محدود می‌کند (۱۵-۱۴، ۱۰).

عملکرد مهم Math5 در تنظیم بیان Brn3b است. دیگر عامل رونویسی Helix-loop-helix بازی، فرایند شکل‌گیری سلول‌های گانگلیونی است؛ توسط مطالعات انجام گرفته، اکثر مسیرهای مولکولی تمایز سلول‌های گانگلیونی شناسایی شده است (۱۶).

حذف Brn3b منجر به حذف به طور تقریبی کامل سلول‌های گانگلیون و افزایش سایر انواع نورون‌ها مثل سلول‌های آماکرین و مخروطی می‌شود. Brn3b که توسط سلول‌های گانگلیونی در حال مهاجرت، طی تمایز و بلوغ بیان می‌شود، بیان ژن‌های درگیر در مورفوژنز، توسعه‌ی سیستم نورونی و زیکول‌های سیناپسی، نوروفیلانمنت‌ها، پیام‌آوران عصبی و ... را در سلول‌های گانگلیونی تنظیم می‌نماید (۱۷).

سلول‌های دوقطبی

نورون‌هایی که در لایه‌ی میانی شبکه‌ی بین گیرنده‌های نوری و سلول‌های گانگلیون قرار می‌گیرند و انتقال پیام‌های عصبی دریافتی از گیرنده‌های نوری را به صورت مستقیم یا غیر مستقیم به سلول‌های گانگلیون انجام می‌دهند.

سلول‌های دوقطبی را بر اساس نوع گیرنده‌ی نوری که با آن سیناپس می‌دهد، به دو گروه سلول‌های دوقطبی مخروطی و استوانه‌ای تقسیم

مطالعات نشان داده‌اند که بیان *Vsx1* محدود به گروهی از سلول‌های دو قطبی در حال تمایز و بلوغ به نام سلول‌های دوقطبی مخروطی است و عملکرد آن در تخصصی کردن مسیرهای سیگنالینگ بین نورونی و تمایز نهایی این سلول‌ها می‌باشد (۲۵-۲۳).

سلول‌های آماکرین و سلول‌های افقی

نورون‌های آماکرین در لایه‌ی میانی شبکه‌ی عصبی قرار دارند و با آکسون‌های سلول‌های دوقطبی و دندریت‌های سلول‌های گانگلیون سیناپس می‌دهند. حدود ۷۰ درصد پیام‌های عصبی دریافتی توسط سلول‌های گانگلیون، از طریق این نورون‌ها فرستاده می‌شود. سلول‌های آماکرین، متنوع‌ترین سلول‌ها از نظر مورفولوژی، بیوشیمیایی، عملکرد و پراکندگی در شبکه هستند (۲۶). سلول‌های افقی نیز در لایه‌ی میانی شبکه قرار می‌گیرند و بسیاری از عوامل رونویسی در مسیر تنظیمی تمایز و شکل‌گیری این سلول‌ها با سلول‌های آماکرین مشترک هستند. انواع متفاوت از عوامل رونویسی *Math3*، *NeroD1* و *Foxn4* در این مسیر مورد نیازند (۲۷).

Foxn4 یک عامل رونویسی است که به وسیله‌ی یک دومین اتصال به DNA با ۱۱۰ اسید آمینه، شناخته می‌شود (۲۸). بیان *Foxn4* در زیر مجموعه‌ای از سلول‌های پیش‌ساز شبکه که سلول‌های آماکرین و افقی را ایجاد می‌کنند، به وسیله‌ی کنترل بیان عوامل درگیر در تعیین سرنوشت این سلول‌ها صورت می‌گیرد که بیان آن، به طور منحصر در پیش‌سازهای میتوتیک است و پس از تولد و بلوغ در شبکه دیده نمی‌شود.

می‌کنند. مطالعات نشان داده است که تمایز و شکل‌گیری سلول‌های دو قطبی، نیاز به فعالیت چندین عامل رونویسی دارد که ترکیب *Homeobox* ژن *CHX10* و *Helix-loop-helix* های *Mash1* یا *Math3* برای این امر ضروریند (۱۱-۱۰).

نقص در تکثیر سلول‌های پیش‌ساز شبکه در مراحل ابتدایی شکل‌گیری شبکه در غیاب *CHX10*، نیاز این ژن را برای تنظیم ژن‌های درگیر در فرایند تکثیر سلولی نشان می‌دهد. حذف کامل این ژن در مرحله‌ی *Postnatal* در موش، مانع از تمایز سلول‌های پیش‌ساز شبکه به سلول‌های دوقطبی و در نتیجه، فقدان این نورون‌ها در شبکه بدون اثر بر روی تکثیر سلول‌های پیش‌ساز شبکه می‌گردد. از دست رفتن سلول‌های دوقطبی در شبکه، با افزایش در تعداد سلول‌های استوانه‌ای جبران می‌گردد. از آن جایی که سلول‌های استوانه‌ای و دوقطبی، ژن‌های مشابه زیادی را کد می‌کنند، *CHX10* می‌تواند عاملی باشد که شاخص‌های بی‌همتای نورون‌های دوقطبی را به وسیله‌ی مهار ژن‌های ویژه‌ی سلول‌های استوانه‌ای تعیین کند. در انسان نیز چنین حالت مشابهی دیده می‌شود (۲۰-۱۸).

برای تعیین ویژگی‌های تخصصی‌تر سلول‌های دو قطبی، عوامل رونویسی دیگری شناسایی شده‌اند که این عوامل در مراحل بعدی بیان می‌گردند و در بلوغ و تخصصی‌تر شدن سلول اهمیت دارند. بسته به نوع عامل رونویسی، سلول‌های دوقطبی با عملکردهای متفاوت ایجاد می‌گردد. به عنوان مثال، ترکیب *Homeobox* عامل *Vsx1* و *Helix-loop-helix* مربوط به *Bhlhb5*، گروه *Bipolar cell off-cone* و *Helix-loop-helix* مربوط به *Bhlhb4*، گروه *rod bipolar cell* را ایجاد می‌کنند (۲۲-۲۱).

می‌شود. سلول‌های بیان کننده‌ی Ptf1a به طور منحصراً سلول‌های آماکرین یا افقی را تولید می‌نمایند و غیر فعال‌سازی این عامل رونویسی، موجب حذف کامل سلول‌های افقی و کاهش شدید در تعداد سلول‌های آماکرین می‌شود. عامل رونویسی Ptf1a که به صورت گذرا در پیش‌سازهای پس میتوزی در شبکه‌ی در حال تکوین موش بیان می‌گردد، به طور مثبتی بیان Prox1 را در سلول‌هایی که مسیر تمایزی سلول‌های افقی را دنبال می‌کنند، تنظیم می‌نماید. Homeobox Prox1، عامل اصلی و ذاتی برای شکل‌گیری سلول‌های افقی است (۳۱-۳۰، ۱۰).

گیرنده‌های نوری

شبکه‌ی مهرداران محتوی میلیون‌ها گیرنده‌ی نوری متشکل از نورون‌های استوانه‌ای و مخروطی است که برای پدیده‌ی Phototransduction تخصص یافته‌اند. نور پس از عبور از سلول‌های مختلف به گیرنده‌های نوری می‌رسد. نور این سلول‌ها را فعال می‌سازد تا نور را به سیگنال عصبی تبدیل کنند.

در شبکه‌ی انسان حدود ۱۲۰ میلیون سلول استوانه‌ای و ۶-۷ میلیون سلول مخروطی وجود دارد. این سلول‌ها، ژن‌های اختصاصی برای عملکرد خود بیان می‌کنند. فتوپیگمان اختصاصی در سلول‌های استوانه‌ای ردوپسین است و مسئول دید در تاریکی می‌باشد. این سلول‌ها بیشتر در قسمت‌های حاشیه‌ای شبکه قرار گرفته‌اند. سلول‌های مخروطی که مسئول دید رنگی می‌باشند، در قسمت مرکزی ماکولا متمرکز شده‌اند. سیستم دید رنگی در اغلب پستانداران با حضور ۲ نوع فتوپیگمان اسپین با حساسیت به طول موج کوتاه (S یا Short) و متوسط (M یا Medium)

Foxn4 تولید آماکرین‌ها و سلول‌های افقی را با تنظیم بیان عوامل رونویسی Math3، Ptf1a و NeroD1 در سلول‌های پیش‌ساز شبکه کنترل می‌کند (۲۹). همراه با Foxn4، Homeobox عامل Pax6 نقش مهم در شکل‌گیری سلول‌های آماکرین و افقی دارد. برای تولید سلول‌های افقی فعالیت هر دو عامل رونویسی Pax6 و Foxn4 نیاز است؛ به طوری که در غیاب هر کدام از این ژن‌ها، هیچ سلول افقی تولید نمی‌شود، اما جمعیت اندکی از سلول‌های آماکرین تولید می‌شود. فعال‌سازی عوامل رونویسی Math3 و NeroD1 توسط عامل Foxn4 که در تولید آماکرین‌ها وجود دارد، در غیاب Foxn4 توسط یک مسیر جبرانی دیگر نیز صورت می‌گیرد که عامل تنظیمی آن ناشناخته است (۳۰-۲۹).

Math3 در تولید سلول‌های دوقطبی نیز نقش دارد و در سلول‌های آماکرین و افقی بیان می‌گردد. Math3 و NeuroD1 دو عامل رونویسی Helix-loop-helix بازی می‌باشند که در توسعه‌ی سلول‌های آماکرین نقش دارند. بیان هر کدام از عوامل رونویسی Math3 و NeuroD1 به همراه یکی از Homeobox ژن‌های Pax6 یا Six3، باعث ایجاد سلول‌های آماکرین می‌شود (۱۱).

ترکیب Math3 با هر یک از این دو عامل Homeobox، سلول‌های آماکرین و افقی را تولید می‌نماید، اما ترکیب NeroD1 با هر یک از این دو عامل Homeobox، تنها سلول‌های آماکرین را تولید می‌نماید که نشان می‌دهد نقش Math3 و NeuroD1 به صورت مجزا می‌باشد و به طور کامل یکسان نیست (۲۷).

در سطح ملکولی، Ptf1a اولین هدف پایین دست Foxn4 است که در غیاب Foxn4 بیان آن ناپدید

نوری است، تمایل بالایی دارند. بنابراین، Crx ژن‌های زیادی را از طریق اتصال به این نواحی به طور مستقیم فعال می‌سازد، از جمله ژن‌های تنظیم‌کننده‌ی Phototransduction، متابولیسم، شکل‌گیری قطعه‌ی خارجی، اپسین، عوامل رونویسی عمومی و اختصاصی ویژه‌ی گیرنده‌های نوری. موتاسیون در Crx با بیماری‌های Degenerative شبکیه مانند Retinitis pigmentosa، Cone-rod dystrophy-2 (LCA) و Leber congenital amaurosis (RP) همراه است. بیان crx در سلول‌های بنیادی مشتق شده از اجسام مژکی و عنبیه در رت، با قدرت همانند otx2 باعث شکل‌گیری سلول‌های بیان‌کننده‌ی اپسین می‌گردد (۳۵-۳۸).

عوامل تعیین‌کننده‌ی رده‌ی سلول‌های استوانه‌ای

Nrl یک عامل رونویسی ذاتی برای توسعه و عملکرد سلول‌های استوانه‌ای است و بیان ژن‌های زیادی از جمله عامل رونویسی Nr2e3، ردوپسین، زیرواحد بتای cGMP فسفودی‌استراز پروتئین‌های مسیره‌ای سیگنالینگ و ... را در سینرژی با عوامل رونویسی دیگر از جمله crx تنظیم می‌نماید (۳۹). موتاسیون در این ژن، با بیماری‌های Degenerative شبکیه و رتینیت پیگمنتوزا همراه است. حذف Nrl در موش با فقدان گیرنده‌های نوری مخروطی همراه است، اما شکل‌گیری سلول استوانه‌ای به ویژه S-cone افزایش می‌یابد که نشان می‌دهد Nrl، تعیین‌سرنوشت سلول‌های استوانه‌ای را با مهار ژن‌های ویژه‌ی سلول‌های مخروطی در سلول‌های استوانه‌ای انجام می‌دهد (۳۵).

Nr2e3، گیرنده‌ی هسته‌ای ویژه‌ی گیرنده‌ی نوری با لیگاند ناشناخته می‌باشد. اوج بیان Nr2e3 در زمان

همراه است، اما در انسان پیگمان سومی در سلول‌های مخروطی برای طول موج‌های بلندتر (L یا Long) حضور دارد که در طول تکامل، از مضاعف شدگی‌هایی که در ژن M-اپسین بر روی کروموزوم X رخ داده است، ایجاد می‌گردد. فهم شکل‌گیری دید رنگی نیاز به شناسایی عوامل رونویسی دارد که شروع بیان نوع اپسین را تنظیم می‌کند (۳۲-۳۳).

Homeodomain عامل otx2، از عوامل تعیین‌کننده در شکل‌گیری چشم است که برای تعیین سرنوشت گیرنده‌های نوری ضروری است. عملکرد ملکولی otx2 تا حد زیادی ناشناخته است، اما مطالعات مختلف نشان داده است که otx2 رونویسی ژن‌های زیادی از گیرنده‌های نوری از جمله Crx را از طریق اتصال مستقیم به Promoter فعال می‌سازد. این امر، منجر به شکل‌گیری و تمایز نهایی و حفظ و نگهداری گیرنده‌های نوری می‌گردد. حذف این ژن در دوران جنینی، منجر به مرگ جنین و در دوران بلوغ در موش تا حذف کامل گیرنده‌های نوری، کوچک شدن و کاهش در تعداد ملانوزوم در سلول‌های رنگدانه‌ای چشم همراه است، اما سایر سلول‌های شبکیه از این جهش متأثر نمی‌شوند. بیان otx2 در سلول‌های بنیادی مشتق شده از اجسام مژکی و عنبیه در رت، کفایت می‌کند تا این سلول‌ها به سلول‌های شبه گیرنده‌های نوری تمایز یابند که اثبات می‌کند بیان otx2، یک ویژگی اساسی در تخصصی شدن گیرنده‌های نوری است (۳۴-۳۵).

Crx دیگر عامل رونویسی کلیدی برای تمایز گیرنده‌های نوری است که با otx2 همولوژی دارد. این دو ژن، برای اتصال به توالی‌های خاصی که در Promoter و افزاینده‌ی بسیاری از ژن‌های گیرنده‌های

مخروطی نوع S را دنبال می‌کنند. هورمون تیروئید و گیرنده‌ی آن $TR\beta 2$ ، شکل‌گیری سلول‌های مخروطی نوع M یا L و سرکوب شکل‌گیری سلول‌های مخروطی نوع S را دنبال می‌کنند (۴۴-۴۳، ۳۵).

سلول Muller glia

Glia اصلی در چشم، Muller glia می‌باشد. جسم سلولی این سلول‌ها در لایه‌ی میانی شبکیه قرار گرفته است، اما خود سلول در سراسر ضخامت شبکیه کشیده شده و نقش محافظتی برای نورون‌های موجود در شبکیه و انسجام ساختار آن بر عهده دارد. با وجود این که بیشتر مطالعات در شبکیه بر روی نورون‌ها تمرکز دارند، مطالعات اخیر بر روی Glia cell‌ها در سیستم اعصاب مرکزی و در چشم، یک دید عمیق‌تر از عملکرد Glia cell‌ها فراهم کرده است و اهمیت آن‌ها را در حمایت متابولیکی و نگهداری سلامت محیط و بافتی که در آن فعالیت دارند، اثبات کرده است. سلول‌های Muller glia، بسیار مشابه سلول‌های پیش‌ساز شبکیه هستند. زمانی که از نظر مورفولوژیکی و نشانگرهای ملکولی مقایسه می‌شوند، این سلول‌ها Late stage retinal progenitor cell می‌باشند که برخی از عملکردهای اصلی Glia را کسب کرده‌اند، اما به طور غیر قابل برگشت، حالت پیش‌سازی را ترک نمی‌کنند. مطالعات نشان داده است که در پی آسیب‌های شدید به شبکیه، سلول‌های Muller glia، قابلیت تکثیر و تمایز به نورون‌های شبکیه را همانند سلول‌های پیش‌ساز شبکیه دارند (۴۶-۴۵).

بیان مسیر سیگنالینگ Notch در پیش‌سازهای پس میتوزی شبکیه، باعث شکل‌گیری ویژگی Glia و

بلوغ سلول‌های استوانه‌ای دیده شده است و در بزرگسالان حفظ می‌شود، اما سطح آن کاهش می‌یابد. ماندگاری بیان در پستانداران پیشنهاد می‌دهد که این عامل، نقش مهم در تمایز و نگهداری سلول‌های استوانه‌ای دارد. عملکرد $Nr2e3$ از طریق غیر فعال ساختن و عدم بیان ژن‌های ویژه سلول‌های مخروطی و فعال‌سازی ژن‌های سلول‌های استوانه‌ای از طریق واکنش با $crx-Nrl$ می‌باشد. شواهد بسیار زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد $Nr2e3$ از اهداف پایین‌دست ژن Nrl است. موتاسیون $Nr2e3$ در انسان با بیماری اتوزومی مغلوب سندرم افزایش $S\text{-cone}$ (ESCS) و نقص در عملکرد سلول‌های استوانه‌ای و کوری در میانسالی همراه است. در ESCS وجود سلول‌هایی که هم‌زمان دو نوع اپسین S و M را بیان می‌نمایند نیز غیر معمول است (۴۱-۴۰، ۳۵).

عوامل تعیین‌کننده‌ی سلول‌های مخروطی

$ROR\beta 2$ یک گیرنده‌ی هسته‌ای با لیگاند ناشناخته است. وجود توالی حفاظت شده در بالادست ژن S -اپسین در انسان و موش، جایگاه هدف عامل $ROR\beta 2$ است که بیان ژن S -اپسین را به تنهایی القا می‌نماید، اما اثر تعاونی با Crx در فعال‌سازی بیشتر این ژن دارد. مطالعات نشان می‌دهد، $ROR\beta 2$ ممکن است دارای یک نقش اضافی در تمایز هر دو نوع سلول مخروطی و استوانه‌ای باشد (۴۲، ۳۵، ۳۳). عامل دیگر RXR -گیرنده‌ی مرتبط به رتینوئیک اسید است که نقش مهمی در القای بیان ژن S -اپسین دارد (۳۵).

شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد سلول‌های مخروطی نابالغ مسیر پیش‌زمینه‌ای سلول‌های

Glia است که به طور عمده توسط عوامل رونویسی Helix-loop-helix کنترل می‌شود. تکثیر سلول‌های پیش‌ساز شبکیه و حفظ حالت تمایز نیافته در سلول‌های پیش‌ساز، به منظور تأمین منبع کافی از سلول‌های پیش‌ساز شبکیه برای مراحل بعدی تمایز نورونی و سپس سلول‌های Glia ضروری است که به طور عمده توسط Hes1 و Hes5 صورت می‌گیرد. در مراحل بعد، سلول‌های پیش‌ساز شبکیه در یک فرایند وابسته به زمان، صلاحیت کسب سرنوشت سلولی مناسب را به دست می‌آورد؛ به طوری که گانگلیون و آماکرین در مراحل ابتدایی پیدایش شبکیه و سلول‌های دوقطبی و Glia، در مراحل انتهایی شکل می‌گیرند. در این فرایند، ترکیب مناسب عوامل رونویسی Helix-loop-helix و عوامل Homeobox، نقش اساسی دارد.

اگر چه نقش عوامل رونویسی در تخصصی شدن سلول‌های شبکیه مشخص شده است و تغییر بیان مجموعه‌ای از عوامل رونویسی با گذشت زمان در این فرایند رخ می‌دهد، اما مکانیسمی که این تغییرات و کسب سرنوشت‌های مختلف سلولی را با گذشت زمان تنظیم می‌نماید، ناشناخته است.

تخریب و فقدان عملکرد سلول‌های شبکیه که در بیماری‌های مختلف شبکیه از جمله Degeneration ماکولا وابسته به سن (AMD یا Age-related macular degeneration) و رتینیت پیگمنتوزا (RP یا Retinitis pigmentosa) ایجاد می‌شود، فرایند بینایی را در انسان دچار اختلال می‌سازد (۴۷-۴۸).

عدم بازسازی سلول‌های عصبی آسیب دیده‌ی شبکیه در پستانداران، از جمله انسان در دهه‌های

غیاب خاصیت سلول‌های بنیادی می‌گردد. بنا بر این، انتخاب سرنوشت سلول Glia در طی یا بعد از تقسیم نهایی سلول‌های پیش‌ساز شبکیه، صورت می‌گیرد. این که دریافت سیگنال‌های خارجی توسط پیش‌سازهای پس میتوزی و یا خروج سلول از چرخه‌ی سلولی باعث شکل‌گیری Glia می‌شود، هنوز نامعلوم است. علاوه بر عوامل رونویسی Sox2، Hes1، Hes5 و Hers2 که در توسعه‌ی Muller glia نقش دارد، افزایش بیان Homeobox عوامل Rax و Chx10 در مراحل پایانی تکوین شبکیه، با افزایش گلیکوژنز همراه است. در واقع، در مرحله‌ی پایانی تکوین شبکیه، افزایش بیان Chx10 از شکل‌گیری گیرنده‌های نوری استوانه‌ای ممانعت می‌کند و افزایش بیان Rax با افزایش بیان عوامل رونویسی Hes1 و Notch همراه است که این افزایش بیان، با اتصال Rax به ناحیه‌ی Promoter این ژن‌ها صورت می‌گیرد (۱۱). فعالیت مجموعه‌ای از عوامل رونویسی و مسیرهای سیگنالینگ همچون RAX، Notch، Hes1 و Hes5 اجازه می‌دهد سلول‌های پیش‌ساز شبکیه در مراحل ابتدایی تکوین شبکیه، تکثیر شوند و مجموعه‌ای از آن‌ها تا زمان مناسب برای شکل‌گیری Glia غیر متعهد باقی بمانند. این که «چرا سلول‌های Muller glia در مراحل نهایی تکوین شبکیه شکل می‌گیرند و نه در مراحل ابتدایی؟»، نامعلوم است. شاید عوامل ناشناخته‌ی تعیین سرنوشت Glia، تا مراحل آخر توسعه بیان نمی‌شوند.

نتیجه‌گیری

شکل‌گیری شبکیه‌ی عصبی شامل سه مرحله‌ی تکثیر سلول‌های پیش‌ساز، تمایز نورونی و تمایز سلول‌های

تمایز نورون از سلول‌های پیش‌ساز، امکان بازسازی نورون‌های شبکیه را فراهم می‌کند؛ به طوری که در پژوهش‌های مختلف، با به کارگیری منابع متفاوت از سلول‌های بنیادی و عوامل رونویسی مناسب، ایجاد نورون‌های شبکیه گزارش شده است.

اخیر، طیف وسیعی از تحقیقات در زمینه‌ی چشم را به بررسی امکان جایگزینی سلول‌های شبکیه اختصاص داده است و تلاش‌های زیادی برای درمان این بیماری‌ها انجام شده است (۴۹-۵۰).
مطالعه و شناسایی عوامل رونویسی دخیل در

References

- Martinez-Morales JR, Rodrigo I, Bovolenta P. Eye development: a view from the retina pigmented epithelium. *Bioessays* 2004; 26(7): 766-77.
- Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 2005; 85(3): 845-81.
- Harada T, Harada C, Parada LF. Molecular regulation of visual system development: more than meets the eye. *Genes Dev* 2007; 21(4): 367-78.
- Marquardt T, Gruss P. Generating neuronal diversity in the retina: one for nearly all. *Trends Neurosci* 2002; 25(1): 32-8.
- Wang JC, Harris WA. The role of combinatorial coding by homeodomain and bHLH transcription factors in retinal cell fate specification. *Dev Biol* 2005; 285(1): 101-15.
- Graven SN, Browne JV. Visual development in the human fetus, infant, and young child. *Newborn Infant Nurs Rev* 8(4): 194-201.
- Byerly MS, Blackshaw S. Vertebrate retina and hypothalamus development. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2009; 1(3): 380-9.
- Martinez-Morales JR, Del BF, Nica G, Hammerschmidt M, Bovolenta P, Wittbrodt J. Differentiation of the vertebrate retina is coordinated by an FGF signaling center. *Dev Cell* 2005; 8(4): 565-74.
- Nguyen M, Arnheiter H. Signaling and transcriptional regulation in early mammalian eye development: a link between FGF and MITF. *Development* 2000; 127(16): 3581-91.
- Ohsawa R, Kageyama R. Regulation of retinal cell fate specification by multiple transcription factors. *Brain Res* 2008; 1192: 90-8.
- Hatakeyama J, Kageyama R. Retinal cell fate determination and bHLH factors. *Semin Cell Dev Biol* 2004; 15(1): 83-9.
- Brown NL, Kanekar S, Vetter ML, Tucker PK, Gemza DL, Glaser T. Math5 encodes a murine basic helix-loop-helix transcription factor expressed during early stages of retinal neurogenesis. *Development* 1998; 125(23): 4821-33.
- Yang Z, Ding K, Pan L, Deng M, Gan L. Math5 determines the competence state of retinal ganglion cell progenitors. *Dev Biol* 2003; 264(1): 240-54.
- Isenmann S, Kretz A, Cellerino A. Molecular determinants of retinal ganglion cell development, survival, and regeneration. *Prog Retin Eye Res* 2003; 22(4): 483-543.
- Riesenberg AN, Le TT, Willardsen MI, Blackburn DC, Vetter ML, Brown NL. Pax6 regulation of Math5 during mouse retinal neurogenesis. *Genesis* 2009; 47(3): 175-87.
- Wang SW, Kim BS, Ding K, Wang H, Sun D, Johnson RL, et al. Requirement for math5 in the development of retinal ganglion cells. *Genes Dev* 2001; 15(1): 24-9.
- Qiu F, Jiang H, Xiang M. A comprehensive negative regulatory program controlled by Brn3b to ensure ganglion cell specification from multipotential retinal precursors. *J Neurosci* 2008; 28(13): 3392-403.
- Rowan S, Chen CM, Young TL, Fisher DE, Cepko CL. Transdifferentiation of the retina into pigmented cells in ocular retardation mice defines a new function of the homeodomain gene Chx10. *Development* 2004; 131(20): 5139-52.
- Dorval KM, Bobeckko BP, Ahmad KF, Bremner R. Transcriptional activity of the paired-like homeodomain proteins CHX10 and VSX1. *J Biol Chem* 2005; 280(11): 10100-8.
- Livne-Bar I, Pacal M, Cheung MC, Hankin M, Trogadis J, Chen D, et al. Chx10 is required to block photoreceptor differentiation but is dispensable for progenitor proliferation in the postnatal retina. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(13): 4988-93.
- Kim DS, Ross SE, Trimarchi JM, Aach J, Greenberg ME, Cepko CL. Identification of molecular markers of bipolar cells in the murine retina. *J Comp Neurol* 2008; 507(5): 1795-810.
- Bramblett DE, Pennesi ME, Wu SM, Tsai MJ. The transcription factor Bhlhb4 is required for

- rod bipolar cell maturation. *Neuron* 2004; 43(6): 779-93.
23. Chow RL, Volgyi B, Szilard RK, Ng D, McKerlie C, Bloomfield SA, et al. Control of late off-center cone bipolar cell differentiation and visual signaling by the homeobox gene *Vsx1*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(6): 1754-9.
 24. Hayashi T, Huang J, Deeb SS. Expression of *rinx/vsx1* during postnatal eye development in cone-bipolar, differentiating ganglion, and lens fiber cells. *Jpn J Ophthalmol* 2005; 49(2): 93-105.
 25. Ohtoshi A, Wang SW, Maeda H, Saszik SM, Frishman LJ, Klein WH, et al. Regulation of retinal cone bipolar cell differentiation and photopic vision by the *CVC* homeobox gene *Vsx1*. *Curr Biol* 2004; 14(6): 530-6.
 26. Cherry TJ, Trimarchi JM, Stadler MB, Cepko CL. Development and diversification of retinal amacrine interneurons at single cell resolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(23): 9495-500.
 27. Inoue T, Hojo M, Bessho Y, Tano Y, Lee JE, Kageyama R. *Math3* and *NeuroD* regulate amacrine cell fate specification in the retina. *Development* 2002; 129(4): 831-42.
 28. Gouge A, Holt J, Hardy AP, Sowden JC, Smith HK. *Foxn4*—a new member of the forkhead gene family is expressed in the retina. *Mech Dev* 2001; 107(1-2): 203-6.
 29. Li S, Mo Z, Yang X, Price SM, Shen MM, Xiang M. *Foxn4* controls the genesis of amacrine and horizontal cells by retinal progenitors. *Neuron* 2004; 43(6): 795-807.
 30. Fujitani Y, Fujitani S, Luo H, Qiu F, Burlison J, Long Q, et al. *Ptf1a* determines horizontal and amacrine cell fates during mouse retinal development. *Development* 2006; 133(22): 4439-50.
 31. Nakhai H, Sel S, Favor J, Mendoza-Torres L, Paulsen F, Duncker GI, et al. *Ptf1a* is essential for the differentiation of GABAergic and glycinergic amacrine cells and horizontal cells in the mouse retina. *Development* 2007; 134(6): 1151-60.
 32. Deeb SS. Genetics of variation in human color vision and the retinal cone mosaic. *Curr Opin Genet Dev* 2006; 16(3): 301-7.
 33. Roberts MR, Hendrickson A, McGuire CR, Reh TA. Retinoid X receptor (γ) is necessary to establish the S-opsin gradient in cone photoreceptors of the developing mouse retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46(8): 2897-904.
 34. Henderson RH, Williamson KA, Kennedy JS, Webster AR, Holder GE, Robson AG, et al. A rare de novo nonsense mutation in *OTX2* causes early onset retinal dystrophy and pituitary dysfunction. *Mol Vis* 2009; 15: 2442-7.
 35. Swaroop A, Kim D, Forrest D. Transcriptional regulation of photoreceptor development and homeostasis in the mammalian retina. *Nat Rev Neurosci* 2010; 11(8): 563-76.
 36. Hennig AK, Peng GH, Chen S. Regulation of photoreceptor gene expression by *Crx*-associated transcription factor network. *Brain Res* 2008; 1192: 114-33.
 37. Furukawa T, Morrow EM, Cepko CL. *Crx*, a novel *otx*-like homeobox gene, shows photoreceptor-specific expression and regulates photoreceptor differentiation. *Cell* 1997; 91(4): 531-41.
 38. Peng GH, Chen S. *Crx* activates opsin transcription by recruiting HAT-containing co-activators and promoting histone acetylation. *Hum Mol Genet* 2007; 16(20): 2433-52.
 39. Oh EC, Cheng H, Hao H, Jia L, Khan NW, Swaroop A. Rod differentiation factor *NRL* activates the expression of nuclear receptor *NR2E3* to suppress the development of cone photoreceptors. *Brain Res* 2008; 1236: 16-29.
 40. Cheng H, Khanna H, Oh EC, Hicks D, Mitton KP, Swaroop A. Photoreceptor-specific nuclear receptor *NR2E3* functions as a transcriptional activator in rod photoreceptors. *Hum Mol Genet* 2004; 13(15): 1563-75.
 41. Haider NB, Mollema N, Gaule M, Yuan Y, Sachs AJ, Nystuen AM, et al. *Nr2e3*-directed transcriptional regulation of genes involved in photoreceptor development and cell-type specific phototransduction. *Exp Eye Res* 2009; 89(3): 365-72.
 42. Srinivas M, Ng L, Liu H, Jia L, Forrest D. Activation of the blue opsin gene in cone photoreceptor development by retinoid-related orphan receptor beta. *Mol Endocrinol* 2006; 20(8): 1728-41.
 43. Liu H, Etter P, Hayes S, Jones I, Nelson B, Hartman B, et al. *NeuroD1* regulates expression of thyroid hormone receptor 2 and cone opsins in the developing mouse retina. *J Neurosci* 2008; 28(3): 749-56.
 44. Ng L, Hurley JB, Dierks B, Srinivas M, Salto C, Vennstrom B, et al. A thyroid hormone receptor that is required for the development of green cone photoreceptors. *Nat Genet* 2001; 27(1): 94-8.
 45. Fischer AJ, Reh TA. Potential of Muller glia to become neurogenic retinal progenitor cells. *Glia* 2003; 43(1): 70-6.
 46. Jadhav AP, Roesch K, Cepko CL. Development and neurogenic potential of Muller glial cells in the vertebrate retina. *Prog Retin Eye Res* 2009; 28(4): 249-62.

47. Liang FQ, Godley BF. Oxidative stress-induced mitochondrial DNA damage in human retinal pigment epithelial cells: a possible mechanism for RPE aging and age-related macular degeneration. *Exp Eye Res* 2003; 76(4): 397-403.
48. Radtke ND, Seiler MJ, Aramant RB, Petry HM, Pidwell DJ. Transplantation of intact sheets of fetal neural retina with its retinal pigment epithelium in retinitis pigmentosa patients. *Am J Ophthalmol* 2002; 133(4): 544-50.
49. Meyer JS, Shearer RL, Capowski EE, Wright LS, Wallace KA, McMillan EL, et al. Modeling early retinal development with human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(39): 16698-703.
50. Bi YY, Feng DF, Pan DC. Stem/progenitor cells: a potential source of retina-specific cells for retinal repair. *Neurosci Res* 2009; 65(3): 215-21.

The Role of Transcription Factors in Regulating the Development and Differentiation of Neural Retina Cells

Razeih Heidari MSc¹, Fatemeh Nazemroaya MSc¹, Majid Kheirollahi PhD²

Review Article

Abstract

Neural retina is the part of the diencephalon and because of the relatively simple structure in known as a suitable model for studying the molecular mechanisms of the central nervous system. Visual perception is the result of the function of six types of neurons organized in the structure of the neural retina. Neural retina develops via the proliferation of a common precursor cell in the inner layer of the optic cup. Retinal progenitor cell acquires the competent to differentiate into different cell fates by different factors in a time-dependent and protected manner in the mammals. Destruction and loss of these cells in the retina occurs in various retinal diseases and impairs the process of human vision. Lack of reconstruction of damaged nerve cells in the retina of mammals, including humans is a noted problem; and in recent decades, a wide range of research in the eye field allocated the possibility of replacing the retinal cells and many efforts is made to treat these diseases. Study and identifying the transcription factors involved in neuronal differentiation can provide a useful tool for gene therapy aiming to regenerate retinal neurons in the near future.

Keywords: Transcription factor, Neural retina, Retinal progenitor cells

Citation: Heidari R, Nazemroaya F, Kheirollahi M. **The Role of Transcription Factors in Regulating the Development and Differentiation of Neural Retina Cells.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(351): 1584-96

1- Pediatrics Inherited Diseases Research Center, Research Institute for Primordial Prevention of Non-Communicable Disease AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

Corresponding Author: Majid Kheirollahi PhD, Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir

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

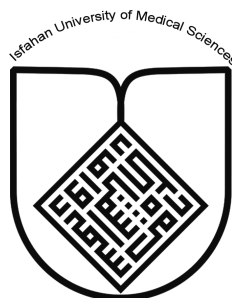
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

INSTRUCTION TO AUTHORS

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

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Mojtaba Abtahi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
3. **Mohammad Esmail Akbari** MD, Professor of Thoracic Surgery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6. **Saeid Andalib Jortani** MD, Professor of Pathology, Lewis Weil University, USA
7. **Gholam Reza Askari** MD, PhD of Nutrition, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Assistant Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Majid Berekatain** MD, 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. **Saeid Morteza Heidari** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. **Mansour karamooz** MD, Professor of Urology, California, USA
27. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics & Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
29. **Majid Khazaei** MD, PhD, Associate Professor of Medical Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
30. **Parvin Mahzooni** MD, Associate Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
31. **Majid Maleki** MD, Professor of Cardiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
32. **Mohammad Mardani** MD, Associate Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
33. **Atiye Moghisi** MD, Professor of Endocrinology, Endocrine and Metabolism Research Center, USA
34. **Mehdi Modares** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
35. **Hoshang Moein** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. **Fereydoun Nouhi** MD, Professor of Cardiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
37. **Mohammadreza Nourbakhsh** Associate Professor of Physiotherapy, USA
38. **Farzin Pourfarzad** Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands
39. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. **Hassan Razmju** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. **Mohammad Reza Safavi** MD, Assistant Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
42. **Reza Rouzbahani** MD, MPH, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
43. **Mansour Sholevar** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
44. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 33, No. 351, 3rd Week, November 2015

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:

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

Telefax: +98 31 37922291

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

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

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

Telefax: +98 31 36686302

E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexes

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

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

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