



مقاله های پژوهشی

- بررسی فراوانی نسبی تومور بازمانده آدرنال در بیضه (TART) در بیماران پسر مبتلا به هایپر پلازی مادرزادی آدرنال (CAH) زیر ۲۰ سال ۱۰۱۹
 دکتر محمد حسن مؤدب، دکتر مهین هاشمی پور، معصومه آزادی
- مقایسه عملکرد طبقه بندی کننده های مختلف در پیشگویی متاستاز سرطان سینه با استفاده از میکرو آرایه ۱۰۲۸
 زهرا امینی، دکتر علیرضا مهری دهنوی
- ارزیابی توانایی پروتئین نو ترکیب Omp31 بروسلا ملی تنسیس در تکثیر سلول های طحال موش های ایمن شده در شرایط آزمایشگاه ۱۰۳۶
 دکتر امیر قاسمی، دکتر محمد حسین سالاری، دکتر امیر حسن زرنانی، دکتر محمود جدی تهرانی، دکتر رضا رنجبر
- استفاده از شاخص های تن سنجی در طراحی معادلات پیشگوی تخمین چربی کل بدن جهت حذف اسکندگزا از کل بدن ۱۰۴۶
 دکتر محمدرضا سلامت، دکتر احمد شائنی، مهدی عسگری، امیر حسین سلامت، مهری خوشحالی

مقاله کوتاه

- بررسی مقایسه ای درمان تک دوز و چند دوز متوترکسات در تغییرات سطح BHCG در حاملگی خارج رحمی در زنان ... ۱۰۵۴
 دکتر طراوت فاخری، دکتر انیس الدوله نانکلی، دکتر هاله شهلازاده، دکتر مینا عطایی، مینا نیاکان شهری

Original Articles

- The Relative Prevalence of Testicular Adrenal Rest Tumors in Fewer than 20-Years-Old Boys with Congenital Adrenal Hyperplasia 1027
 Mohammad Hassan Moadab MD, Mahin Hashemipour MD, Masoumeh Azadi MD
- Comparison of Different Classifiers for Prediction of Breast Cancer Metastasis in Microarray Analysis ... 1035
 Zahra Amini MSc, Alireza Mehridehnavi PhD
- In-Vitro Potential of Recombinant Omp31 Protein from Brucella Melitensis in Inducing the Proliferation of Immunized Mouse Lymphocytes 1045
 Amir Ghasemi PhD, Mohammad Hossein Salari PhD, Amir Hassan Zarnani PhD, Mahmood Jeddi-Tehrani PhD, Reza Ranjbar PhD
- Using Anthropometric Indices Predictive Equations for Estimating Whole-Body Fat Mass Instead of Whole Body Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Scan 1053
 Mohammad Reza Salamat PhD, Ahmad Shanei PhD, Mahdi Asgari MSc, Amirhossein Salamat MSc, Mehri Khoshhali MSc
- Short Communication**
- Comparison of Single-Dose and Multiple-Dose Systemic Methotrexate Regimen for Ectopic Pregnancy ... 1060
 Taravat Fakheri MD, Anisodowleh Nankali MD, Hale Shahlazadeh MD, Mina Ataee MD, Mina Neyakan Shahri MSc



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۲۹۲)، هفته اول شهریور ۱۳۹۳

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

E-mail: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مسئول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱۱-۶۶۹۴۷۳۷

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: ۰۳۱۱-۶۶۸۶۳۰۲

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

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

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

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

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

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

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

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

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

۱۰۱۹.....سال ۲۰ زیر ۲۰ (CAH) در بیماران پسر مبتلا به هایپر پلازی مادرزادی آدرنال در بیضه (TART) در بیمارستان پسر مبتلا به هایپر پلازی مادرزادی آدرنال (CAH) زیر ۲۰ سال.....۱۰۱۹
دکتر محمد حسن مؤدب، دکتر مهین هاشمی‌پور، معصومه آزادی

۱۰۲۸.....
مقایسه‌ی عملکرد طبقه‌بندی کننده‌های مختلف در پیشگویی متاستاز سرطان سینه با استفاده از میکرو آرایه.....۱۰۲۸
زهرا امینی، دکتر علیرضا مهری دهنوی

۱۰۳۶.....
ارزیابی توانایی پروتئین نو ترکیب Omp31 بروسلا ملی تنسیس در تکثیر سلول‌های طحال موش‌های ایمن شده در شرایط آزمایشگاه.....۱۰۳۶
دکتر امیر قاسمی، دکتر محمد حسین سالاری، دکتر امیرحسین زرنانی، دکتر محمود جدی تهرانی، دکتر رضا رنجبر

۱۰۴۶.....
استفاده از شاخص‌های تن سنجی در طراحی معادلات پیشگوی تخمین چربی کل بدن جهت حذف اسکن دگزا از کل بدن.....۱۰۴۶
دکتر محمدرضا سلامت، دکتر احمد شانی، مهدی عسگری، امیرحسین سلامت، مهری خوشحالی

مقاله کوتاه

۱۰۵۴.....
بررسی مقایسه‌ای درمان تک دوز و چند دوز متوتروکسات در تغییرات سطح BHCG در حاملگی خارج رحمی در زنان.....۱۰۵۴
دکتر طراوت فاخری، دکتر انیس‌الدوله نانکلی، دکتر هاله شهلازاده، دکتر مینا عطایی، مینا نیاکان شهری

بررسی فراوانی نسبی تومور بازمانده آدرنال در بیضه (TART) در بیماران پسر مبتلا به هایپر پلازی مادرزادی آدرنال (CAH) زیر ۲۰ سال

دکتر محمد حسن مؤدب^۱، دکتر مهین هاشمی پور^۲، معصومه آزادی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سلول‌های آدرنوکورتیکال نابه‌جا در بیضه‌ی بیماران مبتلا به CAH (Congenital adrenal hyperplasia) مشابه با غدد آدرنال هایپرپلاستیک می‌شوند و تومور تستیکولار ایجاد می‌کنند که تحت عنوان TART (Testicular adrenal rest tumor) شناخته شده‌اند. این تومور به صورت مکرر در بالغین مرد مبتلا به CAH یافت می‌شود و اغلب خوش‌خیم است؛ اما به علت محل تومور (بیضه) می‌تواند باعث انسداد مجرای سمینفروز، اختلال عملکرد گنادها و نازایی شود. بنابراین تشخیص و درمان تومور در مراحل اولیه اهمیت دارد. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی نسبی تومور بازمانده آدرنال در بیضه (TART) در اطفال مبتلا به هایپر پلازی مادرزادی آدرنال (CAH) به انجام رسید.

روش‌ها: این مطالعه یک مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی بود که در سال ۱۳۹۰ در مرکز آموزشی درمانی الزهرا (س) اصفهان به انجام رسید. برای ۴۴ بیمار مبتلا به CAH با سن زیر ۲۰ سال که به این مرکز مراجعه کردند، جهت تشخیص توده‌ی قابل لمس معاینه‌ی دقیق بیضه و اسکروتوم و نیز سونوگرافی بیضه انجام شد. در روز مراجعه، قد، وزن و فشار خون اندازه‌گیری و کنترل بیماران بر اساس قد و وزن و سطح سرمی ۱۷-هیدروکسی پروژسترون ارزیابی شد. در نهایت، فراوانی نسبی تومور در بیماران و ارتباط آن با سطح سرمی ۱۷-هیدروکسی پروژسترون، دوز داروی مصرفی، میزان کنترل بیماری و طول مدت بیماری بررسی گردید. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: در ۲ بیمار (۴/۵ درصد) TART گزارش شد که در یکی از آن‌ها تومور دو طرفه در پل فوقانی هر دو بیضه گزارش شد و در دیگری تومور در ناحیه‌ی مدیاستینوم بیضه‌ی چپ رؤیت شد. هر ۲ بیمار در محدوده‌ی سنی ۲۰-۱۵ سال، تحت کنترل هورمونی و درمان کافی و مناسب بیماری و مبتلا به گونه‌ی از دست دهنده‌ی نمک بودند و هیچ یک از ۲ بیمار، اختلال عملکردی گناد نداشتند. متوسط اندازه‌ی تومور ۱۴ mm بود. سطح سرمی ۱۷-هیدروکسی پروژسترون در بیماران مبتلا به TART کمتر از سایر بیماران بود و در هیچ کدام از بیماران توده‌ی قابل لمس در معاینه یافت نشد.

نتیجه‌گیری: محدوده‌ی سنی ۲ بیمار مبتلا (بالای ۱۵ سال)، بیانگر رابطه‌ی طول مدت بیماری و شیوع تومور می‌باشد. معاینه‌ی بالینی برای تشخیص تومور از دقت کافی برخوردار نیست و توصیه می‌شود برای تمامی بیماران به صورت دوره‌ای سونوگرافی انجام گردد.

واژگان کلیدی: تومور بازمانده‌ی آدرنال در بیضه، هایپر پلازی مادرزادی آدرنال، سونوگرافی

ارجاع: مؤدب محمد حسن، هاشمی پور مهین، آزادی معصومه. بررسی فراوانی نسبی تومور بازمانده آدرنال در بیضه (TART) در بیماران

پسر مبتلا به هایپر پلازی مادرزادی آدرنال (CAH) زیر ۲۰ سال. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۲): ۱۰۲۷-۱۰۱۹

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

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

۲- استادیار. گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

مقدمه

هایپرپلازی مادرزادی آدرنال (CAH) یا Congenital adrenal hyperplasia) خانواده‌ای از اختلالات اتوزوم مغلوب در بیوستتیزول را شامل می‌شود (۱). کمبود کورتیزول ترشح کورتیکوتروپین (ACTH یا Adrenocorticotrophic hormone) را افزایش می‌دهد که به هایپرپلازی آدرنوکورتیکال و تولید بیش از حد متابولیت‌های واسطه می‌انجامد (۱). بسته به این که کمبود در کدام مرحله‌ی آنزیمی وجود دارد، ممکن است علائم و نشانه‌ها و یافته‌های آزمایشگاهی کمبود یا ازدیاد مینرالوکورتیکوئیدها، ویریلیزاسیون ناکامل یا بلوغ زودرس در پسران مبتلا و ویریلیزاسیون یا کودک ماندن از نظر جنسی در دختران مبتلا وجود داشته باشد (۱-۲).

بیش از ۹۰ درصد موارد CAH بر اثر کمبود ۲۱-هیدروکسیلاز ایجاد می‌گردد. در شدیدترین شکل بیماری که با اتلاف نمک همراه است، کمبود هر دو هورمون کورتیزول و آلدوسترون دیده می‌شود (۳-۴، ۱).

در بیمارانی که شدت ابتلا مختصری کمتر است، سنتز آلدوسترون به مقدار کافی صورت می‌گیرد؛ اما آندروژن‌های آدرنال افزایش یافته است که این اختلال ویریلیزاسیون ساده نامیده می‌شود. این دو شکل بیماری، در مجموع تحت عنوان کمبود ۲۱-هیدروکسیلاز کلاسیک نام گرفتند (۵-۶).

در بیماران پسر مبتلا به CAH، گاهی اوقات سلول‌های آدرنوکورتیکال نابه‌جا در بیضه‌ی بیماران مشابه با غدد آدرنال هایپرپلاستیک می‌شوند و تومورهای تستیکولار ایجاد می‌کنند که تحت عنوان TART (Adrenal rest tumor Testicular) شناخته

شده‌اند (۷-۸). تاکنون هیچ مکانیسم دقیقی برای رشد تومور گزارش نشده است، شاید ACTH می‌تواند به عنوان یک محرک قوی برای رشد تومور در نظر گرفته شود. برخی مطالعات حاکی از ارتباط بین کنترل هورمونی و رشد تومور می‌باشد.

آدرنال و گنادها منشأ جنینی یکسان از اپیتلیوم Coelomic دارند و در دوره‌ی پری‌ناتال در مجاورت یکدیگر رشد می‌کنند تا زمانی که آدرنال Groove به طور کامل شکل گیرد (۹).

حین نزول بیضه‌ها، یک سری از سلول‌های آدرنال در طول شریان‌های تغذیه کننده به داخل بیضه‌ها مهاجرت می‌کنند که تحت عنوان بافت نابه‌جای آدرنال در گنادها یا Adrenal rest tumor شناخته می‌شوند و منشأ تومورهای تستیکولار در بیماران مبتلا به CAH از همین بافت نابه‌جای آدرنال می‌باشد (۱۰-۱۲).

این تومور به صورت مکرر در بالغین مرد مبتلا به CAH یافت می‌شود و اغلب خوش‌خیم است؛ اما به علت محل تومور در بیضه‌ها، می‌تواند باعث انسداد مجرای سمینفروز و اختلال احتمالی در عملکرد گنادها و نازایی شود. بنابراین تشخیص و درمان تومور در مراحل ابتدایی اهمیت دارد (۱۳-۱۵).

سونوگرافی روش مناسبی برای تشخیص و پیگیری بیماران مبتلا به TART می‌باشد؛ به ویژه در مواردی که تومور قابل لمس نباشد.

بیشترین مطالعاتی که در مورد شیوع TART صورت گرفته است، در بالغین می‌باشد و مطالعاتی که جمعیت زیادی از اطفال را بررسی کنند، انجام نشده است (۱۶-۱۷).

در مطالعه‌ی Avila و همکاران، از ۴۲ بیمار مبتلا به CAH در سنین ۳۱-۵ سال سونوگرافی سریال

انجام شد. ۱۲ بیمار TART داشتند که ۸۳ درصد موارد تشخیص داده شده، توده‌ی قابل لمس در معاینه نداشتند (۱۸). در این مطالعه، تنها در ۱۱ بیمار از کل بیماران مبتلا به CAH، هنوز اپی‌فیز بسته نشده بود که در این ۱۱ بیمار (۹۱ درصد) سن استخوانی حاکی از عدم کنترل بیماری برای مدت‌های طولانی بوده است (۱۸-۱۹). در این مطالعه اندازه‌ی تومور و تغییر در اندازه و حجم تومور در طی سونوگرافی‌های سریال ارتباطی با سطح سرمی ۱۷-هیدروکسی پروژسترون نداشته است (۱۹).

با توجه به این که مطالعات جامعی در ارتباط با فراوانی نسبی TART در اطفال مبتلا به CAH صورت نگرفته است و در کشور ما نیز آمار دقیقی از شیوع این تومور در اطفال موجود نیست و با توجه به اهمیت تشخیص به موقع و زودهنگام تومور در اطفال مبتلا به CAH، این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی با هدف بررسی فراوانی نسبی TART در اطفال زیر ۲۰ سال مبتلا به CAH به انجام رسید.

روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی بود که در سال ۱۳۹۰ در مرکز آموزشی درمانی الزهرا (س) اصفهان به انجام رسید. جامعه‌ی آماری مورد مطالعه شامل بیماران پسر مبتلا به CAH پذیرش شده در درمانگاه غدد اطفال این بیمارستان بود. معیارهای ورود به مطالعه شامل ابتلای شناخته شده به CAH، سن زیر ۲۰ سال و موافقت بیمار یا والدین برای شرکت در مطالعه بود. همچنین در صورت عدم امکان معاینه و نقص اطلاعات، بیمار از مطالعه خارج می‌شد. برای ۴۴ بیمار مبتلا به CAH که وارد مطالعه

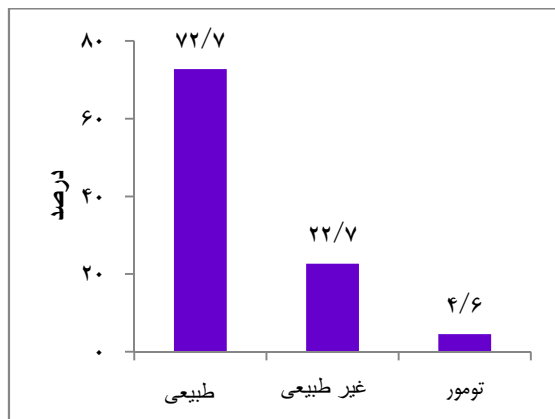
شدند، معاینه‌ی دقیق بیضه و اسکروتوم توسط فوق تخصص غدد کودکان صورت گرفت تا در صورت وجود، توده‌ی قابل لمس تشخیص داده شود. همچنین برای تمامی بیماران سونوگرافی بیضه توسط یک رادیولوژیست با تجربه انجام شد و در صورت وجود توده، اندازه و حجم آن تعیین شد. داده‌های مطالعه بعد از جمع‌آوری و رفع نقص وارد رایانه شد و به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون‌های آماری مورد مطالعه شامل آزمون‌های One-way ANOVA, Fisher's exact (One-way analysis of variance)، t و بود.

بیماران در ۴ گروه سنی طبقه‌بندی شدند: ۱-۵ سال، ۵-۱۰ سال، ۱۰-۱۵ سال و ۱۵ سال و بالاتر که تعداد بیماران هر گروه به ترتیب ۹ نفر، ۱۵ نفر، ۹ نفر و ۱۱ نفر بود. میانگین سنی این بیماران $10/2 \pm 5/8$ سال بود. در تمامی بیماران تشخیص CAH بر اساس علائم بالینی و آزمایش‌ها صورت گرفته بود.

۲۹ بیمار مبتلا به گونه‌ی از دست دهنده‌ی نمک بودند (SW یا Salt-wasting) و ۱۵ بیمار مبتلا به نوع ویریلیزاسیون ساده (SV یا Simple virilising) بودند. در بیماران مبتلا به نوع SW، در ۱۶ بیمار تشخیص بیماری در ۲ ماه اول زندگی داده شده بود و ۱۳ بیمار بعد از ۲ ماهگی تشخیص داده شده بودند که از بین آن‌ها، ۶ بیمار در سن زیر ۱ سال و ۷ بیمار در سن بالای ۱ سال تشخیص داده شده بودند.

در بیماران مبتلا به نوع SV تنها ۳ بیمار در سن ۲ ماهگی تشخیص داده شده بودند و ۱۲ بیمار بعد از ۲ ماهگی (۸ نفر زیر ۵ سال و ۴ نفر بالای ۵ سال) تشخیص داده شده بودند.

سونوگرافی در ۳۲ بیمار (۷۲/۷ درصد) طبیعی و در ۱۰ بیمار (۲۲/۷ درصد) به صورت غیر طبیعی بود و در ۲ بیمار (۴/۵ درصد) تومور گزارش شده بود (شکل ۱).



شکل ۱. یافته‌های سونوگرافی در بیماران تحت مطالعه

در یکی از ۲ بیمار مبتلا به تومور، تومور دو طرفه گزارش شد. هر ۲ بیمار، مبتلا به گونه‌ی از دست دهنده‌ی نمک بودند و در توده‌ی قابل لمس در معاینه یافت نشد. هر دو بیمار در گروه سنی بالاتر از ۱۵ سال قرار داشتند. متوسط اندازه‌ی تومور ۱۴ mm بود. در یکی از بیماران مبتلا به TART، تومور به صورت یک ناحیه‌ی هیپواکو در موازات مدیاستینوم بیضه‌ی چپ و در دیگری به صورت یک کانون Solid اکو در پل فوقانی هر دو بیضه رؤیت شد. مشخصات این دو بیمار در جدول ۱ آمده است.

تمامی بیماران مورد مطالعه تحت درمان با هیدروکورتیزون به میزان ۲۰-۱۰ mg/m²/day، ۳ نوبت در روز قرار داشتند و در نوع SW همچنین تحت درمان با فلودروکورتیزون قرار گرفتند.

بیماران تحت درمان هر ۳-۶ ماه یک بار با ارزیابی علایم بالینی و بررسی قد و وزن و فشار خون پیگیری شدند. تنظیم دوز گلوکوکورتیکوئید با ارزیابی سطح سرمی ۱۷-هیدرووکسی پروژسترون (17-OHP یا 17-Hydroxyprogesterone)، معاینه‌ی بالینی و اندازه‌گیری قد و وزن انجام گرفت. تشخیص و مرحله‌ی بلوغ بر اساس Tanner stages در معاینه‌ی بالینی انجام شد.

یافته‌ها

ارزیابی سونوگرافی

در این مطالعه ۴۴ بیمار مبتلا به CAH مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. میانگین سنی این بیماران ۵/۸ ± سال با دامنه‌ی ۲-۲۰ سال بود. میانگین طول مدت درمان در بیماران تحت مطالعه ۵/۱۵ ± ۷/۵۵ سال بود. حداقل و حداکثر طول مدت درمان ۲ ماه و ۲۰ سال بود.

تمامی این بیماران تحت سونوگرافی قرار گرفتند که طبق نتایج سونوگرافی، شیوع TART در این بیماران ۴/۵ درصد بود؛ بدین صورت که نتیجه‌ی

جدول ۱. فنوتیپ، سن تشخیص CAH، سن تشخیص تومور، اندازه‌ی تومور در ۲ بیمار مبتلا به TART

بیمار	فنوتیپ	سن تشخیص CAH	سن تشخیص تومور	اندازه‌ی تومور
۱	SW	۵ ماهگی	۱۶ سال و ۸ ماه	۲۲ × ۷ mm
۲	SW	بدو تولد	۱۷ سال	۱۲ × ۱۵ mm

CAH: Congenital adrenal hyperplasia; TART: Testicular adrenal rest tumor; SW: Salt-wasting

۱۰ نفر سونوگرافی طبیعی و ۵ نفر سونوگرافی مشکوک داشتند؛ اما از ۲ بیمار مبتلا به تومور، هیچ یک مبتلا به بلوغ زودرس نبودند. هر ۲ بیمار مبتلا به تومور، بلوغ کامل داشتند (Tanner stage V). انجام آزمون Fisher's exact نیز ارتباط معنی داری را بین نتیجه‌ی سونوگرافی و بلوغ زودرس نشان نداد (P = ۰/۴۲۰). نتایج در جدول ۲ آمده است.

ارزیابی فشار خون

از ۴۴ بیمار مورد مطالعه ۵ نفر (۱۱/۴ درصد) مبتلا به فشار خون بالا بوده‌اند که تحت درمان با داروهای ضد فشار خون قرار گرفتند و از بین آن‌ها، ۴ نفر سونوگرافی طبیعی و ۱ نفر سونوگرافی مشکوک داشتند، اما از دو بیمار دارای تومور هیچ کدام فشار خون بالا نداشتند. انجام آزمون Fisher's exact نیز ارتباط معنی داری را بین نتیجه‌ی سونوگرافی و ابتلا به فشار خون بالا نشان نداد (جدول ۳) (P = ۰/۹۹۰).

میانگین سن بیماران مبتلا به نوع SW، $9/2 \pm 5/6$ سال و میانگین سن بیماران مبتلا به نوع SV، $12/0 \pm 5/8$ سال بود و طبق آزمون t میانگین سنی بیماران دو گروه، اختلاف معنی دار نداشت (P = ۰/۱۳). از نظر نتیجه‌ی سونوگرافی، ۱۹ بیمار مبتلا به نوع SW، سونوگرافی طبیعی، ۸ بیمار سونوگرافی غیر طبیعی و ۲ بیمار مبتلا به TART بودند (به ترتیب ۵۹/۴ درصد، ۸۰ درصد و ۱۰۰ درصد).

عملکرد گنادها

از ۴۴ بیمار بررسی شده در این مطالعه، ۱۵ نفر (۳۴/۱ درصد) دچار بلوغ زودرس شده بودند که این بیماران تحت درمان با دیفرلین یا لتروزول قرار گرفتند. تعداد بیماران تحت درمان با دیفرلین ۴ نفر (۲۶/۷ درصد)، تعداد بیماران تحت درمان با لتروزول ۹ نفر (۶۰/۰ درصد) و تعداد بیماران تحت درمان با هر دو دارو ۲ نفر (۱۳/۳ درصد) بود. از این ۱۵ نفر،

جدول ۲. توزیع فراوانی بلوغ زودرس بر حسب یافته‌های سونوگرافی

سونوگرافی	طبیعی	غیر طبیعی	تومور
بلوغ زودرس	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
خیر	۲۲ (۶۸/۸)	۵ (۵۰/۰)	۲ (۱۰۰)
بلی	۱۰ (۳۱/۳)	۵ (۵۰/۰)	۰ (۰)
جمع	۳۲ (۱۰۰)	۱۰ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)

P = ۰/۴۲۰

جدول ۳. توزیع فراوانی ابتلا به فشار خون بالا بر حسب یافته‌های سونوگرافی

سونوگرافی	طبیعی	غیر طبیعی	تومور
فشار خون بالا	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
ندارد	۲۸ (۸۷/۵)	۹ (۹۰/۰)	۲ (۱۰۰)
دارد	۴ (۱۲/۵)	۱ (۱۰/۰)	۰ (۰)
جمع	۳۲ (۱۰۰)	۱۰ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)

P = ۰/۹۹۰

ارزیابی سطح سرمی ۱۷-هیدروکسی پروژسترون

میانگین سطح سرمی ۱۷-هیدروکسی پروژسترون (OHP-17) در کل بیماران تحت مطالعه $9/15 \pm 10/11$ ng/ml با دامنه‌ی ۰/۱-۴۲ ng/ml بود. میانگین سطح سرمی OHP-17 در بیماران با نتیجه‌ی سونوگرافی طبیعی $8/59 \pm 10/00$ ng/ml در بیماران با نتیجه‌ی سونوگرافی مشکوک $11/37 \pm 11/79$ ng/ml و در افراد مبتلا به تومور $4/90 \pm 2/97$ ng/ml بود. سطح سرمی ۱۷-هیدروکسی پروژسترون در بیماران مبتلا به TART کمتر از بیماران بدون TART بود؛ اما طبق آزمون One-way ANOVA، تفاوت معنی‌داری بین سه گروه وجود نداشت ($P = 0/580$).

میانگین سطح سرمی ۱۷-هیدروکسی پروژسترون در کودکان زیر ۵ سال $14/75 \pm 11/88$ ng/ml، در کودکان ۵-۹ ساله $9/23 \pm 10/50$ ng/ml و در کودکان ۱۰-۱۴ ساله $9/69 \pm 7/54$ ng/ml و در کودکان ۱۵ ساله و بالاتر $8/19 \pm 7/07$ ng/ml بود و طبق آزمون One-way ANOVA، سطح سرمی ۱۷-هیدروکسی پروژسترون بر حسب گروه سنی، تفاوت معنی‌دار نداشت ($P = 0/680$).

کنترل هورمونی

هر دو بیمار مبتلا به TART تحت درمان کافی و کنترل هورمونی مناسب قرار داشتند.

بحث

هدف کلی از انجام این مطالعه، تعیین فراوانی نسبی TART در بیماران پسر زیر ۲۰ سال مبتلا به CAH بود. طبق نتایج سونوگرافی، شیوع TART در این بیماران ۴/۵ درصد بود؛ بدین صورت که از ۴۴ بیمار بررسی

شده، نتیجه‌ی سونوگرافی بیضه در ۲ بیمار، به طور قطع مشخص کننده‌ی تومور در بیضه بود و در ۳۲ بیمار (۷۲/۷ درصد) سونوگرافی طبیعی و در ۱۰ بیمار (۲۲/۷ درصد) به صورت غیر طبیعی گزارش شد.

در مطالعه‌ی Stikkelbroeck و همکاران از ۱۷ بیمار مبتلا به CAH، ۶ مورد تومور بیضه‌ی قابل لمس در معاینه و ۱۰ مورد در سونوگرافی TART داشتند (۵۸/۸ درصد). در این مطالعه ارتباط بین طول مدت بیماری و شیوع TART توضیح داده نشده و در ۱۱ بیمار از ۱۶ بیمار مبتلا به TART، درمان کافی و کنترل هورمونی مناسب صورت گرفته بود (۲۰).

در مطالعه‌ی Avila و همکاران از ۴۲ بیمار مبتلا به CAH در سنین ۳۱-۵ سال، در سونوگرافی انجام شده ۱۲ بیمار (۲۸/۶ درصد) TART داشتند (۱۸).

در مطالعه‌ای که Claahsen-van der Grinten و همکاران انجام شد، فراوانی TART در پسران مبتلا به CAH با سن کمتر از ۱۸ سال مورد بررسی قرار گرفت که ۸ بیمار از ۳۴ بیمار مورد بررسی در سونوگرافی TART داشتند (۲۴ درصد)؛ در حالی که هیچ یک از بیماران در معاینه، توده‌ی قابل لمس نداشتند (۲۳-۲۱).

در ۲ بیمار مبتلا به TART، Bone age بالاتر از سن تقویمی گزارش شده است (۲۲). در این مطالعه در ۲ بیمار مبتلا به TART شواهد عدم درمان کافی رؤیت شده بود؛ در حالی که در ۶ بیمار دیگر درمان بیش از حد صورت گرفته بود (۲۴، ۲۲).

نتایج به دست آمده از سایر مطالعات، با نتایج مطالعه‌ی حاضر بسیار متفاوت می‌باشد. دلایل متعددی از جمله دقت سونوگرافی، عدم دقت کافی معاینه‌ی بالینی در تشخیص تومور، تعداد اندک

نشد که این می‌تواند بیانگر عدم دقت کافی در معاینه‌ی بالینی برای تشخیص تومور باشد و توصیه می‌شود برای تمامی بیماران به صورت دوره‌ای سونوگرافی انجام گردد تا در صورت وجود تومور، در سن پایین‌تری بتوان تومور را تشخیص داد و نیز با سونوگرافی سریال می‌توان از میزان رشد تومور در سیر بیماری و همچنین تأثیر درمان در پسریت و یا جلوگیری از رشد بیش از حد تومور ارزیابی دقیق‌تری به عمل آورد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جهت تأمین مالی این پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

بیماران و ... را می‌توان در این موضوع دخیل دانست. به هر حال طبق آمارهای موجود، احتمال می‌رود وجود این تومور دارای شیوع بالاتری در بیماران مبتلا به CAH است. در مطالعه‌ی حاضر، بیماران مبتلا به TART همگی تحت کنترل هورمونی و درمان کافی و مناسب قرار داشتند. این تومور به طور معمول در انواع شدیدتر بیماری (گونه‌ی از دست دهنده‌ی نمک) ایجاد می‌شود.

هر ۲ بیمار مبتلا در مطالعه‌ی حاضر در گروه سنی بالای ۱۵ سال قرار داشتند که این می‌تواند حاکی از ارتباط بین طول مدت بیماری و شیوع تومور باشد و همچنین می‌توان هورمون‌های مترشحه در زمان بلوغ را نیز در بروز تومور مؤثر دانست. در هیچ کدام از ۲ بیمار مبتلا به تومور در مطالعه‌ی حاضر، توده‌ی قابل لمس در معاینه یافت

References

1. Walker BR, Skoog SJ, Winslow BH, Canning DA, Tank ES. Testis sparing surgery for steroid unresponsive testicular tumors of the adrenogenital syndrome. *J Urol* 1997; 157(4): 1460-3.
2. Robert MK, Richard EB, Hal BJ, Bonita MD. Nelson text book of pediatrics. 18th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2007.
3. Vanzulli A, DelMaschio A, Paesano P, Braggion F, Livieri C, Angeli E, et al. Testicular masses in association with adrenogenital syndrome: US findings. *Radiology* 1992; 183(2): 425-9.
4. Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Child* 1976; 51(3): 170-9.
5. Mesiano S, Jaffe RB. Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex. *Endocr Rev* 1997; 18(3): 378-403.
6. Urban MD, Lee PA, Migeon CJ. Adult height and fertility in men with congenital virilizing adrenal hyperplasia. *N Engl J Med* 1978; 299(25): 1392-6.
7. Davis JM, Woodroof J, Sadasivan R, Stephens R. Case report: congenital adrenal hyperplasia and malignant Leydig cell tumor. *Am J Med Sci* 1995; 309(1): 63-5.
8. Blie L, Sihelnik S, Bloom D, Stutzman R, chiadis J. Ultrasonographic analysis of chronic intratesticular pathology. *J Ultrasound Med* 1983; 2: 17-23.
9. Avila NA, Premkumar A, Shawker TH, Jones JV, Laue L, Cutler GB, Jr. Testicular adrenal rest tissue in congenital adrenal hyperplasia: findings at Gray-scale and color Doppler US. *Radiology* 1996; 198(1): 99-104.
10. White PC, Speiser PW. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev* 2000; 21(3): 245-91.
11. Dahl EV, Bahn RC. Aberrant adrenal cortical tissue near the testis in human infants. *Am J Pathol* 1962; 40: 587-98.
12. Augarten A, Weissenberg R, Pariente C, Sack J. Reversible male infertility in late onset congenital adrenal hyperplasia. *J Endocrinol Invest* 1991; 14(3): 237-40.
13. Shanklin DR, Richardson AP, Rothstein G.

- Testicular hilar nodules in adrenogenital syndrome. the nature of the nodules. *Am J Dis Child* 1963; 106: 243-50.
14. Greulich W, Pyle SI. Radiographic Atlas of skeletal Development of the Hand and Wrist. California: Stanford university press; 1959.
 15. Swinkels LM, Ross HA, Benraad TJ. A symmetric dialysis method for the determination of free testosterone in human plasma. *Clin Chim Acta* 1987; 165(2-3): 341-9.
 16. Fleishmann W, Howard JE, Wilkins L. Macrogenitosomia precox associated with hyperplasia of the androgenic tissue of the adrenal and death from corticoadrenal insufficiency. *Endocrinology* 1940; 26: 385-95.
 17. Swinkels LM, van Hoof HJ, Ross HA, Smals AG, Benraad TJ. Low ratio of androstenedione to testosterone in plasma and saliva of hirsute women. *Clin Chem* 1992; 38(9): 1819-23.
 18. Avila NA, Shawker TS, Jones JV, Cutler GB Jr, Merke DP. Testicular adrenal rest tissue in congenital adrenal hyperplasia: serial sonographic and clinical findings. *AJR Am J Roentgenol* 1999; 172(5): 1235-8.
 19. Mugeon CJ, Parker K, Donohue PA. Congenital adrenal hyperplasia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly ws, Valle D, Childs B, editors. The metabolic and molecular basis of inherited disease. New York, NY: MC Graw Hill; 1995. p. 2929-66.
 20. Stikkelbroeck NM, Suliman HM, Otten BJ, Hermus AR, Blickman JG, Jager GJ. Testicular adrenal rest tumours in postpubertal males with congenital adrenal hyperplasia: sonographic and MR features. *Eur Radiol* 2003; 13(7): 1597-603.
 21. Claahsen-van der Grinten HL, Sweep FC, Blickman JG, Hermus AR, Otten BJ. Prevalence of testicular adrenal rest tumours in male children with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Eur J Endocrinol* 2007; 157(3): 339-44.
 22. New MI, Vogiatzi MG, Cabrera M. High frequency of gonadal abnormalities in adultmales with classical congenital adrenal hyperplasia. 308. 1999.
 23. Graham LS. Celiac accessory adrenal glands. *Cancer* 1953; 6: 149-52.
 24. New MI, Wilson RC. Steroid disorders in children: congenital adrenal hyperplasia and apparent mineralocorticoid excess. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(22): 12790-7.

The Relative Prevalence of Testicular Adrenal Rest Tumors in Fewer than 20-Years-Old Boys with Congenital Adrenal Hyperplasia

Mohammad Hassan Moadab MD¹, Mahin Hashemipour MD², Masoumeh Azadi³

Original Article

Abstract

Background: Testicular adrenal rest tumor (TART) is the presence of unspecified adrenocortical cells in the testis of patients with congenital adrenal hyperplasia (CAH) and is similar to the hyperplastic adrenal glands. These tumors are usually benign; but, due to the tumor site in testicles, can lead to seminiferous tubule obstruction, gonadal dysfunction and infertility. Therefore, early diagnosis and treatment of tumors is important. This study aimed to determine the relative frequency of testicular adrenal rest tumor in children with congenital adrenal hyperplasia.

Methods: This descriptive study was performed on 44 boys with congenital adrenal hyperplasia at the age of fewer than 20 years. Height, weight and blood pressure were measured; also, exact examination of testis and scrotum was done to diagnose palpable masses. For all patients, ultrasound of testis was performed by an experienced radiologist. Assessment of patients was based on height, weight and serum level of 17-hydroxy progesterone.

Findings: Testicular adrenal rest tumor was reported in 2 patients (4.5%) that in one of them, bilateral tumors were reported in the upper pole of both testes. The other tumor was visible in the mediastinum of left testis. Both patients had types of salt loss, were in the age group of 15-20 years, were under hormonal control and appropriate treatment, and none of them had impaired gonadal function. The average tumor size was 14 mm. Palpable mass was not found in any of the patients. Serum levels of 17-hydroxyprogesterone was less in patients with testicular adrenal rest tumor than the others.

Conclusion: The age group of the 2 boys with testicular adrenal rest tumor can show the correlation between duration of disease and the prevalence of the tumor. Examination has not enough accuracy to detect tumor and ultrasound is recommended for all the patients to be performed periodically.

Keywords: Testicular adrenal rest tumor, Congenital adrenal hyperplasia (CAH), Ultrasound

Citation: Moadab MH, Hashemipour M, Azadi M. **The Relative Prevalence of Testicular Adrenal Rest Tumors in Fewer than 20-Years-Old Boys with Congenital Adrenal Hyperplasia.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(292): 1019-27

* This paper is derived from a medical doctorate thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

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

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

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

Corresponding Author: Masoumeh Azadi MD, Email: masumeh.freedom@gmail.com

مقایسه‌ی عملکرد طبقه‌بندی کننده‌های مختلف در پیشگویی متاستاز سرطان سینه با استفاده از میکرو آرایه

زهرا امینی^۱، دکتر علیرضا مهری دهنوی^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: هدف از این تحقیق، دستیابی به یک روش قابل اعتماد برای پیشگویی متاستاز در مبتلایان به سرطان سینه بود.

روش‌ها: در این مطالعه از آنالیز میکرو آرایه‌ی DNA مربوط به تومور سینه در ۷۸ بیمار جوان با شرایط یکسان (۳۴ نفر با متاستاز و ۴۴ نفر بدون متاستاز) استفاده و تلاش شد تا با مقایسه‌ی عملکرد چند طبقه‌بندی کننده‌ی مطرح روی بیان ژن‌های آن‌ها، یک سیستم پیشگویی قوی برای متاستاز به دست آید. برای این امر، طبقه‌بندی کننده‌های SWLDA (Stepwise linear discriminate analysis)، ماشین بردار پشتیبان (SVM) یا (Support vector machine) و K نزدیک‌ترین همسایه (K-Nearest Neighbours) یا KNN با استفاده از روش LOO (Leave one out) بر روی ۲۳۱ ژن انتخابی به کار برده شد تا این نمونه‌ها را به دو گروه با و بدون متاستاز تفکیک کنند.

یافته‌ها: روش ماشین بردار پشتیبان با کرنل خطی از نظر میزان صحت، Sensitivity و Specificity بهترین روش است. ماشین بردار پشتیبان با استفاده از کرنل خطی توانست با Sensitivity بیش از ۸۴ درصد و Specificity نزدیک به ۸۲ درصد به تفکیک دادگان بپردازد.

نتیجه‌گیری: در مورد روش SWLDA، مزیتی که وجود دارد این است که این طبقه‌بندی کننده قبل از دسته‌بندی از یک مرحله‌ی انتخاب ویژگی بهره می‌برد که این مسأله پیچیدگی تابع تصمیم‌گیری را کمتر و تعمیم‌پذیری طبقه‌بندی کننده را بیشتر می‌کند.

واژگان کلیدی: میکرو آرایه، پیشگویی سرطان سینه، طبقه‌بندی کننده‌ی Support vector machine، K-nearest neighbours، Stepwise linear discriminate analysis

ارجاع: امینی زهرا، مهری دهنوی علیرضا. مقایسه‌ی عملکرد طبقه‌بندی کننده‌های مختلف در پیشگویی متاستاز سرطان سینه با

استفاده از میکرو آرایه. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۲): ۱۰۳۵-۱۰۲۸

مقدمه

بسیاری اوقات بیماران مبتلا به سرطان سینه که از نظر سطح و میزان پیشرفت بیماری هم در شرایط مشابه قرار دارند، نسبت به درمان‌ها پاسخ و واکنش متفاوتی نشان می‌دهند و احتمال برگشت بیماری و متاستاز هم در آن‌ها متفاوت می‌باشد (۱-۲). تاکنون قوی‌ترین

روش‌های موجود برای پیشگویی متاستاز (مانند Lymph node status و Histological grade) هم در طبقه‌بندی دقیق تومورهای سینه بر اساس رفتار کلینیکی، موفق نبوده‌اند. در این مقاله، از آنالیز میکرو آرایه‌ی DNA مربوط به تومورهای سینه‌ی اولیه از ۷۸ بیمار جوان با شرایط یکسان استفاده و تلاش شد

۱- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

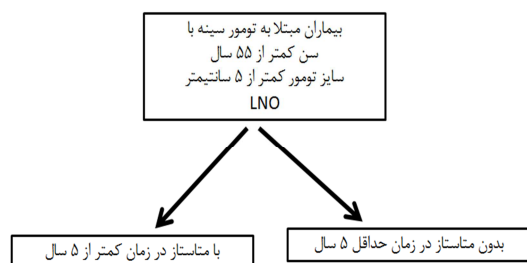
۲- دانشیار، گروه مهندسی پزشکی- بیوالکتریک، گروه مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: mehri@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: دکتر علیرضا مهری دهنوی

(۴) و مقایسه‌ی کارایی دو روش بود. برای این امر طبقه‌بندی کننده‌های SWLDA (Stepwise linear discriminate analysis)، ماشین بردار پشتیبان (SVM یا Support vector machine) و K نزدیک‌ترین همسایه (KNN) یا K-Nearest Neighbours) با استفاده از روش LOO بر روی ۲۳۱ ژن انتخابی به کار برده شدند تا این نمونه‌ها را به دو گروه با و بدون متاستاز تفکیک نمایند.

در این تحقیق از دادگان موجود در پژوهش دیگری (۴) استفاده گردید که در این بخش به بیان جزئیات مربوط به این دادگان و نحوه‌ی استخراج ژن‌های مناسب (به منظور طبقه‌بندی) پرداخته می‌شود. داده‌های مورد بررسی از ۷۸ بیمار با شرایط مشابه به دست آمده است. تمام بیماران Lymph node negative بودند و در زمان تشخیص اولیه، کمتر از ۵۵ سال سن داشتند. از بین بیماران ۳۴ بیمار در طی ۵ سال بعد از تشخیص اولیه، دچار متاستاز شده بودند (Poor prognosis) و ۴۴ بیمار در زمانی حداقل برابر ۵ سال دچار متاستاز نشده بودند (Good prognosis).



شکل ۱. تفکیک بیماران به دو گروه با و بدون متاستاز (۴)

سپس میکرو آرایه‌ی حاوی حدود ۲۵۰۰۰ ژن

تا با طبقه‌بندی کننده با سرپرست روی بیان ژن‌های آن‌ها، یک پیشگویی قوی برای متاستاز به دست آید. با توسعه‌ی تکنیک‌های میکرو آرایه، امکان رصد کردن بیان هزاران ژن به صورت همزمان فراهم شده است؛ بدیهی است دادگانی که از این طریق به دست می‌آیند، ابعاد بسیار بزرگی دارند که استفاده از روش‌های طبقه‌بندی روی آن‌ها ممکن است منجر به نتایج خوبی نشود. از این رو بسیاری اوقات قبل از استفاده از طبقه‌بندی کننده، سعی می‌شود تا ژن‌های مهم‌تر و مؤثرتر در بحث مربوط، به نحو مقتضی انتخاب شوند (۳). در این تحقیق، از دادگان مقاله‌ی ۴ استفاده شده است؛ چون همان‌طور که در بخش بعد توضیح داده خواهد شد، محققان تلاش کرده‌اند تا با به کارگیری روش‌های مختلف از میان حدود ۲۵۰۰۰ ژن موجود برای هر فرد، تنها ۲۳۱ ژن مناسب‌تر را برگزینند. این ۲۳۱ ژن بر اساس دامنه‌ی ضریب همبستگی مرتب شدند و در نهایت، برای بهینه کردن تعداد ژن‌های به کار رفته در طبقه‌بندی کننده با سرپرست، مرحله به مرحله به تعداد ژن‌ها اضافه شد؛ به این ترتیب که در هر مرحله ۵ ژن از بالای لیست ژن‌های مرتب شده به مجموعه‌ی ژن‌های مورد استفاده در طبقه‌بندی اضافه گردیده و کارایی طبقه‌بندی کننده در هر مرحله با روش LOO (Leave one out) سنجیده شده است. در نهایت، بهترین جواب طبقه‌بندی روی ۷۸ نمونه با استفاده از ۷۰ ژن به دست آمده است که در این حالت، در ۸۳ درصد موارد (۶۵ نفر از ۷۸ نمونه) پیشگویی صحیح صورت گرفته است (۴).

هدف از این تحقیق، دسته‌بندی این نمونه‌ها با روشی به غیر از روش به کار رفته در سایر پژوهش‌ها

طبقه‌بندی کننده‌ی تفکیک خطی با پالایش گام به گام (SWLDA)

LDA (Linear discriminant analysis) ساده‌ترین و پرکاربردترین طبقه‌بندی کننده‌ی آماری است. چنانچه اطلاعاتی مبنی بر چگونگی توزیع ویژگی‌ها در فضای ویژگی در اختیار نداشته باشیم، توابع جداساز خطی اولین انتخاب به شمار می‌آیند. توابع جداساز خطی در ساده‌ترین فرمشان به دلیل عدم نیاز به تنظیم پارامترهای مختلف و اطلاعات جانبی و سادگی در پیاده‌سازی، اولین گزینه‌ی پیشنهادی در مسایل طبقه‌بندی محسوب می‌شوند. این طبقه‌بندی کننده در فرم استانداردش یک طبقه‌بندی کننده‌ی باینری است که با اعمال تخمین MAP (Maximum a posteriori) و با فرض گوسی بودن تابع توزیع احتمال شرطی ویژگی‌ها در فضای ویژگی و همچنین تساوی ماتریس‌های کوواریانس طبقات، محاسبه می‌شود (۶-۷).

طبقه‌بندی کننده‌ی SWLDA نیز در واقع همان LDA است که قبل از انجام عملیات طبقه‌بندی از یک روش پیشرو-پسرو برای انتخاب ویژگی استفاده می‌کند (۸-۹). در شروع، هیچ ویژگی برای مدل در نظر گرفته نمی‌شود، ویژگی که معیار ورود به سیستم را برآورده کند، به مدل اضافه می‌شود. بعد از اضافه شدن هر ورودی جدید به مدل، یک روند بازگشتی گام به گام پسرو برای حذف ویژگی‌هایی که کمترین اهمیت را دارند، به کار می‌رود. این فرایند، تا زمانی که مدل شامل تعداد ویژگی‌های از پیش تعیین شده باشد، یا تا زمانی که هیچ ویژگی اضافه‌ای نمانده باشد که معیار خروج/ورود را برآورده کند، ادامه می‌یابد.

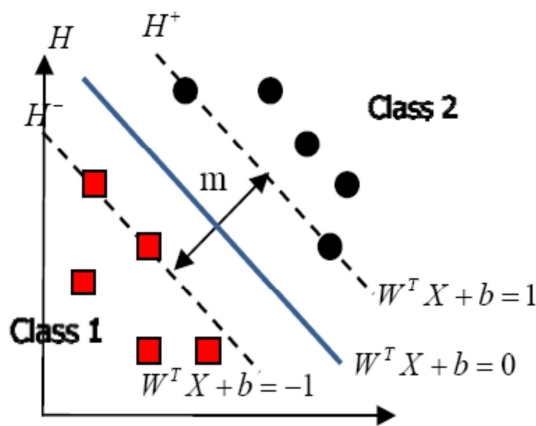
برای هر بیمار تهیه شد و پارامتر Intensity (میانگین هندسی Intensity برای هر دو کانال سبز و قرمز) برای هر ژن محاسبه شد. در مرحله‌ی اول، ژن‌ها به سه دسته‌ی بدون تغییر، با افزایش بیان ژن و با کاهش بیان ژن تقسیم شدند. سپس در بین ژن‌هایی که تغییر بیان داشتند، آن‌هایی که بیش از ۲ برابر تغییر بیان داشتند، انتخاب شدند که به این ترتیب، تعداد ژن‌های مورد بررسی به حدود ۵۰۰۰ ژن کاهش یافت. در مرحله‌ی بعد، میزان همبستگی هر یک از این ژن‌ها با نتیجه‌ی بیماری (Disease outcome) محاسبه شد و ۲۳۱ ژن که همبستگی بیش از ۰/۳ با نتیجه‌ی بیماری داشتند، حفظ شدند و سایر ژن‌ها از بررسی حذف گردیدند.

روش‌ها

هدف نهایی در هر مسأله‌ی شناسایی الگو، تفکیک مجموعه‌ای از نمونه‌ها به دو یا چند طبقه‌ی مختلف است. در این جا هدف نهایی، تفکیک دادگان به دو گروه با متاستاز و فاقد متاستاز است. طبقه‌بندی کننده‌ها در یک دسته‌بندی کلی به دو دسته‌ی با سرپرست و بدون سرپرست تقسیم می‌شوند. در روش‌های با سرپرست از یک مجموعه‌ی داده‌ی برچسب خورده، به عنوان مجموعه‌ی آموزشی برای تنظیم پارامترهای طبقه‌بندی کننده استفاده می‌شود. به عبارت دیگر، ابزار طبقه‌بندی، فضای ورودی و خروجی مسأله و ارتباط بین آن‌ها را از روی یک سری داده‌ی آموزشی یاد می‌گیرد (۵).

در این پژوهش نیز پس از انتخاب ۲۳۱ ژن مؤثر، از طبقه‌بندی کننده‌های زیر برای تفکیک دادگان به دو گروه با/ بدون متاستاز استفاده شد.

در حالت جدایی پذیر به فرم زیر است:
 فرض می‌کنیم $X = \{X_1, X_2, \dots, X_n\}$ مجموعه‌ی نمونه‌ها و $y \in \{-1, 1\}$ هم برچسب‌های طبقات باشند. هدف، یافتن مرز تصمیم خطی است که نمونه‌ها را به درستی طبقه‌بندی کند و تا حد امکان از نمونه‌های دو طبقه دور باشد. اگر این طبقات مطابق شکل ۲ به صورت خطی جدایی پذیر باشند، یک ابر صفحه مانند H و تابع تمایز $f(x)$ آن‌ها را از هم جدا می‌کند.



شکل ۲. ماشین بردار پشتیبان در حالت جدایی پذیر خطی

$H: W \cdot x + b = 0, f(x) = \text{sign}(W \cdot x + b)$ (۱)
 چنانچه فاصله‌ی بین ابر صفحات H^+ و H^- $m = 2 / \|W\|$ -حاشیه‌ی مرزی- بزرگ‌تر شود، طبقه‌بندی کننده با حاشیه‌ی اطمینان بزرگ‌تر و در نتیجه در برابر نویز مقاوم‌تر خواهد بود. طراحی ابر صفحه‌ی بهینه با بیشترین عرض ناحیه‌ی مرزی، به شرط درست دسته‌بندی شدن تمام نمونه‌ها، یک مسأله‌ی بهینه‌سازی مقید است و با استفاده از روش ضرایب لاگرانژ قابل حل است.

(۲)

$$\begin{cases} \text{Minimize } \frac{1}{2} \|W\|^2 \\ \text{Subject to } y_i(W^T x + b) \geq 1 \forall i = 1, \dots, n \end{cases}$$

در جدول ۱، ویژگی‌های انتخاب شده به روش گام به گام در مورد ۲۳۱ زن اولیه آمده است.

جدول ۱. ویژگی‌های منتخب توسط SWLDA

شماره‌ی ویژگی	نام ویژگی
۸	NM-۰۰۳۸۸۲
۷	Contig ۵۵۳۷-RC
۵۸	NM-۰۱۸۱۰۴
۱۵۲	Contig ۵۷۸۶۴-RC
۱۰۶	NM-۰۱۴۳۶۳
۲۱۶	Contig ۲۵۹۹۱
۱۸۷	NM-۰۰۷۲۰۳
۱۰۵	Contig ۱۷۷۸-RC
۱۸	Contig ۶۳۱۰۲-RC
۲۱۱	AF-۰۵۲۱۶۲
۲۲۱	NM-۰۰۲۰۱۹
۲۱۷	Contig ۳۵۲۵۱-RC
۲۱	NM-۰۰۰۳۲۰

SWLDA: Stepwise linear discriminate analysis

ماشین بردار پشتیبان (SVM)

ماشین بردار پشتیبان از طبقه‌بندی کننده‌های پرکاربرد است که به خاطر موفقیتش در تشخیص ارقام دست‌نویس به شهرت رسید. این طبقه‌بندی کننده بر اساس حداقل‌سازی خطر خطا، مرز بین دو طبقه را مشخص می‌کند. شیب این مرز فقط تابع تعدادی از بردارهای ورودی است که روی حاشیه‌ی مرز دو طبقه قرار می‌گیرند و بردارهای پشتیبان مرز نامیده می‌شوند. این طبقه‌بندی کننده مانند LDA یک طبقه‌بندی کننده‌ی باینری است؛ اما هر دو نوع خطی و غیر خطی آن موجود است. نوع غیر خطی SVM از هسته‌های غیر خطی به خصوص توابع RBF (Radial basis function) استفاده می‌کند (۱۰-۱۱). ماشین بردار پشتیبان خطی

K نزدیک‌ترین همسایه (KNN)

هدف این تکنیک مشخص کردن طبقه‌ی یک داده‌ی آزمایشی بر اساس طبقه‌ی K داده‌ی آموزش که نزدیک‌ترین همسایه‌های آن هستند، می‌باشد (۱۲-۱۴). این نزدیک‌ترین همسایه‌ها، به طور معمول با استفاده از یک فاصله‌ی قابل اندازه‌گیری به دست می‌آید. با یک K به قدر کافی بزرگ و نمونه‌های آموزش کافی، KNN می‌تواند هر تابعی را تقریب بزند که این مسأله باعث می‌شود تا KNN بتواند مرزهای تصمیم‌گیری غیر خطی ایجاد کند.

در روش K نزدیک‌ترین همسایه، به طور معمول K عددی فرد انتخاب می‌شود. در این تحقیق هم صحت طبقه‌بندی برای چند مقدار مختلف K سنجیده شد که در جدول ۲ نتایج برای سه حالت $K = 1, 3, 5$ آمده است.

طبق جدول ۲ به نظر می‌رسد مقدار مناسب برای K عدد ۳ می‌باشد که در ادامه از $K = 3$ برای این طبقه‌بندی کننده استفاده گردید.

یافته‌ها

با استفاده از سه طبقه‌بندی کننده‌ی SVM، SWLDA و KNN، دادگان مربوط به دو طبقه‌ی با و بدون متاستاز تفکیک شدند.

در جداول ۳ تا ۵، نتایج مربوط به دسته‌بندی دادگان مربوط به ۷۷ بیمار (۳۳ نفر با متاستاز و ۴۴ نفر بدون متاستاز) با استفاده از این سه طبقه‌بندی کننده آمده است. لازم به ذکر است که به دلیل وجود برخی مقادیر Intensity نامطلوب در یکی از دادگان گروه با متاستاز، یکی از نمونه‌های این گروه از روند محاسبات حذف گردید.

در جدول ۶ نیز پارامترهای مربوط به هر یک از طبقه‌بندی کننده‌های مورد استفاده آمده است.

همان‌طور که جدول ۶ نشان می‌دهد، بهترین طبقه‌بندی کننده‌ها به ترتیب SVM، KNN و SWLDA می‌باشند. SVM با استفاده از کرنل خطی توانست با حساسیت بیش از ۸۴ درصد و اختصاصیت نزدیک به ۸۲ درصد به تفکیک دادگان بپردازد.

جدول ۲. مقایسه‌ی اثر مقادیر مختلف K در روش KNN

متغیر	میزان صحت	حساسیت	تعیین کنندگی
K = ۱	۰/۷۷۹۲	۰/۸۶۳۶	۰/۶۶۶۷
K = ۳	۰/۸۱۸۲	۰/۸۴۰۹	۰/۷۸۷۹
K = ۵	۰/۸۰۵۲	۰/۸۴۰۹	۰/۷۵۷۶

KNN: K-Nearest Neighbours

جدول ۳. جدول تصمیم‌گیری و دسته‌بندی دادگان با روش KNN و $K = 3$

خروجی طبقه‌بندی کننده	KNN	
	عاقبت خوب	عاقبت بد
عاقبت خوب	۳۷	۷
عاقبت بد	۷	۲۶

KNN: K-Nearest Neighbours

جدول ۴. جدول تصمیم‌گیری و دسته‌بندی دادگان با روش SVM

خروجی صحیح		SVM	
عاقبت بد	عاقبت خوب	عاقبت خوب	عاقبت بد
۶	۳۷	عاقبت خوب	عاقبت بد
۲۷	۷	عاقبت خوب	عاقبت بد

SVM: Support vector machine

جدول ۵. جدول تصمیم‌گیری و دسته‌بندی دادگان با روش SWLDA

خروجی صحیح		SWLDA	
عاقبت ضعیف	عاقبت خوب	عاقبت خوب	عاقبت ضعیف
۷	۳۲	عاقبت خوب	عاقبت ضعیف
۲۶	۱۲	عاقبت خوب	عاقبت ضعیف

SWLDA: Stepwise linear discriminate analysis

جدول ۶. مقایسه‌ی عملکرد طبقه‌بندی کننده‌های مختلف در پیشگویی متاستاز سرطان سینه

تعیین‌کنندگی	حساسیت	میزان صحت	پارامتر	طبقه‌بندی کننده
۰/۷۵۷۶	۰/۸۴۰۹	۰/۸۰۵۲		KNN
۰/۸۱۸۲	۰/۸۴۰۹	۰/۸۳۱۲		SVM
۰/۸۸۷۹	۰/۷۲۷۳	۰/۷۵۳۲		SWLDA

KNN: K-Nearest Neighbours; SVM: Support vector machine; SWLDA: Stepwise linear discriminate analysis

گرفتند. با توجه به جداول دیده می‌شود که برای دسته‌بندی دادگان به دو گروه با/ بدون متاستاز، روش SVM با کرنل خطی از نظر میزان صحت، حساسیت و اختصاصیت بهترین روش است.

در قیاس با کارهای مشابه صورت گرفته روی همین دادگان، تا پیش از این بهترین کار توسط van't Veer و همکاران (۴) صورت گرفته بوده است و طی آن بهترین جواب طبقه‌بندی روی ۷۸ نمونه با استفاده از ۷۰ ژن به دست آمد که در این شرایط صحت ۸۳ درصد موارد (۶۵ نفر از ۷۸ نمونه) مشخص شد؛ در حالی که در روش پژوهش حاضر، SVM با استفاده از کرنل خطی توانست با حساسیت بیش از ۸۴ درصد و اختصاصیت حدود ۸۲ درصد به

بحث

هدف از این تحقیق، بررسی عملکرد طبقه‌بندی کننده‌های مختلف در پیشگویی متاستاز در سرطان سینه و با استفاده از دادگان میکرو آرایه بود. بدین منظور، از دادگان میکرو آرایه‌ی مربوط به دو دسته افراد با شرایط یکسان که به سرطان سینه مبتلا شده بودند، استفاده گردید که دسته‌ی اول در بازه‌ی زمانی حداقل برابر ۵ سال دچار متاستاز نشده بودند، اما در دسته‌ی دوم در زمانی کمتر از این مدت متاستاز رخ داده بود.

با توجه به طبقه‌بندی کننده‌های پرکاربرد در حوزه‌ی بیوانفورماتیک، در این تحقیق سه طبقه‌بندی کننده‌ی SWLDA، SVM و KNN مورد قیاس قرار

تعمیم پذیری طبقه‌بندی کننده را افزایش می‌دهد. در صورتی که بسیاری از طبقه‌بندی کننده‌هایی که پیش از این مورد استفاده قرار گرفته‌اند، همواره با مشکل بزرگی بردار ویژگی‌ها و بالا بودن حجم محاسبات روبه‌رو بوده‌اند.

تفکیک دادگان پردازد و نتایج بهتری نسبت به روش‌های گذشته به دست آورد.

نکته‌ی مهم دیگر در مورد روش SWLDA این است که این طبقه‌بندی کننده طبق جدول ۱ تنها با استفاده از ۱۳ ژن به جای ۲۳۱ ژن به این میزان از صحت رسیده است که این مسأله حجم محاسبات را بسیار کاهش می‌دهد و حسن روش SWLDA استفاده از تعداد ویژگی کمتر برای طبقه‌بندی است. این مسأله، پیچیدگی تابع تصمیم‌گیری را کاهش و

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Weigelt B, Peterse JL, van't Veer LJ. Breast cancer metastasis: markers and models. *Nature Reviews* 2005; 5: 591-602.
2. Lujambio A, Calinc GA, Villanueva A, Ropero S, Sanchez-Cespedese M, Blanchof D, et al. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *PNAS* 2008; 105(36): 13556-61.
3. Mehridehnavi A, Ziaei L. Minimal gene selection for classification and diagnosis prediction based on gene expression profile. *Adv Biomed Res* 2013; 2: 26.
4. van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415(6871): 530-6.
5. Lotte F, Congedo M, Lecuyer A, Lamarche F, Arnaldi B. A review of classification algorithms for EEG-based brain-computer interfaces. *J Neural Eng* 2007; 4(2): R1-R13.
6. Huerta EB, Duval B, Hao JK. Selection for microarray data by a LDA-based genetic algorithm. *Lecture Notes in Computer Science* 2008; 5265: 250-61.
7. Sharma A, Paliwala KK. Cancer classification by gradient LDA technique using microarray gene expression data. *Data and Knowledge Engineering* 2008; 66(2): 338-47.
8. Krusienski DJ, Sellers EW, McFarland DJ, Vaughan TM, Wolpaw JR. Toward enhanced P300 speller performance. *J Neurosci Methods* 2008; 167(1): 15-21.
9. Nijboer F, Sellers EW, Mellinger J, Jordan MA, Matuz T, Furdea A, et al. A P300-based brain-computer interface for people with amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurophysiol* 2008; 119(8): 1909-16.
10. Furey TS, Cristianini N, Duffy N, Bednarski DW, Schummer M, Haussler D. Support vector machine classification and validation of cancer tissue samples using microarray expression data. *Bioinformatics* 2000; 16(10): 906-14.
11. Hernandez JCh, Duval B, Hao JK. SVM-based local search for gene selection and classification of microarray data. *Bioinformatics Research and Development Communications in Computer and Information Science* 2008; 13: 499-508.
12. Parry RM, Jones W, Stokes TH, Phan JH, Moffitt RA, Fang H, et al. k-Nearest neighbor models for microarray gene expression analysis and clinical outcome prediction. *Pharmacogenomics J* 2010; 10(4): 292-309.
13. Jiangsheng Y. Method of k-nearest neighbors. Beijing, China: Institute of Computational Linguistics Peking University; 2002.
14. Krusienski DJ, Sellers EW, Cabestaing F, Bayouhd S, McFarland DJ, Vaughan TM, et al. A comparison of classification techniques for the P300 Speller. *J Neural Eng* 2006; 3(4): 299-305.

Comparison of Different Classifiers for Prediction of Breast Cancer Metastasis in Microarray Analysis

Zahra Amini MSc¹, Alireza Mehridehnavi PhD²

Original Article

Abstract

Background: In this research, we investigated the performance of some different classifiers for prediction of metastasis in breast cancer.

Methods: We used the DNA microarrays of primary breast tumors of 78 young patients. Among these patients, 34 had developed distant metastases within 5 years (poor prognosis group) and 44 formed good prognosis group. For analysis, we applied three different classifiers including support vector machine (SVM), stepwise linear discriminant analysis (SWLDA) and K-nearest neighbors (KNN) classifier. Each of these classifiers used 231 selected genes as an input feature vector and their performances were estimated via using leave one out (LOO) method to classify patients into two groups namely, good and poor prognosis.

Findings: The best results were obtained by support vector machine with linear kernel. This classifier achieved a sensitivity and specificity of 84% and 82%, respectively, for metastasis prediction.

Conclusion: Our findings provide a strategy to specify patients who would benefit from adjuvant therapy.

Keywords: Microarrays, Prediction of breast cancer, Support vector machine (SVM), Stepwise linear discriminant analysis (SWLDA), k-nearest neighbors (KNN) classifiers

Citation: Amini Z, Mehridehnavi A. Comparison of Different Classifiers for Prediction of Breast Cancer Metastasis in Microarray Analysis. J Isfahan Med Sch 2014; 32(292): 1028-35

1- PhD Student, Department of Bioelectric and Biomedical Engineering, School of Advanced Medical Technology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Bioelectric and Biomedical Engineering, School of Advanced Medical Technology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Alireza Mehridehnavi PhD, Email: mehri@med.mui.ac.ir

ارزیابی توانایی پروتئین نوترکیب Omp₃₁ بروسلا ملی تنسیس در تکثیر سلول‌های طحال موش‌های ایمن شده در شرایط آزمایشگاه

دکتر امیر قاسمی^۱، دکتر محمد حسین سالاری^۲، دکتر امیرحسین زرنانی^۳،
دکتر محمود جدی تهرانی^۴، دکتر رضا رنجبر^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بروسلا یک عامل بیماری‌زا و تهدید کننده‌ی سلامتی برای انسان و احشام در کشورهای در حال توسعه است. سوبه‌های تخفیف حدت یافته‌ی بروسلا، امروزه به عنوان واکسن‌هایی برای جلوگیری و کنترل بروسلوز در حیوانات به کار می‌رود. اما به دلیل مشکلات حاصل از این واکسن‌ها، شناسایی کاندیداهای جدید به منظور توسعه‌ی واکسنی زیر واحد مورد نظر است. ایمنی سلولی، ایمنی غالب در حفاظت حیوان علیه بروسلوزیس است. از این رو، کاندیداهای مد نظر باید بتوانند سیستم ایمنی سلولی را تحریک و در آن نسبت به خود خاطره ایجاد کنند. یکی از روش‌هایی که به منظور بررسی قدرت ایجاد خاطره در سلول‌های T به وسیله‌ی آنتی‌ژن استفاده می‌شود، آزمایش بررسی تکثیر می‌باشد. در این مطالعه، تکثیر سلول‌های طحالی موش‌های ایمن شده با پروتئین Omp₃₁ بروسلا ملی تنسیس با استفاده از روش ارزیابی تکثیر بر مبنای استفاده از ۳-(۲-methoxy-۴-nitro-۵-sulphenyl)-۲H-tetrazolium-۵-Carboxanil ide (XTT) و ۵,۲-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) بررسی شد.

روش‌ها: موش‌های BalB/c با استفاده از PBS (Phosphate buffered saline)، Omp₃₁ نوترکیب و واکسن بروسلا ملی تنسیس Rev.۱ کشته شده ایمن شدند. ۳۰ روز پس از آخرین تزریق، موش‌ها کشته شدند و طحال آن‌ها جدا گردید. سلول‌های تک هسته‌ای طحال به دست آمده در مجاورت Omp₃₁ (۲/۵ و ۵ μg/ml) نوترکیب قرار گرفتند. میزان تکثیر با اضافه کردن محلول‌های XTT یا MTT اندازه‌گیری و تغییر رنگ حاصل شد.

یافته‌ها: لئوسیت‌های طحال موش‌هایی که با پروتئین نوترکیب Omp₃₁ ایمن شده بودند، بعد از مواجهه‌ی مجدد با این آنتی‌ژن، شروع به تکثیر کردند و این تکثیر، تفاوت معنی‌داری با تکثیر طحال موش‌های ایمن شده با PBS نشان می‌داد ($P < 0/010$). علاوه بر این، طحال موش‌های ایمن شده با Rev.۱ در مقایسه با گروه PBS تکثیر بیشتری نشان داد ($P < 0/010$). همچنین سهولت استفاده از آزمایش ارزیابی تکثیر با استفاده از XTT نیز نشان داده شد.

نتیجه‌گیری: پروتئین Omp₃₁ توانایی تحریک ایمنی سلولی را دارد. علاوه بر این، آزمایش ارزیابی تکثیر با استفاده از رنگ XTT، آزمایشی راحت و ساده به منظور ارزیابی تکثیر سلول‌های طحال می‌باشد.

واژگان کلیدی: واکسن، پروتئین نوترکیب، سلول‌های طحالی، ارزیابی تکثیر

ارجاع: قاسمی امیر، سالاری محمد حسین، زرنانی امیرحسین، جدی تهرانی محمود، رنجبر رضا. ارزیابی توانایی پروتئین نوترکیب Omp₃₁ بروسلا ملی تنسیس در تکثیر سلول‌های طحال موش‌های ایمن شده در شرایط آزمایشگاه. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛

۳۲ (۲۹۲): ۱۰۴۵-۱۰۳۶

۱- استادیار. گروه میکروپزشکی و ایمنی شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲- استاد. گروه میکروپزشکی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- دانشیار، پژوهشکده‌ی نانوبیوتکنولوژی، پژوهشگاه فناوری‌های نوین ابن سینا، جهاد دانشگاهی و مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴- استاد، پژوهشکده‌ی آنتی‌بادی مونوکلونال، پژوهشگاه فناوری‌های نوین ابن سینا، جهاد دانشگاهی تهران، تهران، ایران

۵- دانشیار، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج)، تهران، ایران

Email: mhsalari2002@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمد حسین سالاری

مقدمه

بروسلا باکتری بی‌هوازی اختیاری و عامل بروسلوزیس می‌باشد. امروزه بیماری بروسلوزیس به دلیل مشکلات زیادی که در جوامع در حال توسعه و به خصوص مدیترانه ایجاد کرده است، بسیار مورد توجه است (۱). واکنش‌های حاصل از سوش‌های زنده‌ی ضعیف شده، با وجود کارایی مناسب مشکلاتی از جمله بیماری‌زایی در انسان، تحریک سقط جنین با تزریق آن به حیوان باردار و همچنین، ایجاد آنتی‌بادی‌هایی در سرم خون حیوان ایمن شده را رقم می‌زند که در آزمایش‌های تشخیصی مشکلاتی ایجاد می‌کند (۶-۲).

به دلیل غلبه‌ی ایمنی سلولی در حفاظت میزبان علیه بروسلا، می‌توان از آنتی‌ژنی که بتواند سیستم ایمنی سلولی از جمله سلول‌های T را تحریک و ایجاد خاطره نماید، جهت ساختن واکنش‌های زیر واحد علیه بروسلا استفاده کرد. آزمایش ارزیابی تکثیر، روشی است که به شناسایی آنتی‌ژن‌هایی که توانایی تحریک سیستم ایمنی سلولی و ایجاد سلول‌های T خاطره‌ای را دارند، کمک می‌کند. آزمایش ارزیابی تکثیر، میزان تکثیر لئوسیت‌های کشت داده شده در آزمایشگاه در واکنش به در معرض قرارگیری مجدد به وسیله‌ی آنتی‌ژن را نشان می‌دهد (۷).

لئوسیت‌های T در واکنش به پپتیدهای آنتی‌ژنیک قرار گرفته‌ی روی MHC (Major histocompatibility complex) سلول‌های بیان‌کننده‌ی آنتی‌ژن، شروع به تکثیر می‌کنند. تکثیر لئوسیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی در واکنش با آنتی‌ژن‌ها فقط زمانی رخ می‌دهد که میزبان

از قبل با آن آنتی‌ژن ایمن شده و یا از بیماری حاصل از میکروارگانیزم حاوی آن آنتی‌ژن بهبود یافته باشد. بنابراین لئوسیت‌های یک میزبان طبیعی نباید در برخورد با آنتی‌ژن خاص تکثیری نشان دهد. تکثیر سلول‌های T که هم می‌تواند CD⁴⁺ و یا CD⁸⁺ اختصاصی آنتی‌ژن باشد، یک روش اصلی برای ارزیابی توانایی عملکرد ایمنی سلولی در واکنش به تحریک‌های متفاوت است (۸).

بیشترین روش مورد استفاده به منظور ارزیابی تکثیر، استفاده از ³H-thymidin می‌باشد. این روش دارای حساسیتی بالا است و جواب به دست آمده قابلیت تکرار پذیری دارد. این روش بر مبنای اندازه‌گیری میزان ³H-thymidin در ساختار DNAهای تازه ساخته شده در هنگام تکثیر سلول است. البته این روش هم مشکلاتی دارد که خطراتی مانند استفاده از مواد رادیواکتیو، خطرناک بودن برای سلامت انسان و در نهایت مدیریت پسماندهای حاصل از این آزمایش از آن جمله‌اند.

به منظور اجتناب از این مشکلات و به حداقل رساندن استفاده از عوامل رادیواکتیو، تعدادی از روش‌های ارزیابی تکثیر لئوسیت‌ها توسعه داده شده است. این روش‌ها شامل احیای نمک‌های تترازولیوم از قبیل 5-Carboxanilide-tetrazolium-(2H)-(3,2-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulphenyl)-5,2-Diphenyltetrazolium Bromide) (XTT) و (3-(5,4-Dimethylthiazol-2-yl)-MTT)، استفاده از یک آنالوگ پیریمیدین مانند 5-Bromodeoxyuridine و ردیابی آن در ساختار DNAهای تازه تشکیل یافته، اندازه‌گیری میزان تغییرات هگزوامیندiaz لیروزومی (آزمایش NAG یا

واکسن کشته شده‌ی بروسلا ملی تنسیس Rev.1 همراه با ادجوانت ناقص فروند، و به گروه C، PBS (Phosphate buffered saline) همراه با ادجوانت کامل از طریق صفاقی تزریق شد. در روز ۱۵ به گروه‌های A و C تزریق‌ها همراه با ادجوانت ناقص فروند تکرار شد.

تهیه‌ی سلول‌های تک هسته‌ای (MNCs) یا (Mononuclear cells) از طحال

بعد از ۴۵ روز از اولین تزریق، موش‌ها در زیر هود ابتدا از طریق گردن، فلج و در نهایت کشته شدند. بعد از ضد عفونی کردن با الکل ۷۰ درصد، به منظور تهیه‌ی سلول‌های MNCs، بلافاصله طحال آن‌ها جدا و سلول‌های طحال به دست آمد. به سلول‌های طحال ۱۰ cc PBS حاوی ۵ درصد EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) سرد اضافه شد و سانتریفیوژ گردید (۱۵۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه). این عمل یک بار دیگر انجام گرفت. سپس مایع رویی دور ریخته شد و این بار ۵ cc PBS-EDTA سرد به سلول‌ها اضافه و سعی شد با احتیاط سلول‌ها دوباره به حالت سوسپانسیون درآید. با دقت این سوسپانسیون سلول‌های طحال به ۵ cc فایکول استریل اضافه گردید؛ به نحوی که سوسپانسیون روی فایکول قرار بگیرد. در ادامه، ترکیب به دست آمده سانتریفیوژ گردید. سعی شد برنامه‌ی دستگاه طوری تنظیم شود که دستگاه به آرامی سرعت بگیرد (۸۰۰ rpm به مدت ۲۵ دقیقه).

در ادامه، هاله‌ی سفید بین دو مرحله با دقت بسیار بالا با پیپت پاستور جدا گردید و یک بار دیگر با PBS-EDTA سرد شستشو داده شد. سپس سلول‌ها شمارش و همراه محیط (Sigma, USA) DMEM

(Net acid generation test) و ردیابی آنتی‌ژن‌های مرتبط با تکثیر است (۹).

آزمایش ارزیابی تکثیر بر مبنای استفاده از XTT دارای منافع زیادی است که از آن جمله می‌توان به استفاده نکردن از مواد رادیواکتیو، ساده بودن و همچنین اختصاصیت بالای آن اشاره کرد (۱۰). با وجود سهولت استفاده از این روش نسبت به روش‌های دیگر، از این آزمایش به منظور شناسایی آنتی‌ژن‌های بروسلائی که می‌تواند باعث تکثیر لئوسیت‌های خاطره‌ای شوند، استفاده نشده است. حفاظت نسبی علیه عفونت با بروسلا ملی تنسیس در موش‌های ایمن شده با Omp₃₁ بروسلا ملی تنسیس نشان داده شده است (۱۱-۱۲) و همچنین آنتی‌بادی مونوکلونال علیه این آنتی‌ژن می‌تواند حیوان را علیه عفونت با بروسلا ملی تنسیس محافظت نماید (۱۳-۱۴).

همچنین ثابت شده است که پروتئین نو ترکیب Omp₃₁ می‌تواند با سرم خرگوش ایمن شده با سوش واکسن بروسلا ملی تنسیس واکنش دهد (۱۵). از این رو، در مطالعه‌ی حاضر به بررسی تکثیر لئوسیت‌های موش‌های ایمن شده در مواجهه با پروتئین نو ترکیب Omp₃₁ با استفاده از دو روش XTT و MTT پرداخته شد.

روش‌ها

روش ایمن‌سازی موش‌ها با استفاده از آنتی‌ژن نو ترکیب و سوش واکسن، پیشتر توسط Delpino و همکاران گزارش شده است (۱۶). از این رو ۳ گروه موش (هر گروه شامل ۵ موش) به نام‌های A، B و C تعریف شد. در روز صفر به گروه A، ۳۰ µg پروتئین نو ترکیب Omp₃₁ (۱۷-۱۸)، به گروه B سوش

استفاده از فرمول زیر به دست آمد.

$$SI = \frac{(\text{mean OD of Stimulated culture} - \text{mean OD of DMEM blank control})}{(\text{mean OD of Unstimulated culture} - \text{mean OD of DMEM blank control})}$$

آزمایش MTT

در روش MTT تغییر رنگ زرد به بنفش اساس تمایز بین سلول‌های زنده و مرده می‌باشد و مقدار جذب نوری هر چاهک مشخص کننده‌ی میزان این تبدیل رنگ ناشی از فعالیت دهیدروژناز میتوکندری‌های سلول‌های زنده است (۱۱). محلول مترازولیوم از حل کردن ۵ mg پودر MTT (Sigma) در ۱ ml بسافر PBS به دست آمد. این محلول با عبور از فیلتر $0.22 \mu\text{m}$ از عوامل آلاینده پاک شد که به مدت ۴ هفته در تاریکی قابل نگهداری می‌باشد (۱۱). همانند قسمت قبلی سلول‌های طحالی به دست آمده به تعداد ۲۰۰ هزار سلول در هر چاهک در مجاورت Omp₃₁، کانکاوآلین A و PBS (۳ چاهک برای هر کدام) کشت داده شد. $20 \mu\text{l}$ از محلول آماده‌ی MTT به هر چاهک افزوده شد و پس از ۴ ساعت انکوباسیون در دمای 37°C و سانتریفیوژ (۵ دقیقه بسا دور 2000 rpm)، محیط رویی برداشته شد. سپس $100 \mu\text{l}$ دی متیل سولفوکساید (DMSO یا Dimethyl sulfoxide) به هر چاهک افزوده شد و پس از ۱۵ دقیقه جذب نوری (OD یا Optical density) میکروپلیت توسط دستگاه، با استفاده از دستگاه الیزا ریدر در طول موج ۴۹۲ نانومتر جذب نوری آن‌ها خوانده شد (۲۲). برای به دست آوردن SI از فرمول پیش گفته استفاده شد.

(Dulbecco's modified Eagle's medium) بدون فنل رد در داخل هر چاهک تقسیم شد. تعداد سلول در هر چاهک 2×10^5 در $100 \mu\text{l}$ محیط کشت DMEM بدون فنل رد بود. سعی شد تا حد امکان زنجیره‌ی سرد در مراحل یاد شده رعایت شود (4°C) (۲۰-۱۹).

آزمایش XTT

روش انجام آزمایش ارزیابی تکثیر سلولی با استفاده از XTT پیشتر نشان داده شده است (۲۱). از این رو به منظور بررسی نحوه‌ی پاسخ‌دهی سلول‌های طحالی به پروتئین توترکیب Omp₃₁، سلول‌های طحالی به دست آمده از هر گروه در مرحله‌ی قبل در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه تقسیم شدند. در هر چاهک، ۲۰۰ هزار سلول بعد از شمارش ریخته شد و برای هر گروه از ۳ چاهک استفاده گردید. سلول‌های کشت داده شده به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور دارای ۵ درصد CO_2 در مجاورت Omp₃₁ ($2.5 \mu\text{g/ml}$ و $5 \mu\text{g/ml}$)، کانکاوآلین A ($3 \mu\text{g/ml}$) و PBS (۳ چاهک برای هر کدام) قرار گرفتند.

محلول XTT از حل کردن 1 mg/ml پودر XTT در محیط از پیش گرم شده تا حدود 50°C درجه DMEM بدون فنل رد به دست آمد. به ۵ cc از این محلول، $25 \mu\text{l}$ محلول PMS 5 mM (Phenazine methosulfate) (Sigma) اضافه شد. از این محلول به دست آمده، $100 \mu\text{l}$ به هر چاهک اضافه گردید. بعد از اضافه کردن محلول XTT-PMS، پلیت‌ها در انکوباتور در دمای 37°C به مدت ۴ ساعت قرار گرفتند و بعد از آن با استفاده از دستگاه الیزا ریدر در طول موج ۴۹۲ نانومتر جذب نوری آن‌ها خوانده شد. میزان SI (Stimulation index) با

آنالیز آماری

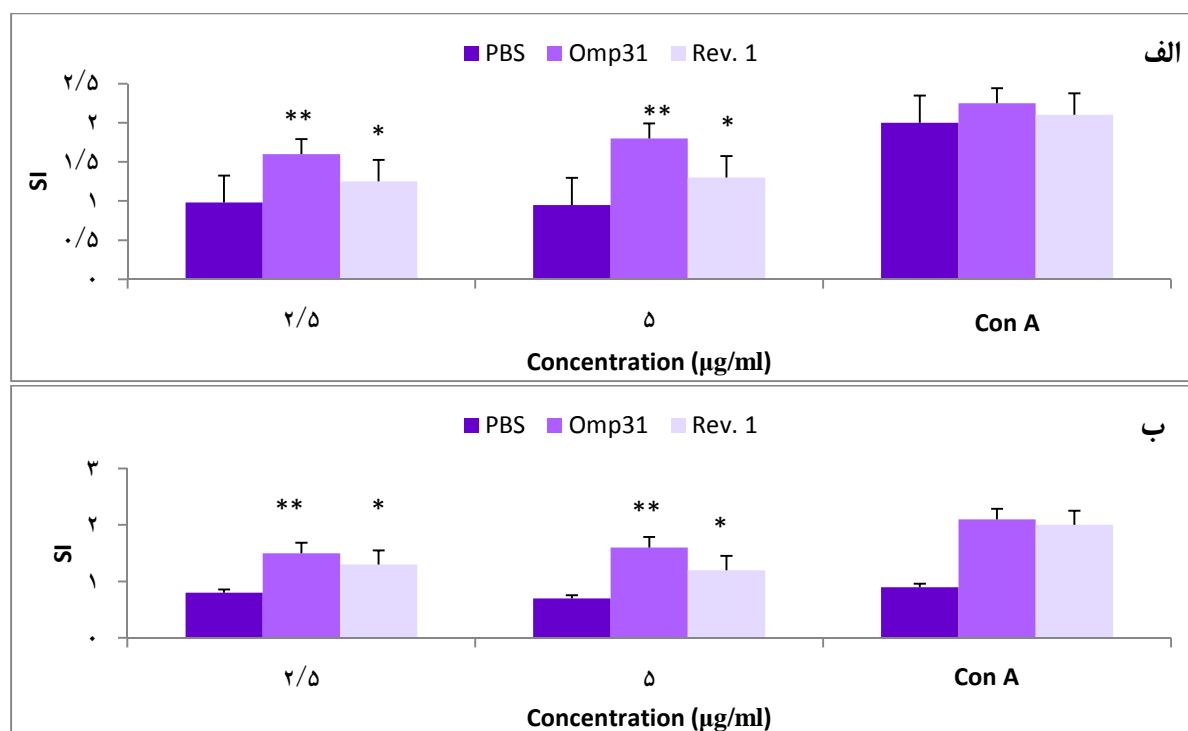
بدین من‌ظور، ۳ گروه موش تعریف شد و هر گروه با Omp₃₁ (A)، Rev.1 (B) و PBS (C) به ترتیب ایمن شدند.

بعد از جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای (MNCs) طحال و مجاورت دادن آن‌ها با Omp₃₁، کانکاوالین A و PBS، مشاهده گردید که سلول‌های طحالی جدا شده از موش‌های گروه A و B در پاسخ به تحریک با Omp₃₁ و کانکاوالین A شروع به تکثیر نمودند. در صورتی که تکثیری در پاسخ به PBS دیده نشد. اختلاف معنی‌داری میان SI حاصل از مجاورت سلول‌های طحالی گروه A ($P < 0/010$) و B ($P < 0/050$) در مقایسه با گروه C دیده شد (شکل ۱ الف و ب).

اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) بررسی شدند. نتایج بین گروه‌ها با آزمون ANOVA (Analysis of variance) مقایسه گردید و اختلاف $P < 0/050$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

به منظور بررسی توانایی پروتئین Omp₃₁ در ایجاد حافظه در سلول‌های ایمنی، آزمایش بررسی تکثیر سلول‌های طحالی انجام گرفت. در این مطالعه برای اولین بار در مورد آنتی‌ژن‌های باکتریایی از آزمایش ارزیابی تکثیر با استفاده از رنگ XTT استفاده شد.



شکل ۱. واکنش‌های تکثیری سلول‌های طحال موش‌های ایمن شده با Rev.1، پروتئین نو ترکیب Omp₃₁ و PBS (Phosphate buffered saline) مجدد با غلظت‌های متفاوت پروتئین نو ترکیب Omp₃₁ نشان داده شده است.

الف: نتایج حاصل از آزمایش XTT ب: نتایج حاصل از آزمایش MTT

$$P < 0/050, **; P < 0/010, *$$

بحث

تاکنون آنتی‌ژن‌های متعددی به عنوان کاندیدا برای ساخت واکسن زیر واحد علیه عفونت حاصل از بروسلا معرفی شده‌اند. اما تنها تعداد کمی از این آنتی‌ژن‌ها توانسته‌اند حفاظت نسبی در موش‌های ایمن شده با این آنتی‌ژن‌ها ایجاد کنند (۳۳-۲۳، ۱۸).

این آنتی‌ژن‌ها بیشتر آنتی‌ژن‌هایی هستند که می‌توانند سیستم ایمنی سلولی را به خوبی تحریک کنند و این موضوع به دلیل غلبه‌ی ایمنی سلولی در حفاظت بدن علیه بروسلا می‌باشد، هر چند که سیستم ایمنی هومورال نیز در این زمینه نقش مهمی بر عهده دارد (۳۴-۳۵).

در مطالعاتی که تا کنون با استفاده از پروتئین نو ترکیب Omp۳۱ صورت گرفته است، توانایی این آنتی‌ژن در تحریک تکثیر سلول‌های طحال موش ایمن شده اثبات نشده است. از این رو در این مطالعه برای اولین بار با استفاده از آزمایش ارزیابی تکثیر XTT و MTT نشان داده شد که این آنتی‌ژن می‌تواند آنتی‌ژنی باشد که علاوه بر تحریک سیستم ایمنی هومورال (۱۵)، ایمنی سلولی را نیز تحریک کند.

همچنین نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که سلول‌های طحال موش‌های ایمن شده با Rev.۱، بعد از در معرض قرار گیری با Omp۳۱ در شرایط آزمایشگاهی شروع به تکثیر می‌کند که این تکثیر، اختلاف معنی‌داری با تکثیر سلول‌های طحال موش‌های ایمن شده با PBS دارد ($P < 0/050$). این یافته نشان دهنده‌ی این است که آنتی‌ژن Omp۳۱ در فرایند ایمن‌سازی با استفاده از واکسن Rev.۱ نقش مهمی بازی می‌کند. در همین راستا، در مطالعاتی که پیش از این بر روی بررسی نقش حفاظت‌بخشی

Omp۳۱ در حیوانات آزمایشگاهی ایمن شده با این آنتی‌ژن در مقابل عفونت بروسلا ملی تنسیس انجام شده است، به توانایی این آنتی‌ژن در ایجاد حفاظت نسبی علیه عفونت بروسلوزیس حاصل از بروسلا ملی تنسیس اشاره شده است (۳۶، ۱۸، ۱۲).

بنابراین نتایج این مطالعه ضمن تأیید نتایج منتشر شده‌ی قبل، بر اهمیت استفاده از این آنتی‌ژن در ساخت واکسن زیر واحدی علیه عفونت بروسلا ملی تنسیس تأکید دارد. در این مطالعه سعی شد از روش ارزیابی تکثیر با استفاده از XTT نیز به منظور بررسی تکثیر سلول‌های طحالی استفاده شود. آزمایش بررسی تکثیر با استفاده از XTT، روشی بیوشیمیایی بر مبنای فعالیت آنزیم‌های میتوکندری است که در مدت کوتاهی پس از مرگ سلول‌ها غیر فعال می‌شوند. بعد از احیای XTT به وسیله آنزیم‌های میتوکندریایی، XTT تبدیل به ترکیبی نارنجی رنگ و محلولی به نام فورمازان (Formazan) می‌شود که میزان غلظت این رنگ نشان دهنده‌ی تعداد سلول‌ها است که می‌توان OD آن را در طول موج ۴۹۲ نانومتر خواند (۳۷). به منظور بهینه کردن فعالیت XTT از یک پذیرنده‌ی میانی الکترون به نام PMS استفاده می‌شود که این پذیرنده با وجود بالا بردن کارایی آزمایش، هیچ گونه اثر منفی بر روی عملکرد XTT ندارد (۳۸).

نتایج این مطالعه نشان داد که این آزمایش می‌تواند به خوبی تکثیر سلول‌های تحریک شده را مانند آزمایش MTT نشان دهد. اما این آزمایش وقت و زمان کمتری برای انجام آن نیاز دارد. از این رو می‌تواند انتخاب بهتری برای انجام آزمایش بررسی تکثیر باشد. مطالعات صورت گرفته در ارتباط با آزمایش بررسی تکثیر سلولی با استفاده از XTT بر اهمیت و کارایی بالای این

تشکر و قدردانی

این مطالعه توسط گرانت‌های پژوهشی از دانشگاه علوم پزشکی تهران به شماره‌ی ۸۷۲۳ و پژوهشگاه فن‌آوری‌های نوین ابن سینا به شماره‌ی ۴۹-۸۸ حمایت شده است.

آزمایش اشاره کرده‌اند (۳۹-۴۰، ۲۱).

نتایج این مطالعه بر ضرورت استفاده از Omp31 در ساخت واکسنی زیر واحد علیه عفونت بروسلا ملی تنسیس اشاره دارد. علاوه بر این، XTT می‌تواند یک آزمایش قابل اعتماد، تکرار پذیر و راحت در ارزیابی تکثیر سلول‌های طحال موش باشد.

References

1. Rajashekara G, Glasner JD, Glover DA, Splitter GA. Comparative whole-genome hybridization reveals genomic islands in *Brucella* species. *J Bacteriol* 2004; 186(15): 5040-51.
2. Ghasemi A, Ranjbar R, Amani J. In silico analysis of chimeric TF, Omp31 and BP26 fragments of *Brucella melitensis* for development of a multi subunit vaccine candidate. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17(3): 172-80.
3. Moriyon I, Grillo MJ, Monreal D, Gonzalez D, Marin C, Lopez-Goni I, et al. Rough vaccines in animal brucellosis: structural and genetic basis and present status. *Vet Res* 2004; 35(1): 1-38.
4. Jimenez de Bagues MP, Marin CM, Blasco JM, Moriyon I, Gamazo C. An ELISA with *Brucella* lipopolysaccharide antigen for the diagnosis of *B. melitensis* infection in sheep and for the evaluation of serological responses following subcutaneous or conjunctival *B. melitensis* strain Rev 1 vaccination. *Vet Microbiol* 1992; 30(2-3): 233-41.
5. Baldi PC, Giambartolomei GH, Goldbaum FA, Abdon LF, Velikovskiy CA, Kittelberger R, et al. Humoral immune response against lipopolysaccharide and cytoplasmic proteins of *Brucella abortus* in cattle vaccinated with *B. abortus* S19 or experimentally infected with *Yersinia enterocolitica* serotype 0:9. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; 3(4): 472-6.
6. Blasco JM, Diaz R. *Brucella melitensis* Rev-1 vaccine as a cause of human brucellosis. *Lancet* 1993; 342(8874): 805.
7. Pichler WJ, Tilch J. The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy* 2004; 59(8): 809-20.
8. Froebel KS, Pakker NG, Aiuti F, Bofill M, Choremi-Papadopoulou H, Economidou J, et al. Standardisation and quality assurance of lymphocyte proliferation assays for use in the assessment of immune function. European Concerted Action on Immunological and Virological Markers of HIV Disease Progression. *J Immunol Methods* 1999; 227(1-2): 85-97.
9. Yu HG, Chung H, Yu YS, Seo JM, Heo JW. A new rapid and non-radioactive assay for monitoring and determining the proliferation of retinal pigment epithelial cells. *Korean J Ophthalmol* 2003; 17(1): 29-34.
10. Kuhn DM, Balkis M, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Uses and limitations of the XTT assay in studies of *Candida* growth and metabolism. *J Clin Microbiol* 2003; 41(1): 506-8.
11. Sadeghifard N, Aslani MM, Ghasemi A. Comparison of different laboratory methods for diagnosis of *helicobacter pylori*. *Journal of Biological Sciences* 2006; 6(6): 1146-9.
12. Estein SM, Cassataro J, Vizcaino N, Zygmunt MS, Cloeckert A, Bowden RA. The recombinant Omp31 from *Brucella melitensis* alone or associated with rough lipopolysaccharide induces protection against *Brucella ovis* infection in BALB/c mice. *Microbes Infect* 2003; 5(2): 85-93.
13. Jacques I, Cloeckert A, Limet JN, Dubray G. Protection conferred on mice by combinations of monoclonal antibodies directed against outer-membrane proteins or smooth lipopolysaccharide of *Brucella*. *J Med Microbiol* 1992; 37(2): 100-3.
14. Cloeckert A, Jacques I, Bosseray N, Limet JN, Bowden R, Dubray G, et al. Protection conferred on mice by monoclonal antibodies directed against outer-membrane-protein antigens of *Brucella*. *J Med Microbiol* 1991; 34(3): 175-80.
15. Ghasemi A, Salari MH, Zarnani AH, Pourmand MR, Ahmadi H, Mirshafiey A, et al. Immune reactivity of *Brucella melitensis*-vaccinated rabbit serum with recombinant Omp31 and DnaK proteins. *Iran J Microbiol* 2013; 5(1): 19-23.
16. Delpino MV, Estein SM, Fossati CA, Baldi PC, Cassataro J. Vaccination with *Brucella*

- recombinant DnaK and SurA proteins induces protection against *Brucella abortus* infection in BALB/c mice. *Vaccine* 2007; 25(37-38): 6721-9.
17. Ghasemi A, Salari MH, Pourmand MR, Zarnani AH, Ahmadi H, Shirazi MH, et al. Optimization and Efficient Purification in Production of *Brucella melitensis* Recombinant HSP and TF Proteins With Low Endotoxin Contents. *Jundishapur J Microbiol* 2013; 6(7 SP e6875).
 18. Cassataro J, Pasquevich KA, Estein SM, Laplagne DA, Velikovskiy CA, de la Barrera S, et al. A recombinant subunit vaccine based on the insertion of 27 amino acids from Omp31 to the N-terminus of BLS induced a similar degree of protection against *B. ovis* than Rev.1 vaccination. *Vaccine* 2007; 25(22): 4437-46.
 19. Foline B, Nutten S, Grangette C, Dennin V, Goudercourt D, Poiret S, et al. Correlation between in vitro and in vivo immunomodulatory properties of lactic acid bacteria. *World J Gastroenterol* 2007; 13(2): 236-43.
 20. Horwood NJ, Kartsogiannis V, Quinn JM, Romas E, Martin TJ, Gillespie MT. Activated T lymphocytes support osteoclast formation in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 265(1): 144-50.
 21. Hojjat-Farsangi M, Ghaemimanesh F, Daneshmanesh AH, Bayat AA, Mahmoudian J, Jeddi-Tehrani M, et al. Inhibition of the receptor tyrosine kinase ROR1 by anti-ROR1 monoclonal antibodies and siRNA induced apoptosis of melanoma cells. *PLoS One* 2013; 8(4): e61167.
 22. Slavotinek A, McMillan TJ, Steel CM. Measurement of radiation survival using the MTT assay. *Eur J Cancer* 1994; 30A(9): 1376-82.
 23. Ghasemi A, Salari MH, Zarnani AH, Pourmand MR, Ahmadi H, Shirazi MH, et al. Immunogenicity assessment of *Brucella melitensis* HSP and TF proteins by immunized rabbit serum. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2013; 12(2): 192-4.
 24. Yang Y, Yin J, Guo D, Lang X, Wang X. Immunization of mice with recombinant S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase protein confers protection against *Brucella melitensis* infection. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2011; 61(2): 159-67.
 25. Commander NJ, Spencer SA, Wren BW, MacMillan AP. The identification of two protective DNA vaccines from a panel of five plasmid constructs encoding *Brucella melitensis* 16M genes. *Vaccine* 2007; 25(1): 43-54.
 26. Luo D, Ni B, Li P, Shi W, Zhang S, Han Y, et al. Protective immunity elicited by a divalent DNA vaccine encoding both the L7/L12 and Omp16 genes of *Brucella abortus* in BALB/c mice. *Infect Immun* 2006; 74(5): 2734-41.
 27. Yang X, Hudson M, Walters N, Bargatze RF, Pascual DW. Selection of protective epitopes for *Brucella melitensis* by DNA vaccination. *Infect Immun* 2005; 73(11): 7297-303.
 28. Araya LN, Winter AJ. Comparative protection of mice against virulent and attenuated strains of *Brucella abortus* by passive transfer of immune T cells or serum. *Infect Immun* 1990; 58(1): 254-6.
 29. Velikovskiy CA, Goldbaum FA, Cassataro J, Estein S, Bowden RA, Bruno L, et al. *Brucella* lumazine synthase elicits a mixed Th1-Th2 immune response and reduces infection in mice challenged with *Brucella abortus* 544 independently of the adjuvant formulation used. *Infect Immun* 2003; 71(10): 5750-5.
 30. Al-Mariri A, Tibor A, Mertens P, De B, X, Michel P, Godefroid J, et al. Protection of BALB/c mice against *Brucella abortus* 544 challenge by vaccination with bacterioferritin or P39 recombinant proteins with CpG oligodeoxynucleotides as adjuvant. *Infect Immun* 2001; 69(8): 4816-22.
 31. Cespedes S, Andrews E, Folch H, Onate A. Identification and partial characterisation of a new protective antigen of *Brucella abortus*. *J Med Microbiol* 2000; 49(2): 165-70.
 32. Tabatabai LB, Pugh GW, Jr. Modulation of immune responses in Balb/c mice vaccinated with *Brucella abortus* Cu-Zn superoxide dismutase synthetic peptide vaccine. *Vaccine* 1994; 12(10): 919-24.
 33. Oliveira SC, Splitter GA. Immunization of mice with recombinant L7/L12 ribosomal protein confers protection against *Brucella abortus* infection. *Vaccine* 1996; 14(10): 959-62.
 34. Hoover DL, Crawford RM, Van De Verg LL, Izadjoo MJ, Bhattacharjee AK, Paronavitana CM, et al. Protection of mice against brucellosis by vaccination with *Brucella melitensis* WR201(16MDeltapurEK). *Infect Immun* 1999; 67(11): 5877-84.
 35. Letesson JJ, Tibor A, van Eynde G, Wansard V, Weynants V, Denoel P, et al. Humoral immune responses of *Brucella*-infected cattle, sheep, and goats to eight purified recombinant *Brucella* proteins in an indirect enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4(5): 556-64.
 36. Cassataro J, Pasquevich K, Bruno L, Wallach JC, Fossati CA, Baldi PC. Antibody reactivity to Omp31 from *Brucella melitensis* in human and animal infections by smooth and rough *Brucellae*. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11(1): 111-4.
 37. Marshall NJ, Goodwin CJ, Holt SJ. A critical

- assessment of the use of microculture tetrazolium assays to measure cell growth and function. *Growth Regul* 1995; 5(2): 69-84.
38. Scudiero DA, Shoemaker RH, Paul KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, et al. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res* 1988; 48(17): 4827-33.
39. Liu SB, Hu PZ, Hou Y, Li P, Cao W, Tian Q. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 promotes the proliferation of mesenchymal stem cells in vivo and in vitro. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122(7): 839-43.
40. Ghasemi A, Zarnani AH, Ghoojani A, Rezaia S, Salari MH, Jeedi-Tehrani M. Identification of a new immunogenic candidate conferring protection against *Brucella melitensis* infection in Mice. *Mol Immunol*. 2014; 62(1): 142-9.

In-Vitro Potential of Recombinant Omp31 Protein from Brucella Melitensis in Inducing the Proliferation of Immunized Mouse Lymphocytes

Amir Ghasemi PhD¹, Mohammad Hossein Salari PhD², Amir Hassan Zarnani PhD³,
Mahmood Jeddi-Tehrani PhD⁴, Reza Ranjbar PhD⁵

Original Article

Abstract

Background: Brucella melitensis infection is still a major health problem for human and cattle in developing countries and the Middle East. Cell-mediated immunity is the dominant immune response required for protection against brucellosis. So, identifying of new candidates which can induce cell-mediated immunity is demanded. Proliferation assay is one of the methods used to evaluate the potential of an antigen to generate memory T-cell. In the present study, the proliferation of splenocytes obtained from immunized mice was evaluated when they were challenged by recombinant Omp31 (rOmp31) in vitro.

Methods: Mice were immunized by phosphate buffered saline (PBS), rOmp31 and formalin-killed Brucella melitensis Rev.1 with Freund's adjuvant. At the day 30, after the last immunization, spleens were removed and homogenized. Purified rOmp31 (2.5 and 5 µg/ml) was added to 2×10^5 spleen cells and then, the splenocytes were incubated at 37°C in 5% CO₂ atmosphere. After 48 hours, XTT [2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide] and MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assays were used to show the splenocyte proliferation.

Findings: The splenocytes of mice immunized with rOmp31 or Rev.1 started to proliferate after stimulation with rOmp31. There was a significant difference between SIs obtained from rOmp31 and Rev compared to phosphate buffered saline group ($P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively).

Conclusion: Based on our findings, rOmp31 could generate a good memory cellular immune response. In addition, the method described here to study the splenocyte proliferation using XTT, is a simple and efficient method.

Keywords: Brucella, Vaccine, Recombinant protein, Splenocyte, Proliferation assay

Citation: Ghasemi A, Salari MH, Zarnani AH, Jeddi-Tehrani M, Ranjbar R. **In-Vitro Potential of Recombinant Omp31 Protein from Brucella Melitensis in Inducing the Proliferation of Immunized Mouse Lymphocytes.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(292): 1036-45

1- Assistant Professor, Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Professor, Department of Microbiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Associate Professor, Nanobiotechnology Research Center, Avicenna Research Institute AND Immunology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Professor, Monoclonal Antibody Research Center, Avicenna Research Institute, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran

5- Associate Professor, Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Mohammad Hossein Salari PhD, Email: mhsalari2002@gmail.com

استفاده از شاخص‌های تن‌سنجی در طراحی معادلات پیشگوی تخمین چربی کل بدن جهت حذف اسکن دگزا از کل بدن

دکتر محمدرضا سلامت^۱، دکتر احمد شائنی^۲، مهدی عسگری^۳، امیرحسین سلامت^۴، مهری خوشحالی^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: هدف از این مطالعه، پیش‌بینی کل بافت چربی با استفاده از متغیرهای تن‌سنجی (اندازه‌ی دور کمر، اندازه‌ی دور باسن، نسبت دور کمر به باسن، نسبت دور کمر به قد و شاخص توده‌ی بدنی) بود. مزیت این پیش‌بینی نسبت به اسکن دگزا از کل بدن، راحتی بیشتر بیمار، استفاده از دوز کمتر اشعه‌ی یونیزان و کاهش در هزینه‌ها می‌باشد.

روش‌ها: برای این مطالعه ۱۴۳ نفر از بزرگسالان مراجعه کننده به مرکز تشخیص ترکیبات بدن و پوکی استخوان اصفهان، مورد اسکن با روش جذب اشعه‌ی ایکس با انرژی دوگانه (Dual-energy X-ray absorptiometry یا DXA) برای اندازه‌گیری بافت چربی کل بدن قرار گرفتند. همزمان مقادیر قد، وزن، اندازه‌ی دور کمر و باسن اندازه‌گیری شد و مقادیر شاخص توده‌ی بدنی، نسبت دور کمر به باسن و نسبت دور کمر به قد محاسبه گردید. مجموعه‌ی داده‌ها به صورت تصادفی به دو گروه شاهد شامل ۱۰۰ نفر و مورد شامل ۴۳ نفر تقسیم شدند و تحلیل رگرسیون چندگانه با حذف پسر و بر گروه مورد اعمال گردید. مقادیر پیش‌بینی برای کل بافت چربی با استفاده از معادلات رگرسیونی حاصل بر روی داده‌های آزمون به دست آمد و در نهایت، مقادیر پیش‌بینی شده و مشاهده شده‌ی چربی کل بدن مقایسه گردید.

یافته‌ها: با استفاده از روش رگرسیون چندگانه، بهترین معادله‌ی پیشگو برای پیش‌بینی کل بافت چربی بدن شامل شاخص توده‌ی بدنی و جنسیت بود ($R^2 = 0/808$).

نتیجه‌گیری: جنسیت تأثیر مهمی در رابطه‌ی بین کل بافت چربی با شاخص‌های تن‌سنجی دارد. همچنین شاخص توده‌ی بدنی نسبت به دیگر شاخص‌های تن‌سنجی، دارای توانایی بیشتری در تخمین کل بافت چربی بدن است.

واژگان کلیدی: شاخص تن‌سنجی، جذب اشعه‌ی ایکس با انرژی دوگانه، تخمین چربی بدن

ارجاع: محمدرضا سلامت، شائنی احمد، عسگری مهدی، سلامت امیرحسین، خوشحالی مهری. استفاده از شاخص‌های تن‌سنجی در طراحی معادلات پیشگوی تخمین چربی کل بدن جهت حذف اسکن دگزا از کل بدن. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۲): ۱۰۵۳-۱۰۴۶

مقدمه

و اضافه وزن یک اختلال متابولیکی است که با افزایش چربی کل بدن افزایش می‌یابد و رابطه‌ی مستقیمی با خطر ابتلا به بیماری‌هایی نظیر فشار

در ایران همچون سایر کشورهای جهان چاقی و اضافه وزن در حال همه‌گیر شدن می‌باشد (۱). چاقی

۱- استادیار، گروه فیزیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات بیوسنسور، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و مرکز تشخیص پوکی استخوان و تعیین ترکیبات بدن اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه فیزیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۴- مرکز تشخیص پوکی استخوان و تعیین ترکیبات بدن اصفهان، اصفهان، ایران

۵- دانشجوی دکتری، گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: m.mahdiasgari@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: مهدی عسگری

خون، دیابت، سرطان و بیماری‌های قلبی - عروقی دارد (۲-۳). چاقی و اضافه وزن اغلب به وسیله‌ی شاخص توده‌ی بدنی (BMI یا Body mass index) تعریف می‌شوند که البته این شاخص، توانایی در تمایز بین بافت چربی و بافت غیر چربی را ندارد (۴). این در حالی است که استفاده از شاخص‌های تن‌سنجی دیگر (اندازه‌ی دور کمر (WC یا Waist circumference)، نسبت دور کمر به باسن (hip circumference یا WHR)، نسبت دور کمر به قد (Waist-hip ratio یا WHR)، نسبت دور کمر به قد (Waist-to-height ratio یا WHtR) به عنوان شاخصی بهتر نسبت به شاخص توده‌ی بدنی برای بیان چاقی و اضافه وزن توصیه شده است (۵). برای مثال از متغیرهای اندازه‌ی دور کمر و اندازه‌ی دور باسن بیشتر برای بیان چگونگی توزیع چربی در داخل بدن استفاده می‌شود (۶) و شاخص WHR، به طور گسترده برای تمایز توزیع مرکزی بافت چربی از توزیع محیطی آن، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷).

با این وجود، پژوهشگران نشان داده‌اند که اندازه‌ی دور کمر شاخص بهتری برای بیان چربی احشا در مقایسه با WHR است (۷). توموگرافی کامپیوتری (CT یا Computed tomography) و روش تصویربرداری تشدید مغناطیسی (MRI یا Magnetic resonance imaging)، روش‌های اصلی در تعیین چگونگی توزیع بافت چربی در بدن هستند، اما دارای هزینه‌ی بالا و دریافت دوز زیاد (برای روش CT) می‌باشند. این در حالی است که اسکن دگزا، روشی ساده و دارای هزینه و دوز کمتری است و توانایی اندازه‌گیری ناحیه‌ای و کل ترکیبات بدن را دارد (۸).

اگر چه دگزا توانایی تمایز بین چربی داخل بدنی و زیرجلدی را ندارد، اما مطالعات نشان داده است که رابطه‌ی خوبی بین چربی داخل بدنی به دست آمده از دگزا در ناحیه‌ی تنه با چربی داخل بدنی به دست آمده از روش CT و MRI وجود دارد (۹). دگزا دارای هزینه و دوز اندکی برای بیمار است؛ اما همین دوز اندک و زمان اسکن، از جمله محدودیت‌های این روش است که لزوم استفاده از شاخص‌های تن‌سنجی برای تخمین ترکیبات بدن را سبب می‌شود. زمان لازم در اسکن دگزا از کل بدن در حدود ۵ دقیقه می‌باشد، این زمان زیاد موجب محدودیت‌هایی از قبیل ثابت نگه داشتن بیمار و در استفاده‌های مکرر سبب استهلاک و درگیری شدید لامپ اشعه‌ی X و دکتور دستگاه می‌گردد. از طرفی می‌دانیم، صحبت از یک دوز مطمئن و بی‌خطر، غیر ممکن است و هر تابشی به بیمار احتمال خطری را به دنبال دارد (۱۰) و در دوزهای پایین همان‌طور که در روش دگزا نیز اینچنین است، خطرات اساسی تابش به بیمار سرطان‌زایی و اثرات ژنتیکی خواهد بود (۱۱).

با بررسی‌های به عمل آمده، در این زمینه در کشور مطالعه‌ای صورت نگرفته است و عوامل متعددی مانند نژاد، تغذیه و ویژگی‌های وراثتی بر ترکیبات کل بدن و چگونگی توزیع چربی مؤثرند. از این رو، استفاده از معادلات پیشگوی کل بافت چربی بدن مربوط کشورهای دیگر که با ویژگی‌های نژادی و جغرافیایی ویژه‌ی آن جمعیت‌ها اعتباریابی شده‌اند، ممکن است برای ایرانیان و یا دیگر جوامع با خطا همراه باشد.

از این رو در این مطالعه، بهترین معادلات پیشگو برای پیش‌بینی کل بافت چربی با استفاده از شاخص‌های تن‌سنجی محاسبه شد.

روش‌ها

پژوهش حاضر یک بررسی مقطعی از ۱۴۳ نفر از زنان و مردانی است که به دستور پزشک معالج به منظور سنجش پوکی استخوان و بررسی احتمال خطر شکستگی استخوان به مرکز تشخیص ترکیبات بدن و پوکی استخوان اصفهان مراجعه نمودند. محدوده سنی افراد مورد مطالعه، ۶۵-۴۰ سال بود و افراد دارای شرایط پزشکی مزمن، مصرف کنندگان سیگار و همچنین ورزشکاران از این مطالعه حذف شدند. این مطالعه به تأیید کمیته‌ی اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اصفهان رسید. اسکن دگزا از کل بدن به وسیله‌ی دستگاه نورلند مدل XR-۸۰۰ انجام و آنالیز مقادیر به دست آمده توسط نسخه‌ی ۴/۴/۰ نرم‌افزار نورلند (Norland software) انجام شد.

برای هر یک از نمونه‌ها، وزن با حداقل پوشش با حساسیت ۱۰۰ g و قد افراد با استفاده از متر نواری با دقت ۰/۱ cm در وضعیت ایستاده در کنار دیوار اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری دور باسن با متر نواری از ناحیه‌ای با بیشترین محیط و اندازه‌گیری دور کمر با متر نواری در دور محیط کمر در نقطه‌ای میانی بین پایین‌ترین دنده و تاج خاصره، به عبارت دیگر در حدود سطح ناف انجام شد. هنگام اندازه‌گیری، متر نواری باید به اندازه‌ی کافی کشیده شود، بدون آن که باعث چین خوردگی پوست گردد. شاخص توده‌ی بدنی با تقسیم وزن بر مجذور قد بر حسب (kg/m^2) محاسبه گردید. شاخص‌های WHR و WHtR نیز به ترتیب از تقسیم اندازه‌ی دور کمر به دور باسن و تقسیم اندازه‌ی دور کمر به قد محاسبه شد. جمعیت مورد مطالعه به طور تصادفی به دو گروه شاهد و مورد تقسیم شدند که گروه شاهد شامل

۱۰۰ نمونه و گروه مورد شامل ۴۳ نمونه بود. به منظور برآورد معادلات پیش‌بینی با استفاده از گروه شاهد، رگرسیون خطی چندگانه با روش حذف پسر و انجام شد. رگرسیون خطی برای بافت چربی کل بدن بر اساس متغیرهای پیشگو (جنسیت، سن، اندازه‌ی دور باسن، اندازه‌ی دور کمر و شاخص توده‌ی بدنی) برازش داده شدند. مقادیر پیش‌بینی چربی کل بدن با استفاده از معادلات حاصل برای مجموعه‌ی آزمون محاسبه شد. در نهایت، مقادیر پیش‌بینی شده و مشاهده شده‌ی چربی کل بدن بر اساس (ضریب تعیین تعدیل شده) Adjusted R^2 و مجموع مربعات خطا (SSE یا Sum of squares for error) مقایسه شدند. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد.

یافته‌ها

جدول ۱ میانگین و انحراف معیار داده‌های مربوط به چربی کل بدن به دست آمده توسط دستگاه دگزا و متغیرهای تن‌سنجی جمعیت مورد مطالعه در هر دو گروه شاهد و مورد را نشان می‌دهد. بر اساس آزمون‌های χ^2 برای متغیر گسسته و t برای متغیرهای پیوسته، هیچ تفاوت معنی‌داری بین متغیرهای این دو گروه مشاهده نشد ($P > 0/05$). ضریب همبستگی Pearson بین کل بافت چربی بدن و شاخص‌های تن‌سنجی در جدول ۲ آمده است. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، شاخص توده‌ی بدنی در مقایسه با دیگر شاخص‌های تن‌سنجی دارای بیشترین ارتباط با چربی کل بدن می‌باشد. نتایج حاصل از تحلیل رگرسیون چندگانه با روش انتخاب متغیر از

آزمون محاسبه شد و با مقادیر واقعی به دست آمده از اسکن دگزا مقایسه گردید (جدول ۴). همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، بر اساس معیارهای ضریب تعیین تعدیل شده و مجموع مربعات خطا از میان تمام معادلات پیشگو، بهترین مدل برای پیش‌بینی چربی کل بدن با $R^2 = 0/808$ و $Adjusted\ SEE = 582/28$ متغیرهای جنسیت و شاخص توده‌ی بدنی می‌باشد. شکل ۱، نمودار پراکنش مقادیر پیش‌بینی شده و مقادیر مشاهده شده برای گروه مورد را نشان می‌دهد که بیانگر وجود توافق بالا بین این مقادیر می‌باشد.

طریق حذف پسر و بر روی داده‌های گروه شاهد در جدول ۳ آمده است. برآزش انجام شده منجر به انتخاب متغیر جنسیت و شاخص توده‌ی بدنی برای پیش‌بینی کل بافت چربی شده است. معادلات پیشگو برای کل بافت چربی بدن در زیر آمده است:

$$-11/938 - 8/511 = \text{کل بافت چربی بدن (kg)}$$

$$\text{شاخص توده‌ی بدنی} \times 1/606 + \text{جنسیت} \times$$

$$R^2 = 0/808$$

مقادیر پیش‌بینی کل بافت چربی بدن با استفاده از معادلات پیشگوی حاصل برای مجموعه‌ی داده‌های

جدول ۱. مقایسه‌ی میانگین و انحراف استاندارد در دو گروه شاهد و مورد

مقدار P	گروه شاهد (n = 100)	گروه مورد (n = 43)	شاخص
	میانگین \pm انحراف استاندارد	میانگین \pm انحراف استاندارد	
0/185	104/190 \pm 14/377	100/880 \pm 11/639	اندازه‌ی دور باسن (cm)
0/885	90/980 \pm 14/805	90/600 \pm 12/668	اندازه‌ی دور کمر (cm)
0/080	0/230 \pm 0/422	0/370 \pm 0/489	جنسیت (زن = 0 و مرد = 1)
0/541	47/000 \pm 11/172	49/000 \pm 11/547	سن (سال)
0/849	160/240 \pm 9/062	160/550 \pm 9/315	قد (cm)
0/310	71/940 \pm 12/211	69/650 \pm 12/569	وزن (kg)
0/204	28/100 \pm 4/705	27/020 \pm 4/441	شاخص توده‌ی بدنی (kg/m ²)
0/054	31/230 \pm 9/868	27/520 \pm 8/621	کل بافت چربی بدن (kg)
0/191	0/870 \pm 0/097	0/890 \pm 0/094	نسبت دور کمر به باسن
0/776	0/570 \pm 0/100	0/560 \pm 0/079	نسبت دور کمر به قد

جدول ۲. ضریب همبستگی Pearson بین متغیرهای مستقل با وابسته برای تمام جمعیت مورد مطالعه

مقدار P	کل بافت چربی بدن	شاخص
0/091	0/142	سن
< 0/001	-0/326	قد
< 0/001	0/602	وزن
< 0/001	0/848	شاخص توده‌ی بدنی
0/873	-0/014	نسبت دور کمر به باسن
< 0/001	0/615	نسبت دور کمر به قد
< 0/001	0/638	اندازه‌ی دور باسن
< 0/001	0/541	اندازه‌ی دور کمر

جدول ۳. نتایج حاصل از رگرسیون چندگانه با روش حذف پسر و برای گروه شاهد

مقدار P	ضریب رگرسیونی	مجموع مربعات خطا (SSE)	ضریب تعیین تعدیل شده (Adjust R ²)	کل بافت چربی بدن (kg)
< ۰/۰۰۱	-۱۱/۹۳۸	۱۵۱۶/۵۰۹	۰/۸۰۸	عرض از مبدأ
< ۰/۰۰۱	-۸/۵۱۱	-	-	جنسیت (زن = ۰ و مرد = ۱)
< ۰/۰۰۱	۱/۶۰۶	-	-	شاخص توده‌ی بدنی

SSE: Sum of squared errors

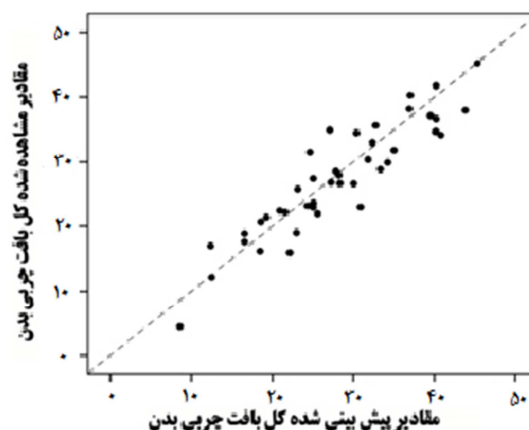
جدول ۴. مقایسه‌ی عملکرد مدل‌ها در گروه مورد

مجموع مربعات خطا (SSE)	ضریب تعیین تعدیل شده (Adjust R ²)	کل بافت چربی بدن (kg)
۹۹۹/۴۲	۰/۶۸۰	مدل ۱: شاخص توده‌ی بدنی
۲۴۳۸/۲۶	۰/۲۱۹	مدل ۲: اندازه‌ی دور باسن
۳۳۶۴/۹۴	-۰/۰۷۸	مدل ۳: اندازه‌ی دور کمر
۲۹۰۴/۳۹	۰/۰۷۰	مدل ۴: نسبت اندازه‌ی دور کمر به قد
۳۷۷۲/۱۲	-۰/۲۰۸	مدل ۵: نسبت اندازه‌ی دور کمر به باسن
۵۸۵/۲۸	۰/۸۰۸	مدل ۶: شاخص توده‌ی بدنی، جنسیت
۱۸۹۴/۷۴	۰/۳۷۸	مدل ۷: اندازه‌ی دور باسن، جنسیت
۱۸۶۵/۰۹	۰/۳۸۸	مدل ۸: اندازه‌ی دور کمر، جنسیت
۲۰۲۵/۴۳	۰/۳۳۵	مدل ۹: نسبت اندازه‌ی دور کمر به قد، جنسیت
۲۴۵۲/۹۴	۰/۱۹۵	مدل ۱۰: نسبت اندازه‌ی دور کمر به باسن، جنسیت

SSE: Sum of squared errors

روش خوب و معتبری برای تجزیه و تحلیل ترکیبات کل بدن نیز می‌باشد (۱۲). سنجش ترکیبات بدن در پیش‌بینی مرگ و میرهای قلبی-عروقی و به طور کلی مرگ و میرها مورد استفاده قرار می‌گیرد. اندازه‌گیری‌های دقیق و صحیح از ترکیبات بدن در دستیابی به درک بهتر از چگونگی سوخت و ساز فیزیولوژیکی در شرایط مختلف درمانی و در ارزیابی میزان مداخلات مفید می‌باشد (۱۳).

از محدودیت‌های روش دگزا می‌توان به ناراحتی بیمار مبنی بر تحمل وضعیت خاص حین اسکن، هزینه‌ی به نسبت بالا و دریافت اشعه‌ی یونیزان اشاره کرد. در مقایسه با این روش، ساده‌ترین و کم هزینه‌ترین راه برای بیان چاقی و اضافه وزن، استفاده



شکل ۱. نمودار پراکنش بین مقادیر پیش‌بینی شده و مشاهده شده برای کل بافت چربی برای گروه مورد

بحث

تصویربرداری به روش دگزا به طور گسترده در سنجش پوکی استخوان مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما

می‌باشند (۶)، اما در این مطالعه این شاخص‌ها توانایی ضعیفی در پیش‌بینی کل بافت چربی بدن نشان دادند.

در مطالعات گذشته، از سن به عنوان یک متغیر در معادلات پیشگوی کل بافت چربی استفاده شده است (۱۲)، اما نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سن به عنوان یک متغیر پیشگو در پیش‌بینی کل بافت چربی بدن کاربرد ندارد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که امکان تخمین کل بافت چربی بدن به روشی ساده و ارزان با استفاده از معادلات پیشگو امکان‌پذیر است و می‌تواند سبب کاهش هزینه‌های اضافی، راحتی بیشتر و کمتر قرار گرفتن بیمار در معرض تابش اشعه شود. بنابراین توصیه می‌شود بررسی‌های بیشتر جهت پیش‌بینی مقادیر کل بافت چربی بدن با استفاده از شاخص‌های تن‌سنجی، روی نمونه‌هایی از سراسر کشور اجرا شود. اگر چه همچنان بهترین روش در محاسبه‌ی کل بافت چربی بدن، استفاده از اسکن دگزا از کل بدن خواهد بود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جهت تأمین مالی این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین از مدیریت مرکز تشخیص پوکی استخوان و تعیین ترکیبات بدن اصفهان و نیز سرکار خانم منصوره اعرابی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند سپاسگزاری می‌نماییم.

از شاخص‌های تن‌سنجی است؛ چرا که استفاده‌ی گسترده از اسکن دگزا، امری غیر ممکن است. مطالعات گذشته نشان داده است که شاخص توده‌ی بدنی، بهترین شاخص نسبت به دیگر شاخص‌های تن‌سنجی برای پیش‌بینی کل بافت چربی بدن است (۱۴). در این مطالعه، معادلات جهت پیش‌بینی ترکیبات کل بدن با استفاده از مدل رگرسیون چندگانه با روش حذف پسر و تعیین شدند و بر مبنای معیارهای ضریب تعدیل شده و مجموع مربعات خطا، مورد ارزیابی قرار گرفتند.

بر اساس نتایج به دست آمده، جهت پیش‌بینی کل بافت چربی بدن، شاخص توده‌ی بدنی به همراه جنسیت به عنوان بهترین شاخص نسبت به دیگر شاخص‌های تن‌سنجی تعیین شد. با وجود سادگی تعریف و مطالعات گسترده در خصوص ارتباط شاخص توده‌ی بدنی با عوارض مربوط به چاقی، شواهدی دال بر اشتباه در دسته‌بندی خطر در برخی افراد (کودکان و ورزشکاران) موجود می‌باشد (۱۵). برای مثال شاخص توده‌ی بدنی، توانایی تشخیص تفاوت بین افزایش وزن توده‌ی عضلانی در ورزشکاران از چاقی را ندارد و همچنین چگونگی توزیع وزن اضافی را نیز نمی‌تواند بیان کند. از این رو، مطالعات بیشتری لازم است تا تأثیر شاخص توده‌ی بدنی را در پیش‌بینی کل بافت چربی در دو گروه کودکان و ورزشکاران (که از جمعیت مورد مطالعه‌ی حاضر حذف شده بودند) بررسی کند. اگر چه استفاده از شاخص‌های WHR، WC، HC و WHtR در تخمین چگونگی توزیع چربی مفید

References

1. Chen ZA, Roy K, Gotway Crawford CA. Obesity prevention: the impact of local health departments. *Health Serv Res* 2013; 48(2 Pt 1): 603-27.
2. Hodge AM, Zimmet PZ. The epidemiology of obesity. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1994; 8(3): 577-99.
3. Pongchaiyakul C, Kosulwat V, Rojroongwasinkul N, Charoenkiatkul S, Thepsuthammarat K, Laopaiboon M, et al. Prediction of percentage body fat in rural thai population using simple anthropometric measurements. *Obes Res* 2005; 13(4): 729-38.
4. Zimmet P, Caterson I. The Asia-pacific perspective: redefining obesity and its treatment. Sydney, Australia: Health Communications Australia Pty Ltd; 2000.
5. Lee CM, Huxley RR, Wildman RP, Woodward M. Indices of abdominal obesity are better discriminators of cardiovascular risk factors than BMI: a meta-analysis. *J Clin Epidemiol* 2008; 61(7): 646-53.
6. Taylor RW, Brooking L, Williams SM, Manning PJ, Sutherland WH, Coppell KJ, et al. Body mass index and waist circumference cutoffs to define obesity in indigenous New Zealanders. *Am J Clin Nutr* 2010; 92(2): 390-7.
7. Roche AF, Heymsfield SB, Lohman TG. Human body composition. Champaign, IL: Human Kinetics Publishers; 1996.
8. Goulding A, Taylor RW, Gold E, Lewis-Barned NJ. Regional body fat distribution in relation to pubertal stage: a dual-energy X-ray absorptiometry study of New Zealand girls and young women. *Am J Clin Nutr* 1996; 64(4): 546-51.
9. Taylor RW, Jones IE, Williams SM, Goulding A. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3-19 y. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(2): 490-5.
10. Boudousq V, Kotzki PO, Dinten JM, Barrau C, Robert-Coutant C, Thomas E, et al. Total dose incurred by patients and staff from BMD measurement using a new 2D digital bone densitometer. *Osteoporos Int* 2003; 14(3): 263-9.
11. Njeh CF, Fuerst T, Hans D, Blake GM, Genant HK. Radiation exposure in bone mineral density assessment. *Appl Radiat Isot* 1999; 50(1): 215-36.
12. Leslie WD. Prediction of body composition from spine and hip bone densitometry. *J Clin Densitom* 2009; 12(4): 428-33.
13. Albanese CV, Diessel E, Genant HK. Clinical applications of body composition measurements using DXA. *J Clin Densitom* 2003; 6(2): 75-85.
14. Lei SF, Liu MY, Chen XD, Deng FY, Lv JH, Jian WX, et al. Relationship of total body fatness and five anthropometric indices in Chinese aged 20-40 years: different effects of age and gender. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60(4): 511-8.
15. Litwin SE. Which measures of obesity best predict cardiovascular risk? *J Am Coll Cardiol* 2008; 52(8): 616-9.

Using Anthropometric Indices Predictive Equations for Estimating Whole-Body Fat Mass Instead of Whole Body Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Scan

Mohammad Reza Salamat PhD¹, Ahmad Shanei PhD², Mahdi Asgari MSc³, Amirhossein Salamat MSc⁴, Mehri Khoshhali MSc⁵

Original Article

Abstract

Background: This study was designed to compare the predicted whole-body fat mass via various anthropometric indices including waist circumference (WC), waist-to-height ratio (WHtR), hip circumference (HC), waist-to-hip ratio (WHR) and body mass index (BMI). Cost and radiation dose reduction are the advantages of this prediction compared to whole body dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) scan.

Methods: Whole-body composition was measured via dual-energy X-ray absorptiometry for 143 adult patients referred to Isfahan Osteoporosis Diagnosis Center, Isfahan, Iran. Values of weight, height, waist and hip circumferences were measured and body mass index, waist-hip ratio and waist-to-height ratio was calculated. Datasets were split randomly into two parts, the derivation set with 100 subjects and validation set with 43 subjects. Multiple regression analysis with back ward stepwise elimination procedure was used for derivation set and then, the estimates were compared with the actual measurements.

Findings: Using multiple linear regression analyses, the best equation for predicting whole-body fat mass ($R^2 = 0.808$) included body mass index and gender.

Conclusion: The present study showed that body mass index is the best anthropometric predictor of whole-body fat mass (adjusted $R^2 = 0.680$ and squared errors of prediction = 999.42).

Keywords: Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA), Anthropometry, Whole-body fat mass

Citation: Salamat MR, Shanei A, Asgari M, Salamat AH, Khoshali M. **Using Anthropometric Indices Predictive Equations for Estimating Whole-Body Fat Mass Instead of Whole Body Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Scan.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(292): 1046-53

1- Assistant Professor, Department of Medical Physics and Medical Engineering, School of Medicine AND Biosensor Research Center, Isfahan University of Medical Sciences AND Isfahan Osteoporosis Diagnosis and Body Composition Center, Isfahan, Iran

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

3- PhD Student, Department of Medical Physics and Medical Engineering, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Isfahan Osteoporosis Diagnosis and Body Composition Center, Isfahan, Iran

5- PhD Student, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mahdi Asgari MSc, Email: m.mahdiasgari@yahoo.com

بررسی مقایسه‌ای درمان تک دوز و چند دوز متوتروکسات در تغییرات سطح BHCG در حاملگی خارج رحمی

دکتر طراوت فاخری^۱، دکتر انیس‌الدوله نانکلی^۲، دکتر هاله شهلازاده^۳، دکتر مینا عطایی^۴

مینا نیاکان شهری^۴

مقاله کوتاه

چکیده

مقدمه: حاملگی خارج رحمی در حال حاضر شایع‌ترین علت مرگ ناشی از بارداری در سه ماهه‌ی اول حاملگی است. متوتروکسات در بیمارانی که توده‌ی خارج از رحم کوچک‌تر از ۴ cm پاره نشده دارند، مؤثر و تأیید شده است. در این بررسی، دو روش درمانی تجویز تک و چند دوز این دارو با هم مقایسه شدند.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی نیمه تجربی، ۱۲۰ زن باردار واجد شرایط که توسط معاینه‌ی کلینیکی و آزمایش خون و سونوگرافی واژینال، دارای حاملگی خارج رحمی تشخیص داده شدند، در دو گروه درمانی تک دوز و چند دوز متوتروکسات قرار گرفتند. برای گروه با درمان تک دوز، متوتروکسات یک بار تجویز شد و سطح هورمون حاملگی در ابتدا و سپس در روزهای ۴ و ۷ اندازه‌گیری شد. در گروه دوم، درمان با متوتروکسات چند دوز شروع شد و این دارو در روزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ در ۴ دوز تجویز گردید. در دو گروه بعد از یک هفته و یک ماه سطح تغییرات هورمون حاملگی بررسی شد. میزان کاهش سطح هورمون در دو گروه مقایسه و میزان شکست درمان در هر دو گروه بررسی گردید.

یافته‌ها: گروه تک دوز در ۷۶ درصد موفقیت درمانی داشتند. در صورتی که در گروه چند دوز، ۹۶/۷ درصد پاسخ درمانی مشاهده شد. پارگی لوله در گروه چند دوز (۳/۳ درصد) در مقایسه با گروه تک دوز (۱۰ درصد)، کمتر بود.

نتیجه‌گیری: روش درمانی تجویز چند دوز متوتروکسات در درمان حاملگی خارج رحمی بدون پارگی لوله مؤثرتر از روش تک دوز است. به علاوه، درمان دارویی تک دوز با پارگی لوله‌ی رحمی بیشتری همراه است.

واژگان کلیدی: حاملگی خارج رحم، متوتروکسات، درمان تک دوز، درمان چند دوز، Beta human chorionic gonadotropin

ارجاع: فاخری طراوت، نانکلی انیس‌الدوله، شهلازاده هاله، عطایی مینا، نیاکان شهری مینا. **بررسی مقایسه‌ای درمان تک دوز و چند دوز متوتروکسات در تغییرات سطح BHCG (Beta human chorionic gonadotropin) در حاملگی خارج رحمی.** مجله دانشکده

پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۲): ۱۰۶۰-۱۰۵۴

مقدمه

بروز حاملگی نابه‌جا ۲-۱/۵ درصد تمام حاملگی‌ها است، اما عوارض مربوط به آن منشأ ۱۰-۴ درصد تمام مرگ‌های مربوط به حاملگی و علت اصلی مرگ

حاملگی نابه‌جا یکی از علل مهم شیوع و بروز مرگ و میر مادری در سه ماهه‌ی اول بارداری است. میزان

- ۱- استادیار، گروه زنان و زایمان، مرکز تحقیقات بیمارستان امام رضا (ع)، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
- ۲- دانشیار، گروه زنان و زایمان، مرکز تحقیقات بیمارستان امام رضا (ع)، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
- ۳- دستیار، گروه زنان و زایمان، مرکز تحقیقات بیمارستان امام رضا (ع)، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
- ۴- پژوهشگر، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

Email: h_shahlazadeh@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر هاله شهلازاده

مادر در سه ماهه‌ی اول بارداری است (۱).

میزان بروز حاملگی نابه‌جا در سال‌های ۹۲-۱۹۷۰ به صورت چشمگیری تا حدود ۶ برابر افزایش یافت. از سال ۱۹۸۸ کمتر از ۲ درصد حاملگی‌ها از نوع نابه‌جا و عوارض آن علت اصلی مرگ و میر مادران باردار در سه ماهه‌ی اول بارداری بود. در سال ۱۹۹۲، ۱۹/۷ مورد در هر ۱۰۰۰ حاملگی نابه‌جا گزارش شد. عوامل خطر متعددی شناسایی شدند، اما نیمی از تمام زنان مبتلا به حاملگی نابه‌جا هیچ یک از عوامل خطر را ندارند (۲).

خطر حاملگی نابه‌جا در زنان دارای سابقه‌ی قبلی حاملگی نابه‌جا، در مقایسه با جمعیت عمومی ۱۰ برابر بیشتر است. خطر بازگشت بیماری حدود ۱۵ درصد می‌باشد که بازتابی از آسیب لوله‌های زمینه‌ساز است که منجر به اولین حاملگی نابه‌جا شده است و هم بر آسیب یا ترومای حاصل از درمان آن دلالت دارد. در زنان مبتلا به پاتولوژی لوله، خطر ۳ برابر افزایش می‌یابد. اکثر آسیب‌های لوله‌ای از عفونت‌های آمیزشی مانند سوزاک کلامیدیا ناشی می‌شود، سالپنژیت با آسیب مخاط اندوسالپنژ سبب چسبندگی چین‌های مخاطی و داخل مجرا می‌شود که ممکن است رویان در حال مهاجرت را به دام بیندازد و سبب لانه‌گزینی نابه‌جا شود (۳-۴).

از عوامل خطر دیگر می‌توان به تماس با دی‌اتیل استیل بسترول (DES یا Diethylstilbestrol) در دوران جنینی اشاره کرد. DES باعث اختلالات داخل لوله (کوتاه شدن چین خوردن و تنگی لوله) می‌شود. در موارد استفاده از تمام روش‌های جلوگیری از بارداری میزان بروز و خطر مطلق حاملگی نابه‌جا کاهش می‌یابد؛ اما در صورت شکست درمان، میزان

حاملگی نابه‌جا افزایش خواهد یافت؛ به طوری که یک سوم تمام حاملگی‌های بعد شکست توبکتومی از نوع لوله‌ای است که این خطر در نوع انعقاد دو قطبی بیشترین خطر را دارد. اگر حاملگی در حضور IUD (Intrauterine device) رخ بدهد، احتمال نابه‌جا بودن زیاد خواهد بود. روش‌های کتراسپتو به خصوص روش پیشگیری اورژانس در صورت شکست از درصد بالای حاملگی نابه‌جا همراه خواهد بود (۵).

در زنانی که از طریق ART (Antiretroviral therapy) حامله می‌شوند، خطر حاملگی نابه‌جا ۲ برابر افزایش می‌یابد. در زنان مصرف کننده‌ی سیگار، سن پایین اولین نزدیکی، تعدد شرکای جنسی در طول عمر و احتمال بالاتر تماس با عفونت‌های آمیزشی، سبب افزایش خفیف خطر حاملگی نابه‌جا می‌شوند. لوله‌ی فالوپ شایع‌ترین محل لانه‌گزینی نابه‌جا است و بیش از ۹۸ درصد تمام این حاملگی‌ها در این محل می‌باشد. به طور کلی، ۷۰ درصد در ناحیه‌ی آمپول، ۱۲ درصد در ایسم، ۱۱ درصد در فیمبریا و ۲ درصد در کورنه قرار دارند. حاملگی در تخمدان و سرویکس و شکم نادر است. حاملگی نابه‌جا با تریاد کلاسیک از علائم (تأخیر قاعدگی، خونریزی واژینال و درد شکم) همراه است. شک بالینی بر اساس آگاهی از عوامل خطر و علائم زود هنگام، نکته‌ی اصلی در شناسایی زنانی است که نیاز مبرم به ارزیابی دقیق و فوری دارند (۶).

تشخیص پاراکلینیک بر اساس سنجش سطح گنادوتروپین کوریون انسان (BHCG) و (Betta human chorionic gonadotropin) و

در رژیم درمانی دو دوز، متوتروکسات در روزهای ۱ و ۴ تجویز و میزان BHCG سرم روزهای ۷-۴ اندازه‌گیری می‌شود. اگر این میزان کمتر از ۱۵ درصد کاهش یافت، دوز ۳ تجویز و روز ۱۱ بررسی می‌شود. در صورت نیاز، می‌توان دوز ۴ را نیز تجویز کرد و در صورت عدم پاسخ، جراحی توصیه می‌شود.

در رژیم چند دوزی، متوتروکسات (۱ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عضلانی) یک روز در میان تا ۴ دوز تزریق می‌شود تا غلظت BHCG ۱۵ درصد و بیشتر افت کند و سطح هورمون روزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ چک می‌شود. در صورت عدم افت مناسب، جراحی توصیه می‌شود. درمان جراحی در صورت وجود ناپایداری همودینامیک، پارگی توده، وجود همزمان حاملگی داخل رحمی، شکست درمان طبی، تمایل به عقیمی اندیکاسیون پیدا می‌کند. تکنیک‌های جراحی شامل سالپنگوستومی، اکسیژون سگمنتال و آناستوموز مجدد، سالپنژکتومی، سالپنژواوفاکتومی و سالپنکتومی می‌باشد (۸).

روش‌ها

این مطالعه به صورت نیمه تجربی در بخش زنان بیمارستان امام رضا (ع) کرمانشاه به مدت یک سال (۹۲-۱۳۹۱) انجام گرفت. در این مطالعه، زنانی که با تشخیص حاملگی نابه‌جا، بستری و کاندید دریافت متوتروکسات شده بودند، انتخاب گردیدند. برای یک گروه متوتروکسات تک دوز و برای گروه دیگر، چند دوز تجویز شد. حجم نمونه با استفاده از فرمول‌های آماری محاسبه گردید و ۱۲۰ نفر (۶۰ نفر برای هر گروه) انتخاب شدند. گروه بیماران کاندید جراحی و

سونوگرافی ترانس واژینال است. سنجش پروژسترون سرم و کورتاژ رحم نیز ممکن است سودمند باشد. BHCG سرم توسط سلول‌های سنسیتو ترفوبلاست ترشح می‌شود و ۸-۱۰ روز بعد از تخمک‌گذاری در سیکل‌های طبیعی در سرم مادر قابل شناسایی است. سونوگرافی ترانس واژینال به طور تقریبی با صحت ۱۰۰ درصد در حاملگی‌های ۵/۵ هفته، حاملگی داخل رحمی را شناسایی می‌کند. درمان حاملگی نابه‌جا بر اساس درمان طبی و جراحی می‌باشد (۵).

درمان طبی رایج متوتروکسات می‌باشد؛ متوتروکسات آنتاگونیست اسید فولیک با غیر فعال کردن آنزیم دی‌هیدروفولات ردوکتاز، سبب تخلیه‌ی ذخایر در دسترس ترا هیدروفولات می‌شود و بافت‌هایی که به سرعت تکثیر می‌یابند مانند ترفوبلاست‌ها، آسیب‌پذیری خاصی در برابر این دارو دارند. درمان با متوتروکسات از سرعت افزایش میزان BHCG می‌کاهد (۲).

رژیم‌های درمانی تک دوز، دو دوز و چند دوز متوتروکسات توصیه شده است. در رژیم تک دوز، ۵۰ mg متوتروکسات به ازای هر متر مربع بدن تجویز و میزان BHCG در روزهای ۴ و ۷ اندازه‌گیری می‌شود و باید ۱۵ درصد یا بیشتر کاهش یابد؛ این پایش به طور هفتگی انجام می‌گردد. در اکثر زنان، غلظت BHCG بین روزهای ۱ و ۴ افزایش می‌یابد که طبیعی است؛ اما بعد از آن، سطح هورمون کاهش می‌یابد. به غیر از آن هر افزایش بعدی بین روزهای ۴ و ۷، اندیکاسیون تجویز دوز دوم (روز ۷) و قضاوت پاسخ کاهش سطح هورمون در روز ۱۱ می‌باشد. در صورت شکست درمان طبی، جراحی توصیه می‌شود (۷).

یک هفته و یک ماه بعد از ترخیص، بیماران پیگیری شدند و بار دیگر، سطح BHCG اندازه‌گیری شد و در هر دو گروه مقایسه گردید. بعد از اندازه‌گیری سطح هورمونی، تغییرات مشاهده شده ثبت و با هم مقایسه شد تا تأثیر هر دو نوع روش درمانی در کاهش سطح هورمونی تعیین گردد.

یافته‌ها

میزان موفقیت در طی درمان با افت قابل ملاحظه‌ای در سطح BHCG پیگیری شد. گروه تک دوز ۷۶ درصد موفقیت درمان و ۲۳ درصد شکست درمان داشت. در صورتی که در گروه چند دوز، ۹۶/۷ درصد پاسخ درمانی بر اساس افت BHCG مشاهده شد. میزان شکست درمان متوتروکسات چند دوز ۲ مورد (حدود ۳/۳ درصد) بود.

در گروه تک دوز، ۱۳ درصد افراد به علت عدم افت سطح هورمون BHCG کاندید یک دوز اضافی متوتروکسات بودند؛ یعنی حدود ۸ نفر این افراد ۲ دوز متوتروکسات حین درمان دریافت نمودند. در گروه درمانی چند دوز نیز، ۲ نفر بعد از دریافت دوز دوم دارو به علت تشدید درد شکم، افت هموگلوبین و افزایش سطح BHCG و نیز تشخیص EP راپچر (Ruptured ectopic pregnancy) تحت لاپاراتومی قرار گرفتند و ۲ نفر از دریافت کنندگان دارو بعد از اتمام دوره‌ی درمان و عدم کاهش سطح BHCG و افزایش اندازه‌ی توده، تحت لاپاراتومی قرار گرفتند. پارگی لوله در گروه چند دوز (۳/۳ درصد) در مقایسه با گروه تک دوز (۱۰ درصد)، کمتر بود؛ همچنین طی بررسی در هر

لاپاراتومی، از مطالعه کنار گذاشته شدند و گروه دیگر، کاندید درمان دارویی گردیدند که در دو زیر گروه مساوی تقسیم و کاندید دریافت تک دوز و چند دوز متوتروکسات گردیدند.

برای زنان با حاملگی خارج رحمی که کاندید درمان متوتروکسات شده بودند، چک لیست تهیه شد. در این چک لیست، وضعیت دموگرافیک زنان مراجعه کننده، اندازه‌ی توده‌ی حاملگی خارج رحم، سطح آزمایش هورمونی BHCG و سونوگرافی ترانس واژینال ثبت گردید. سعی شد زنان گروه مورد مطالعه، از نظر اندازه‌ی توده‌ی حاملگی خارج رحمی در هر دو گروه تا حد بالایی مشابه هم باشند.

به یک گروه درمان دارویی متوتروکسات تک دوز و به گروه دیگر متوتروکسات چند دوز تجویز شد (هر دو روش درمانی مورد تأیید بوده است). سطح BHCG ابتدا در هر گروه اندازه‌گیری شد. در ابتدای بستری شدن بیماران و قبل از شروع درمان، برخی آزمایش‌های بیوشیمی - خونی انجام شد. سطح آنزیم‌های کبدی، آزمایش‌های کلیوی و آزمایش‌های خونی برای هر دو گروه انجام گرفت؛ چرا که متوتروکسات داروی توکسیک است و لازم است بیمار از نظر کبدی و کلیوی مشکلی نداشته و مبتلا به بیماری‌های خونی نباشد.

بعد از شروع درمان، سطح هورمون در روزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ بعد از تزریق متوتروکسات برای بیماران تحت درمان چند دوز انجام گرفت و برای بیمارانی که درمان تک دوز دریافت نمودند، در روزهای ۷-۴ سطح هورمون BHCG سنجیده شد. هر نوع افزایش بعدی و یا کاهش کمتر از ۱۵ درصد BHCG، اندیکاسیون برای تجویز دوز دوم دارو بود.

دو گروه، سطح BHCG بعد از یک هفته افت قابل قبولی داشت.

بحث

مطالعات متعددی در مورد تأثیر درمانی متوتروکسات بر حاملگی خارج رحمی انجام گرفته است که تأثیر مثبت درمانی متوتروکسات بر توده‌ی EP (Ectopic pregnancy) را ثابت کرده است.

در مطالعه‌ای متآنالیز که بر روی ۱۰۱۰ نفر از زنان مراجعه کننده به بیمارستان اوهایو در مدت ۲ سال انجام گرفت، محققان دریافتند که هر دو نوع روش درمانی موفق بوده است؛ اما میزان موفقیت در رژیم چند دوز متوتروکسات (۹۳ درصد) در مقایسه با رژیم دو دوز (۸۸ درصد) با موفقیت بیشتری همراه بود (۹).

در بررسی مقایسه‌ای با سونوگرافی ترانس واژینال در مورد تغییر اندازه‌ی توده‌ی EP در دو گروه تحت درمان متوتروکسات تک دوز و چند دوز در حاملگی خارج رحمی در هند مشاهده شد که بعد از اتمام دوره‌ی درمان با استفاده از سونوگرافی ترانس واژینال، اندازه‌ی توده EP در هر دو گروه، کوچک‌تر و در حال جذب بوده است و هیچ گونه اثری از کیسه‌ی زرده و یا FHR (Fetal heart rate) جنین مشاهده نشده بود. همچنین از نظر آماری، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه تحت درمان مشاهده نشده بود (۱۰).

در مقایسه‌ی اثر درمانی تجویز متوتروکسات تک دوز با دو دوز در درمان حاملگی خارج رحمی یک مطالعه تجربی نشان داده شد که در گروه تک دوز در ۸۸ درصد (۴۴ نفر) و در گروه دو دوز در ۹۲ درصد (۴۶ نفر) پاسخ درمانی مشاهده شد (۴).

در بررسی متآنالیز بر روی ۲۶ مطالعه‌ی غیر تصادفی شامل ۱۳۲۴ حاملگی نابه‌جای درمان شده با متوتروکسات در آمریکا، میزان شکست در تک دوز به طور قابل توجهی بالاتر از چند دوز بود (۹).

هر دو روش درمانی کارآیی لازم در کاهش اندازه‌ی توده‌ی حاملگی خارج رحمی و کاهش میزان سطح BHCG را داشتند؛ اما در این مطالعه که در بیمارستان امام رضا (ع) کرمانشاه انجام شد، تأثیر متوتروکسات چند دوز بیشتر از تک دوز بود و درصد شکست کمتری داشت، اما با توجه به اختلاف کم نتیجه‌ی درمان در هر دو گروه، می‌توان هر دو نوع روش درمانی را استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بدین‌وسیله مراتب قدردانی خود را از مسؤولین محترم دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به ویژه کارکنان، رئیس و مدیریت بیمارستان امام رضا (ع) اعلام می‌دارند. این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی تخصصی زنان و زایمان دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می‌باشد.

References

1. Cunningham F, Leveno K, Bloom S, Hauth J, Rouse D, Spong C. Williams obstetrics. 23rd ed. New York, NY: McGraw-Hill Professional; 2008.
2. Fritz MA, Speroff L. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 7th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2010.
3. Berek JS. Novak's gynecology. 13th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2002.
4. Gervaise A, Capella-Allouc S, Audibert F, Rongieres-Bertrand C, Vincent Y, Fernandez H.

- Methotrexate for the treatment of unruptured tubal pregnancy: a prospective nonrandomized study. *JSLs* 2003; 7(3): 233-8.
5. Lipscomb GH, Givens VM, Meyer NL, Bran D. Comparison of multidose and single-dose methotrexate protocols for the treatment of ectopic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192(6): 1844-7.
 6. Dokic MD, Perisic DV. Conservative treatment of ectopic pregnancies: comparison of velocity of decrease of beta-HCG between spontaneous and methotrexate induced resorptions. *Srp Arh Celok Lek* 2004; 132(5-6): 163-6. [In Serbian].
 7. Lipscomb GH, McCord ML, Stovall TG, Huff G, Portera SG, Ling FW. Predictors of success of methotrexate treatment in women with tubal ectopic pregnancies. *N Engl J Med* 1999; 341(26): 1974-8.
 8. Barnhart KT, Gosman G, Ashby R, Sammel M. The medical management of ectopic pregnancy: a meta-analysis comparing "single dose" and "multidose" regimens. *Obstet Gynecol* 2003; 101(4): 778-84.
 9. Soliman KB, Saleh NM, Omran AA. Safety and efficacy of systemic methotrexate in the treatment of unruptured tubal pregnancy. *Saudi Med J* 2006; 27(7): 1005-10.
 10. Bixby S, Tello R, Kuligowska E. Presence of a yolk sac on transvaginal sonography is the most reliable predictor of single-dose methotrexate treatment failure in ectopic pregnancy. *J Ultrasound Med* 2005; 24(5): 591-8.

Comparison of Single-Dose and Multiple-Dose Systemic Methotrexate Regimen for Ectopic Pregnancy

Taravat Fakheri MD¹, Anisodowleh Nankali MD², Haleh Shahlazadeh MD³,
Mina Ataee MD³, Mina Neyakan Shahri MSc⁴

Short Communication

Abstract

Background: Ectopic pregnancy is a common serious problem with high morbidity percentage and possibility of maternal mortality. Methotrexate, in the patients with unruptured less-than-4-cm ectopic mass, is a proved treatment. We compared single- and multiple-dose systemic methotrexate regimen for ectopic pregnancy.

Methods: 120 women who were diagnosed to have ectopic pregnancy via clinical symptoms, ultrasound examination and beta human chorionic gonadotropin (β -hCG) levels were divided to two equal groups. The first were treated with a single dose regimen of intramuscular methotrexate (50 mg/m²) and the second, received 4 doses of 1 mg/kg of intramuscular methotrexate at the days 1, 3, 5, and 7. The serum β -hCG values were measured and compared at the initiation of treatment and 1 week and 1 month after it.

Findings: The overall success rate of methotrexate for an ectopic pregnancy was 76% in single-dose and 96.7% in multiple-dose regimens. The rupture of ectopic pregnancy mass during the treatment was less (3.3%) in multiple-dose group compared to the single-dose one (10%).

Conclusion: Multiple-dose methotrexate therapy is more effective than single-dose in ectopic pregnancy and is safer, too.

Keywords: Ectopic pregnancy, Metotroxite, Beta human chorionic gonadotropin (BHCG)

Citation: Fakheri T, Nankali A, Shahlazadeh H, Ataee M, Neyakan Shahri M. **Comparison of Single-Dose and Multiple-Dose Systemic Methotrexate Regimen for Ectopic Pregnancy.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(292): 1054-60

1- Assistant Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Emam Reza Hospital, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

2- Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Emam Reza Hospital, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

3- Resident, Department of Obstetrics and Gynecology, Emam Reza Hospital, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

4- Researcher, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Corresponding Author: Haleh Shahlazadeh MD, Email: h_shahlazadeh@yahoo.com

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

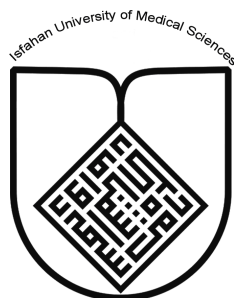
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

INSTRUCTION TO AUTHORS

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

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Mojtaba Abtahi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
3. **Mohammad Esmail Akbari** MD, Professor of Thoracic Surgery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6. **Saeid Andalib Jortani** MD, Professor of Pathology, Lewis Weil University, USA
7. **Gholam Reza Askari** MD, PhD of Nutrition, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Assistant Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Majid Berekatain** MD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
10. **Ken Bassett** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
11. **Ahmad Chitsaz** MD, Associate Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12. **Afsoon Emami** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
13. **Ali Reza Emami** MD, Associate Professor of Infectious Diseases, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
14. **Shahin Emami** Biochemistry and Endocrinology, Saint Antoine Hospital, France
15. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
16. **Faramarz Esmail beigi** MD, Professor of Internal Medicine, School of Medicine, USA
17. **Ziba Farajzadegan** MD, Associate Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
18. **Hamid Fesharaki** Associate Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Marjane Foladi** PhD of Nursing, University of Florida, USA
20. **Aziz Gahari** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
21. **Ali Gheisari** MD, Professor of Cardiovascular Surgery, California, USA
22. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. **Ali Mohammad Hanjani** MD, Professor of Cardiology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
24. **Mina Hasanrezaei** MD, NeuroImmunology, School of Pharmacy, USA
25. **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 Razmjou** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. **Mohammad Reza Safavi** MD, Assistant Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
42. **Reza Rouzbahani** MD, MPH, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
43. **Mansour Sholevar** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
44. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 292, 1st week, September 2014

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:

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

Telefax: +98 311 7922291

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

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

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

Telefax: +98 311 6686302

E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

Circulation: 500

This journal is indexed in the following international 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.