دارای رتبه علمی-پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

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

هفته‌نامه

سال سی و دوم/ شماره ۲۸۲/ هفته سوم خرداد ۱۳۹۳

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

Weekly Vol. 32, No. 282, 3rd Week, June 2014

مقاله‌های پژوهشی

رابطه‌ی سطح سرمی منیزیم مادر با کم وزنی نوزاد زمان تولد: یک مطالعه‌ی مورد- شاهد.....۵۰۷
حمید صالحی‌نیا، لیلا محمدخانی شهری، سمانه ثابت بیرجندی

بررسی ارتباط بیان ژن PTEN با شاخص‌های پاتولوژی در بیماران مبتلا به سرطان پستان با روش ایمونوهیستوشیمی ۵۱۴
دکتر رحیم گل‌محمدی، دکتر محمد شفیع مجددی، دکتر اکبر پژهان، دکتر مهدی نیکبخت دستجردی

مقایسه‌ی اثر ۸ هفته تمرین هوازی و تمرین مقاومتی بر نیم‌رخ چربی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲.....۵۲۴
امین اعتمادی بروجنی، دکتر مهدی کارگر فرد، دکتر حسین مجتهدی، دکتر رضا روزبهانی، حسین دست بر حق

جداسازی پلاسماسل از خون محیطی و هم‌کشتی با سلول استرومای مغز استخوان به منظور کشت طولانی مدت ۵۳۴
معصومه بزاز، دکتر جلیل فلاح مهرآبادی، دکتر مهدی مهدوی، دکتر مهدی زین‌الدینی

گزارش مورد

گزارش یک مورد کیست آدنوکارسینوم پاپیلری پانکراس.....۵۴۴
بیتا شهابززادگان، دکتر ایرج فیضی، دکتر مهدی صمدزاده، دکتر یوسف شفائی

Original Articles

The Relationship of Maternal Serum Magnesium Levels and the Incidence of Low-Birth-Weight Infants: A Case-Control Study.....513
Hamid Salehiniya MSc, Leila Mohamadkhani-Shahri MSc, Samaneh Sabet-Birjandi MSc

Immunohistochemical Evaluation of the Relationship of PTEN Gene Expression and Pathological Parameters in Patients with Breast Cancer.....523
Rahim Golmohammadi PhD, Mohammad-Shafi Mojadadi PhD, Akbar Pejhan PhD, Mehadi Nikbakht-Dastjerdi PhD

Comparison of the Effects of 8-Weeks Aerobic Training and Resistance Training on Lipid Profile in Patients with Diabetes Type 2.....533
Amin Eatemady-Boroujeni MSc, Mehdi Kargarfard PhD, Hosein Mojtahedi PhD, Reza Rouzbehani MD, Hosein Dastbarhagh MSc

Isolation of Peripheral Blood Plasma Cells and Co-Culture with Bone Marrow Stromal Cells in Order to Long-Term Culture.....543
Masoumeh Bazzaz MSc, Jalil Fallah-Mehrabadi PhD, Mahdi Mahdavi PhD, Mahdi Zeinoddini PhD

Case Report

A Case Report of Mucinous Cystic Neoplasm.....549
Bita Shahbazzadegan MSc, Iraj Feizi MD, Mehdi Samadzadeh MD, Yousef Shafaiee MD

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۲۸۲)، هفته سوم خرداد ۱۳۹۳

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

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

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

f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

۵- دست نوشته باید شامل صفحه عنوان، چکیده، مقدمه ، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع باشد.
صفحه عنوان: این صفحه بایدشامل عنوان کامل،عنوان مکرری، اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان و همچنین آدرس، تلفن، فاکس و پست الکترونیکی نویسنده مسؤول باشد. ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی در این صفحه ضروری است.

۶- **چکیده:** تمام مقالات اصلی باید دارای چکیده مقاله به دو زبان فارسی و انگلیسی با حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد. چکیده باید شامل بخش‌های سابقه علمی موضوع، روش‌ها، یافته‌ها و بحث باشد. در پایان چکیده مقاله ۵-۳ کلمه کلیدی قرار می‌گیرد که تنها با استفاده از راهنمای MESH در آدرس (http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html) استخراج گردند.

۷- **مقدمه و معرفی:** در این بخش اهداف و علل انجام مطالعه آورده می‌شود؛ بنابراین نیازی به ارائه گسترده مطالب موجود در متون علمی نیست. در این بخش باید از ارائه اطلاعات، یافته‌های و نتایج مطالعه خودداری گردد.

۸- **روش‌ها:** این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط منبع آن ذکر گردد اما اگر روشی نوین است، باید به صورتی توضیح داده شود که برای سایر محققان قابل درک و به طور عینی قابل انجام و تکرار باشد. در صورت استفاده از دستگاه و تجهیزات خاص باید نام، نام کارخانه سازنده و آدرس آن در پرانتز ذکر گردد. اگر از دارو در مطالعه استفاده شده است باید نام ژنریک، دوز و روش مصرف آن آورده شود. در مورد افراد و بیماران تحت مطالعه باید جنس و سن (همراه انحراف معیار) آورده شود. در مورد نرم‌افزارها و سیستم‌های کامپیوتری باید سال و ویرایش آن در پرانتز و پس از نام آن ذکر گردد. در صورتی که مطالعه دارای پرسش‌نامه یا چک لیست است، ضمیمه کردن آن لازم است؛ در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

۹- **یافته‌ها:** این بخش به صورت متن همراه با جدول‌ها، شکل‌ها و نمودارها ارائه می‌گردد. محتوای جداول نباید به صورت کامل در متن ارائه شوند، بلکه کافی است با ذکر شماره جدول، شکل و یا نمودار به آنها اشاره شود. جدول‌ها، نمودارها و شکل‌ها هر کدام باید در یک صفحه جداگانه و پس از منابع، در پایان دست‌نوشته آورده شوند. در این بخش فقط یافته‌ها ارائه می‌شود و باید از ذکر دلایل و استدلال‌های مرتبط با آن خودداری گردد.

۱۰- **بحث:** در این بخش در ابتدا به یافته‌های مهم اساسی مطالعه و سپس تشابه و تفاوت‌های آن با یافته‌های سایر پژوهشگران در مطالعات مشابه اشاره می‌گردد. ذکر جزئیات کامل یافته‌ها در این بخش لازم نیست. تأکید بر یافته‌های جدید و با اهمیت مطالعه حاضر و دستاوردهای آن در این قسمت ضروری است. ذکر این که فرضیه ارائه شده در مطالعه صحیح یا نادرست بوده، یا این که دلایل کافی برای رد یا قبول آن به دست نیامده است، ضروری می‌باشد. هدف این بخش، ذکر دلیل اصلی انجام تحقیق، تحلیل و تفسیر یافته‌ها و همچنین نتیجه‌گیری کلی (Conclusion) است.

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

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

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

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

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

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

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

۱۹- **ملاحظات اخلاقی:** این ملاحظات باید در بخش روش‌ها اشاره گردند. اخذ رضایت‌نامه از کلیه‌ی افراد بالغ شرکت کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأیید کننده‌ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.

۲۰- **تداخل منافع (Conflict of Interest):** نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق‌الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه‌ها، سازمان‌ها، نهادها، شرکت‌ها و سایر منابع که انتشار یافته‌های مطالعه می‌تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.

۲۱- **هزینه چاپ:** هیچ گونه هزینه‌ای برای چاپ مقالات در این مجله دریافت نمی‌شود.

۲۲- **حق نسخه‌برداری (Copyright):** تمامی محتویات مجله دانشکده پزشکی اصفهان تحت قانون حق نسخه‌برداری بین‌المللی قرار دارد. این مجله برای استفاده غیر تجاری در اختیار افراد قرار می‌گیرد. اصلاح، انتشار، انتقال و نمایش هر گونه محتویات مجله بدون ذکر نام این مجله ممنوع است.

۲۳- **فرآیند مرور دقیق (Peer Review):** تمام دست‌نوشته‌ها توسط حداقل ۳ نفر از داوران منتخب شورای نویسندگان مجله مورد بررسی دقیق قرار می‌گیرد. نویسنده‌ی مسؤول در کوتاه‌ترین زمان در جریان تصمیم سردبیر در مورد رد، قبول یا اصلاحات مورد نظر داوران و هیأت تحریریه قرار خواهد گرفت. در صورت پذیرش مقاله برای چاپ، نامه پذیرش به همراه ایمیل برای نویسنده‌ی مسؤول ارسال می‌شود و مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت.

۲۴- هیأت تحریریه در رد، اصلاح، ویرایش و خلاصه کردن مقاله آزاد است.

۲۵- مسؤولیت صحت یا سقم مطالب ارائه شده در مقاله بر عهده‌ی نویسنده یا نویسندگان است.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

رابطه‌ی سطح سرمی منیزیم مادر با کم وزنی نوزاد زمان تولد: یک مطالعه‌ی مورد- شاهد..... ۵۰۷

حمید صالحی‌نیا، لیلا محمدخانی شهری، سمانه ثابت بیرجندی

بررسی ارتباط بیان ژن PTEN با شاخص‌های پاتولوژی در بیماران مبتلا به سرطان پستان با روش ایمونوهیستوشیمی..... ۵۱۴

دکتر رحیم گل‌محمدی، دکتر محمد شفیع مجددی، دکتر اکبر پژهان، دکتر مهدی نیکبخت دستجردی

مقایسه‌ی اثر ۸ هفته تمرین هوازی و تمرین مقاومتی بر نیم‌رخ چربی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲..... ۵۲۴

امین اعتمادی بروجنی، دکتر مهدی کارگر فرد، دکتر حسین مجتهدی، دکتر رضا روزبهانی، حسین دست بر حق

جداسازی پلاسماسل از خون محیطی و هم‌کشتی با سلول استرومای مغز استخوان به منظور کشت طولانی مدت..... ۵۳۴

معصومه بزاز، دکتر جلیل فلاح مهرآبادی، دکتر مهدی مهدوی، دکتر مهدی زین‌الدینی

گزارش مورد

گزارش یک مورد کیست آدنوکارسینوم پاپیلری پانکراس..... ۵۴۴

بیتا شهباززادگان، دکتر ایرج فیضی، دکتر مهدی صمدزاده، دکتر یوسف شفائی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۸۲/هفته سوم خرداد ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱/۳۱

رابطه‌ی سطح سرمی منیزیم مادر با کم وزنی نوزاد زمان تولد: یک مطالعه‌ی مورد– شاهد

حمید صالحی‌نیا[۱]، لیلا محمدخانی شهری[۲]، سمانه ثابت بیرجندی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کم وزنی نوزاد از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی به خصوص در کشورهای در حال توسعه می‌باشد که با عوارض زیادی همراه است. منیزیم یک عنصر ضروری برای بسیاری از آنزیم‌ها است و در دهه‌های اخیر، بسیار مورد توجه قرار گرفته است و می‌تواند باعث کاهش زایمان زودرس و تولد نوزاد نارس و کم وزن گردد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی رابطه‌ی بین سطح سرمی منیزیم مادر با کم وزنی نوزاد زمان تولد صورت گرفته است.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مورد– شاهد، ۲۱ نوزاد کم وزن (مورد) و ۳۹ نوزاد با وزن طبیعی (شاهد) مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات توسط معاینه‌ی بالینی کودک، مصاحبه با مادر و انجام آزمایش‌های خون مادر جمع‌آوری گردید. برای اندازه‌گیری منیزیم سرمی مادر، از روش اسپکتروفوتومتری جذب اتمی استفاده گردید. داده‌ها پس از جمع‌آوری، وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۸ گردید و با استفاده از آزمون‌های آماری t مستقل و χ^2 تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: میانگین سطح منیزیم سرم در مادران گروه مورد (۰/۰۷ ± ۲/۲۴ میلی‌گرم) به صورت معنی‌داری کمتر از مادران گروه شاهد (۰/۰۹ ± ۲/۶۱ میلی‌گرم) بود (P = ۰/۰۰۱). سطح پایین منیزیم سرم مادر عامل خطر تولد نوزاد کم وزن شناخته شد.

نتیجه‌گیری: سطح سرم منیزیم مادر یک پیش‌گویی کننده و عامل خطر برای تولد نوزاد کم وزن می‌باشد. از این رو، برای کاهش بروز تولد نوزاد کم وزن به عنوان یکی از مهم‌ترین علل مرگ نوزادان، می‌توان با استفاده از تجویز خوراکی‌های حاوی منیزیم و مشاوره‌ی تغذیه‌ای اقدام نمود.

واژگان کلیدی: کم وزنی، منیزیم، نوزاد، مورد– شاهد

ارجاع: صالحی نیا حمید، محمدخانی شهری لیلا، ثابت بیرجندی سمانه. **رابطه‌ی سطح سرمی منیزیم مادر با کم وزنی نوزاد زمان تولد: یک مطالعه‌ی مورد– شاهد.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۲): ۵۱۳–۵۰۷

مقدمه

نوزادان یکی از آسیب پذیرترین گروه‌های اجتماعی می‌باشند که میزان مرگ و میر آن‌ها به عنوان شاخص توسعه به شمار می‌آید و یک نشانگر از وضعیت سلامت جامعه و خانواده است (۲–۱). کم وزنی نوزاد در هنگام تولد، یک مشکل عمده‌ی بهداشتی در جهان –به ویژه کشورهای با درآمد متوسط و پایین (۱)– می‌باشد و مهم‌ترین علت مرگ و میر نوزادان است(۲). نوزاد کم وزن به نوزادی اطلاق می‌شود که موقع تولد وزن کمتر از ۲۵۰۰ گرم داشته باشد (۳).

با وجود اقدامات انجام شده در این زمینه، شیوع کم وزنی هنگام تولد در سطح بالایی قرار دارد؛ به

۱- دانشجوی دکتری، گروه اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- مربی، گروه مامایی، دانشکده‌ی پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران
۳- مربی، گروه مامایی، دانشکده‌ی پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بیرجند، بیرجند، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: سمانه ثابت بیرجندی
Email: smnsabet@gmail.com

طوری که در سال ۲۰۰۳ میلادی، ۷/۹ درصد نوزادان متولد شده در آمریکا LBW (Low birth weight) بودند (۲). بر طبق آمارهای سازمان بهداشت جهانی، ۹۵ درصد تولد نوزادان کم وزن در کشورهای در حال توسعه اتفاق می‌افتد؛ به طوری که این سازمان تا سال ۲۰۰۴ شیوع کم وزنی را در کشورهای توسعه یافته ۶ درصد، در کشورهای در حال توسعه ۱۸ درصد، در کل جهان ۱۷ درصد و در ایران ۱۰ درصد گزارش نموده است (۴). شیوع کم وزنی هنگام تولد در کشورهای در حال توسعه در سطح بالایی قرار دارد، به عنوان مثال این رقم در زیمبابوه، به ۱۹/۹ درصد می‌رسد (۵).

در ایران نیز کم وزنی تولد در سطح بالایی قرار دارد که با افزایش مرگ و میر نوزادی همراه می‌باشد (۸-۶)؛ به طوری که در ایران دو سوم مرگ و میر نوزادان در ۲۴ ساعت اول پس از تولد در نوزادان کم وزن اتفاق می‌افتد و طی دو دهه‌ی گذشته، میزان تولد نوزاد کم وزن افزایش یافته است (۹).

از آن جهت که کم وزنی در هنگام تولد منجر به مرگ و میر، معلولیت و بیماری‌هایی در دوران کودکی می‌شود، شناخت عوامل مؤثر بر کم وزنی و بر طرف کردن این عوامل بسیار حایز اهمیت است (۱۰). شاخص‌های بیوشیمیایی جدید (فیبرونکتین، استریول، آلفا فیتوپروتئین) و کمبود بعضی از مواد معدنی از جمله منیزیم ممکن است در بروز زایمان زودرس دخالت داشته باشند و با افزایش تولد نوزاد کم وزن همراه شود (۱۱).

منیزیم کوفاکتور بیش از ۳۰۰ آنزیم می‌باشد (۱۳-۱۲)؛ از این رو یک عنصر ضروری برای انجام فعالیت‌های سلولی است که وجود آن برای بسیاری از آنزیم‌ها و فعالیت‌های متابولیک ضروری می‌باشد (۱۶-۱۴). اهمیت کلینیکی و بالینی آن به عنوان یک کاتیون داخل سلولی در چند دهه‌ی اخیر، بسیار مورد توجه قرار گرفته است و کمبود آن می‌تواند منجر به بیماری‌های زیادی گردد (۱۷)، همچنین منیزیم در متابولیسم نقش عمده دارد. در نتیجه، می‌تواند بر تقسیم سلولی و رشد و نمو تأثیرگذار باشد (۱۹-۱۸).

از طرفی، منیزیم در هنگام حاملگی می‌تواند باعث تحریک عضلات رحم شود و نیاز به مصرف منیزیم طی حاملگی افزایش می‌یابد، اما مادر به طور معمول منبع منیزیم اضافی در مقایسه با قبل از حاملگی دریافت نمی‌کند؛ در نتیجه، منیزیم مادر در سطح پایین قرار می‌گیرد که زمینه‌ساز بروز زایمان زودرس و تولد نوزاد نارس و کم وزن می‌باشد (۲۱-۲۰). از این رو، سطح سرمی منیزیم می‌تواند بر وزن هنگام تولد نوزاد مؤثر باشد. از آن جایی که با شناخت عوامل خطر کم وزنی می‌توان از بروز آن جلوگیری نمود و عمده‌ی مطالعات عوامل خطر زیست محیطی، اجتماعی و اقتصادی را مورد بررسی قرار دادند و مطالعاتی که عوامل بیوشیمیایی را بررسی کرده‌اند نیز بر عناصر شیمیایی غیر از منیزیم تأکید داشته‌اند، و اهمیت نقش منیزیم مادر در رشد و نمو جنین، این مطالعه با هدف بررسی رابطه‌ی سطح سرمی منیزیم مادر با وزن هنگام تولد نوزاد صورت گرفت.

روش‌ها

این مطالعه‌ی مورد- شاهد در سال ۱۳۹۱ بر روی نوزادان متولد شده در بیمارستان ولی عصر بیرجند انجام گرفت. در این بررسی، ۷۰ نوزاد تازه متولد شده وارد مطالعه شدند که از این تعداد، ۲۱ نوزاد کم

وزن به عنوان گروه مورد و ۳۹ نوزاد با وزن طبیعی به عنوان گروه شاهد با یکدیگر مقایسه شدند. برای ورود به مطالعه به مادر توضیحاتی داده شد و در صورت موافقت وی، کودک وی وارد مطالعه شد و پس از موافقت و دریافت فرم رضایت‌نامه‌ی کتبی از وی، داده‌ها به روش مصاحبه‌ی حضوری از مادر و معاینه‌ی بالینی کودک و مادر و انجام آزمایش‌های خون مادر صورت گرفت.

تعریف کم وزنی به صورت وزن کمتر از ۲۵۰۰ گرم در موقع تولد در نظر گرفته شد. پس از تکمیل پرسش‌نامه، از هر مادر به میزان ۵ سی‌سی خون ورید محیطی گرفته شد. نمونه‌های خون گرفته شده بلافاصله جهت تعیین غلظت منیزیم به آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی بیرجند ارسال گردید. در آزمایشگاه، نمونه‌ی خون کامل با دور ۳۰۰۰ PPM به مدت ۱۵دقیقه سانتریفیوژ و سرم حامله به دقت داخل میکروتیوب درب دار جمع‌آوری گردید و تا انجام آنالیز در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. آنالیز سرم به روش اسپکتروفوتومتری جذب اتمی با استفاده از مدل AA-۲۲۰SPECTER شرکت واریان انجام شد.

برای اندازه‌گیری وزن کودکان از ترازوی Baby digital body scale که قبل از سنجش وزن کودک کالیبره می‌شد، استفاده گردید. در این مطالعه متغیرهای زمینه‌ای و دموگرافیک از قبیل سن، تحصیلات، شغل، قد، وزن، فشار خون مادر و سایر عوامل احتمالی تأثیرگذار بر وزن نوزاد در هنگام تولد همسان‌سازی شدند. داده‌ها پس از جمع‌آوری وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۸ (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) گردید و با استفاده از آزمون‌های آماری t مستقل و χ^2 نسبت به آنالیز در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ اقدام گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۲۱ نوزاد با وزن کمتر از ۲۵۰۰ گرم به عنوان گروه مورد و تعداد ۳۹ نوزاد با وزن بالاتر از ۲۵۰۰ گرم به عنوان گروه شاهد وارد مطالعه گردیدند. کمترین وزن نوزاد متولد شده ۱۱۴۰ گرم و بیشترین وزن نوزاد متولد شده ۴۱۱۰ گرم بود. میانگین سنی مادران مورد مطالعه ۵/۳ ± ۲۸/۶ سال و کمترین سن زایمان ۱۸ سال و بالاترین سن زایمان ۴۰ سال بود. به لحاظ سطح سواد، ۳۶/۲ درصد افراد تحت بررسی فقط سواد خواندن و نوشتن، ۲۱/۷ درصد تحصیلات دیپلم، ۱۸/۸ درصد سیکل و ۱۴/۵ درصد لیسانس داشتند. از نظر شغل ۸۲/۶ درصد خانه‌دار، ۷/۲ درصد دارای شغل آزاد و به همین میزان کارمند بودند (۲ درصد بدون پاسخ).

از بین افراد تحت بررسی، هیچ کدام سابقه‌ی دیابت قبل از بارداری نداشتند؛ اما در طول بارداری ۲/۹ درصد افراد تحت مطالعه دچار بیماری دیابت شده بودند. ۳۴/۸ درصد مادران گرفتگی عضلانی در طول دوران بارداری را تجربه کرده بودند. ۶۰/۳ درصد تجربه‌ی گرفتگی عضلانی در طول بارداری را ذکر نکردند و داده‌های ۴/۳ درصد افراد در این مورد وجود نداشت. مادران دو گروه مورد و شاهد در این مطالعه به لحاظ عوامل زمینه‌ای همسان شده بودند. جدول ۱ مقایسه‌ی مادران دو گروه مورد و شاهد را نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری از نظر متغیرهای زمینه‌ای نداشتند و تنها سن حاملگی در دو گروه متفاوت بود.

جدول ۱. مقایسه‌ی عوامل زمینه‌ای و دموگرافیکی مادران در دو گروه مورد و شاهد

متغیر	گروه مورد		گروه شاهد		مقدار P
	تعداد	میانگین ± انحراف معیار	تعداد	میانگین ± انحراف معیار	
قد مادر (cm)	۲۰	۱۵۷/۲۵۰ ± ۱/۴۶۳	۳۲	۱۵۶/۱۷۲ ± ۰/۸۹۸	۰/۵۰۰
وزن مادر (kg)	۲۰	۶۷/۷۵۰ ± ۲/۰۹۵	۳۲	۶۸/۹۰۶ ± ۲/۴۲۵	۰/۷۴۰
درآمد (Rial)	۱۰	۳۵۸۰۰۰/۰۰۰ ± ۵۷۱۳۱/۴۲۷	۱۷	۳۵۰۵۸۸/۲۴۰ ± ۴۰۱۶۹/۴۰۸	۰/۹۱۰
نوبت بارداری (Gravada)	۲۱	۲/۲۴۰ ± ۰/۲۵۷	۳۹	۲/۱۸۰ ± ۰/۱۹۰	۰/۸۵۰
نوبت وضع حمل (Parity)	۱۳	۱/۶۹۰ ± ۰/۲۰۸	۲۵	۱/۵۶۰ ± ۰/۱۴۲	۰/۹۱۰
سن حاملگی (Week)	۲۰	۳۵/۲۵۰ ± ۱/۰۹۸	۳۲	۳۸/۳۱۰ ± ۰/۴۳۲	۰/۰۰۴
سن مادر (Year)	۲۰	۲۷/۸۰۰ ± ۱/۰۳۳	۳۸	۲۸/۳۷۰ ± ۰/۹۳۶	۰/۷۰۰

در این مطالعه، بین تولد نوزاد زنده‌ی کم وزن و سطح سرمی منیزیم مادر، رابطه‌ی معنی‌دار آماری مشاهده گردید؛ به طوری که میانگین ± انحراف معیار سرمی منیزیم در مادران نوزادان با وزن کمتر از ۲۵۰۰ گرم برابر ۰/۰۷ ± ۲/۲۴ میلی‌گرم و در مادران نوزادان با وزن طبیعی برابر ۰/۰۶ ± ۲/۶۱ میلی‌گرم بود (P = ۰/۰۰۱).

بحث

مطالعات زیاد با هدف بررسی رابطه‌ی ریز مغذی‌ها با وزن هنگام تولد نوزادان در جهان صورت گرفته است. یکی از مهم‌ترین ریز مغذی‌ها در دوران حاملگی، منیزیم می‌باشد. در این مطالعه پس از همسان‌سازی گروه مورد و شاهد، بین سطح سرمی منیزیم مادر و تولد نوزاد کم وزن رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده گردید؛ به طوری که مادران نوزادان کم وزن، سطح سرمی منیزیم پایین‌تری نسبت به گروه شاهد داشتند، که با نتایج مطالعات دیگر همخوانی دارد (۲۵-۲۲). همچنین غلظت کم منیزیم مادر طی دوران حاملگی، می‌تواند باعث افزایش خطر تولد نوزاد کم وزن و افزایش مرگ و میر نوزادی شود (۲۵).

در مطالعات دیگر، رابطه‌ی معنی‌داری بین منیزیم موجود در جفت با وزن نوزاد هنگام تولد مشاهده نگردید که این تفاوت، می‌تواند ناشی از حجم نمونه‌ی پایین مورد بررسی در مطالعات مشابه و یا وجود عوامل مخدوشگر باشد؛ چرا که در همان مطالعات پیشنهاد شده است که مطالعات مشابهی بر روی افراد بیشتر انجام گیرد تا نتایج قابلیت تعمیم بیشتری داشته باشند (۲۷-۲۶).

در بررسی حاضر، دو گروه از نظر متغیرهای زمینه‌ای همسان شده بودند. در پژوهشی مشاهده شد که در مادرانی با غلظت منیزیم سرمی بالا، سن حاملگی افزایش می‌یابد و می‌تواند باعث تأخیر در زایمان گردد (۲۸). تأخیر در زمان زایمان می‌تواند منجر به کاهش تولد نوزاد کم وزن شود (۲۸)؛ چرا که تولد نوزاد نارس از عوامل خطر کم وزنی نوزاد می‌باشد. از این رو، تجویز منیزیم و یا استفاده از مواد حاوی منیزیم در طول دوران حاملگی در مادر، می‌تواند منجر به کاهش تولد نوزاد نارس و در نتیجه کم وزنی شود (۲۸)؛ به طوری که مصرف ماهی به عنوان یک ماده‌ی غذایی حاوی منیزیم بالا، در مطالعات به عنوان یک عامل مهم برای جلوگیری از

زایمان زودرس و وزن کم هنگام تولد شناخته شده است (۳۰-۲۹).

در این مطالعه، سطوح پایین‌تر سرمی منیزیم مادر با افزایش تولد نوزاد با وزن کم همراه بود. از آن جایی که نوع مطالعه مورد- شاهدی بود و عوامل مخدوش کننده تا حد امکان کنترل شده بودند، به نظر می‌رسد این دو با هم رابطه دارند و به عنوان یک فرضیه مطرح می‌باشد و برای تأیید بیشتر این رابطه، مطالعات بیشتری لازم است؛ اما می‌توان مواد غذایی حاوی منیزیم را به مادر باردار در طول دوران حاملگی به خصوص به مادران با سابقه‌ی تولد نوزاد کم وزن پیشنهاد کرد.

در این بررسی حجم نمونه‌ی مورد بررسی نسبت به سایر مطالعات، بیشتر بود؛ اما برای تأیید بیشتر انجام مطالعات مشابه با حجم نمونه‌ی بیشتر و مطالعات مداخله‌ای پیشنهاد می‌شود. همچنین وزن مادر قبل از مطالعه و وزن وی حین حاملگی مورد بررسی و مقایسه قرار نگرفت. از این رو لازم است در مطالعات آتی این مورد مد نظر قرار گیرد

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از کلیه‌ی مادرانی که در انجام تحقیق همکاری نمودند، تشکر می‌نمایند. همچنین از جناب آقای احمد خسروی دانشجوی دکترای اپیدمیولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت مشاوره در آنالیز داده‌ها، تشکر ویژه به عمل می‌آید.

References

1. Paneth N, Hong T, Korzeniewski S. The descriptive epidemiology of cerebral palsy. Clin Perinatol 2006; 33(2): 251-67.
2. Kliegman R, Nelson WE. Nelson textbook of pediatrics. 18th ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders; 2007.
3. Center for Disease Control and Perventation (CDC). VitalSat [Online]. [cited 2010]; Available from: URL: http://www.cdc.gov/nchs/VitalStats.htm
4. Adleshoar M. The predictive factors of underweight neonates in mothers that Reffered to Hospital in Rasht [Thesis]. Rasht, Iran: Shahid Beheshti School of Nursing and Midwifery, Rasht University of Medical Sciences; 2006. [In Persian].
5. Feresu SA, Harlow SD, Welch K, Gillespie BW. Incidence of and socio-demographic risk factors for stillbirth, preterm birth and low birthweight among Zimbabwean women. Paediatr Perinat Epidemiol 2004; 18(2): 154-63.
6. Khalilian AR, Hamta A, Farhadi R, Ranjbaran H. Investigation factors of low birth weight infants with structural equation model approach. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 21(86): 108-14. [In Persain].
7. Hosseini SZ, Bahadori MH, Fallah Bagher Shaidaei H. Incidence of low birth weight and associated risk factors during March 2002-2003 in Tonekabon, Iran. J Mazandaran Univ Med Sci 2005; 15(49): 110-3. [In Persain].
8. Khoori E, Vakili MA, Golalipour MJ. Low birth Weight and some factors affect it in newborns (Gorgan 1996). J Gorgan Univ Med Sci 1999; 3(46): 53. [In Persain].
9. Golestan M, Fallah R, Akhavan Karbasi S. Neonatal mortality of low birth weight infants in Yazd, Iran. Iran J Reprod Med 2008; 6(4): 205-8.
10. Alexander GR, Wingate MS, Mor J, Boulet S. Birth outcomes of Asian-Indian-Americans. Int J Gynaecol Obstet 2007; 97(3): 215-20.
11. Hantoushzadeh S, Jafarabadi M, Khazardoust S. Serum magnesium levels, muscle cramps, and preterm labor. Int J Gynaecol Obstet 2007; 98(2): 153-4.
12. Mittendorf R, Pryde PG, Elin RJ, Gianopoulos JG, Lee KS. Relationship between hypermagnesaemia in preterm labour and adverse health outcomes in babies. Magnes Res 2002; 15(3-4): 253-61.
13. Stalnikowicz R. The significance of routine serum magnesium determination in the ED. Am J Emerg Med 2003; 21(5): 444-7.
14. Bhat MA, Charoo BA, Bhat JI, Ahmad SM, Ali SW, Mufti MU. Magnesium sulfate in severe perinatal asphyxia: a randomized, placebo-

controlled trial. Pediatrics 2009; 123(5): e764-e769.
15. Khashaba MT, Shouman BO, Shaltout AA, Al-Marsafawy HM, Abdel-Aziz MM, Patel K, et al. Excitatory amino acids and magnesium sulfate in neonatal asphyxia. Brain Dev 2006; 28(6): 375-9.
16. Kim SY, El-Dib M, Ahmad T, Aly H. Baseline serum magnesium concentrations and neurodevelopmental outcomes of extremely low birth weight premature infants. Early Hum Dev 2013; 89(4): 239-42.
17. Fox C, Ramsoomair D, Carter C. Magnesium: its proven and potential clinical significance. South Med J 2001; 94(12): 1195-201.
18. Brilla LR, Haley TF. Effect of magnesium supplementation on strength training in humans. J Am Coll Nutr 1992; 11(3): 326-9.
19. Farshidfar G, Soltani N, Kamaran M, Keshavarz M. Effect of magnesium on prevention of diabetic vessel complication (review article). Hormozgan Med J 2013; 17(1): 83-93. [In Persian].
20. Grybos M, Krzemieniewska J, Stacherzak-Pawlik J, Wilczynski A, Wozniak M, Majsnerowicz M, et al. Total and ionized magnesium concentration in the blood plasma and erythrocytic magnesium concentration of women in the third trimester of pregnancy with imminent preterm labor. Ginekol Pol 2005; 76(8): 625-31.
21. Lurie S, Gur D, Sadan O, Glezerman M. Relationship between uterine contractions and serum magnesium levels in patients treated for threatened preterm labour with intravenous magnesium sulphate. J Obstet Gynaecol 2004; 24(3): 247-8.
22. Speich M, Bousquet B, Auget JL, Gelot S, Laborde O. Association between magnesium, calcium, phosphorus, copper, and zinc in umbilical cord plasma and erythrocytes, and the gestational age and growth variables of full-term newborns. Clin Chem 1992; 38(1): 141-3.
23. Elizabeth KE, Krishnan V, Zachariah P. Auxologic, biochemical and clinical (ABC) profile of low birth weight babies- a 2-year prospective study. J Trop Pediatr 2007; 53(6): 374-82.
24. Baig S, Hasnain NU, Ud-din Q. Studies on Zn, Cu, Mg, Ca and phosphorus in maternal and cord blood. J Pak Med Assoc 2003; 53(9): 417-22.
25. Schulpis KH, Karakonstantakis T, Vlachos GD, Gavrili S, Mentis AF, Lazaropoulou C, et al. The effect of nutritional habits on maternal-neonatal zinc and magnesium levels in Greeks and Albanians. E Spen Eur E J Clin Nutr Metab 2009; 4(4): e176-e180.
26. Mbofung CMF, Subbarau VV. Trace element (Zinc, copper, iron and magnesium) concentrations in human placenta and their relationship to birth weight of babies. Nutr Res 1990; 10(4): 359-66.
27. Moghadam Banaem L, Seddighi Looye E, Kazemnejad A, Afshar A. Maternal and umbilical cord blood serum levels of zinc, copper, magnesium, iron and calcium and their relationships with low birth weight. Modares J Med Sci Pathol 2010; 13(2): 43-50. [In Persian].
28. Taghizadeh Z, Ajh N, Mehran A. The relationship between seafood intake in early pregnancy and prevalence of preterm labor. Hayat 2007; 13(1): 55-61 [In Persian].
29. Olsen SF, Secher NJ. Low consumption of seafood in early pregnancy as a risk factor for preterm delivery: prospective cohort study. BMJ 2002; 324(7335): 447.
30. Valizadeh Hassanlouei MA, Hassani E, Rahimi Rad MH, Adeli SH, Karimi Sakhvidi N, Boudag H. Evaluation of serum magnesium and the effect on prognosis in patients admitted to intensive care unit. Urmia Med J 2013; 24(1): 30-7. [In Persian].

Journal of Isfahan Medical School
Received: 18.02.2014
Vol. 32, No. 282, 3rd Week, June 2014
Accepted: 20.04.2014

The Relationship of Maternal Serum Magnesium Levels and the Incidence of Low-Birth-Weight Infants: A Case-Control Study

Hamid Salehiniya MSc[1], Leila Mohamadkhani-Shahri MSc[2], Samaneh Sabet-Birjandi MSc[3]

Original Article

Abstract

Background: Low birth weight is the most important public health problem, especially in the developing countries, associated with many complications. Magnesium, an essential element for many enzymes, have been studied in recent decades and can reduce preterm labor and low birth weight. Hence, this study aimed to investigate the relationship of maternal serum magnesium levels and the incidence of low-birth-weight infants.

Methods: In this case-control study, 21 low- (cases) and 39 normal-birth-weight (control group) infants were studied. Information was collected by infant physical examination, interview with the mother and maternal blood laboratory tests. For the measurement of maternal serum magnesium level, atomic absorption spectrometry method was used. The collected data were analyzed using independent t and chi-square tests.

Findings: The mean maternal serum magnesium level was significantly (P = 0.001) lower in the case group (2.24 ± 0.07 mg) compared with the control group (2.61 ± 0.09 mg). Low maternal serum magnesium level is a risk factor for incidence of low birth weight.

Conclusion: Maternal serum magnesium level is a predictive risk factor for low birth weight. Therefore, to reduce the incidence of low birth weight, as one of the most important causes of infant mortality, oral administration of magnesium and dietary advices can be taken.

Keywords: Low birth weight, Magnesium, Infant, Case-control

Citation: Salehiniya H, Mohamadkhani-Shahri L, Sabet-Birjandi S. **The Relationship of Maternal Serum Magnesium Levels and the Incidence of Low-Birth-Weight Infants: A Case-Control Study.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(282): 507-13

1- PhD Student, Department of Epidemiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Lecturer, Department of Midwifery, School of Nursing and Midwifery, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran
3- Lecturer, Department of Midwifery, School of Nursing and Midwifery, Islamic Azad University, Birjand Branch, Birjand, Iran
Corresponding Author: Samaneh Sabet-Birjandi MSc, Email: smnsabet@gmail.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۸۲/هفته سوم خرداد ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۳

بررسی ارتباط بیان ژن PTEN با شاخص‌های پاتولوژی در بیماران مبتلا به سرطان پستان با روش ایمونوهیستوشیمی

دکتر رحیم گل‌محمدی[۱]، دکتر محمد شفیع مجددی[۲]، دکتر اکبر پژهان[۳]، دکتر مهدی نیکبخت دستجردی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در سرطان پستان آسیب‌های ژنتیکی و عوامل اپی ژنتیکی نقش اصلی را دارند. پروتئین PTEN (Phosphatase and tensin homolog) که محصول ژن PTEN می‌باشد، مهم‌ترین عامل سرکوب کننده‌ی تومور است که با روش ایمونوهیستوشیمی قابل ردیابی است. هدف از این مطالعه، تعیین میزان بیان ژن PTEN با شاخص‌های آسیب‌شناسی و بافتی در سرطان پستان می‌باشد.

روش‌ها: این مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی بر روی تعداد ۱۰۰ نمونه‌ی مبتلا به سرطان پستان که در سال‌های ۹۲-۱۳۸۹ به بیمارستان‌های شهر سبزوار مراجعه کرده بودند، انجام شد. بعد از ثابت کردن نمونه‌ها در فرمالین، پاساژ بافتی و مقطع‌گیری انجام شد. سپس اسلایدها با هماتوکلیسن و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. تشخیص آسیب‌شناسی توسط دو پاتولوژیست به صورت جداگانه انجام گرفت. بیان ژن PTEN بعد از ماسک‌زدایی با روش ایمونوهیستوشیمی با استفاده از آنتی بادی اختصاصی (Primary specific rabbit monoclonal PTEN antibody) در نمونه‌ها مشخص شد و با میکروسکوپ نوری از اسلایدها تصویر گرفته شد. داده‌ها با آزمون χ^2 و آزمون Fisher's exact تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: از تعداد ۱۰۰ نمونه‌ی بدخیمی مورد مطالعه، ۷۰ نمونه (۷۰ درصد) با بیان ژن PTEN همراه بودند و ۳۰ مورد (۳۰ درصد) فاقد بیان ژن PTEN بودند. در حالی که تمام نمونه‌های غیر سرطانی (نمونه‌های سالم) با بیان بالای ژن PTEN همراه بودند. بین درجه‌ی تمایز و مرحله‌ی تومور ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵۰$)؛ اما بین بیان بالای ژن PTEN با مرحله‌ی تومور ارتباط معنی‌داری وجود داشت. بین بیان بالای ژن PTEN با درجه‌ی پایین تومور نیز ارتباط معنی‌داری مشاهده شد ($P > ۰/۰۵۰$). میزان بیان ژن PTEN در تومورهای مهاجم مجرا نسبت به تومورهای غیر مهاجم سرطان پستان کمتر مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: در مطالعه‌ی حاضر، بیان ژن PTEN در بیمارانی که در درجه‌ی بالای بیماری قرار داشتند، کمتر مشاهده شد. بنابراین، عدم بیان ژن PTEN در نمونه‌های سرطانی، می‌تواند نشانه‌ای از پیش‌آگهی بد قلمداد شود.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، ایمونوهیستوشیمی، بیان ژن PTEN

ارجاع: گل‌محمدی رحیم، مجددی محمد شفیع، پژهان اکبر، نیکبخت مهدی. **بررسی ارتباط بیان ژن PTEN با شاخص‌های پاتولوژی در بیماران مبتلا به سرطان پستان با روش ایمونوهیستوشیمی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۲): ۵۲۳-۵۱۴

۱- دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
۲- استادیار، گروه میکروب‌شناسی و ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
۳- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
۴- دانشیار، گروه علوم تشریحی و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر رحیم گل محمدی
Email: rahimgolmohammadi@yahoo.com

مقدمه

سرطان پستان یکی از مهم‌ترین بدخیمی‌های عمومی زنان در ایالات متحده‌ی امریکا محسوب می‌شود (۱). از هر ۸ تا ۱۲ نفر در کشورهای غربی، یک نفر به سرطان پستان مبتلا می‌شود؛ به طوری که سرطان پستان دومین عامل مرگ در زنان است (۳-۲). در آسیا، میزان شیوع سرطان پستان در سال‌های اخیر رو به افزایش می‌باشد (۴) و میانگین سن شروع سرطان پستان در ایران نیز کاهش یا فته است (۵). کارسینوم پستان اغلب به دو شکل غیر مهاجم و مهاجم دیده می‌شود. موارد غیر مهاجم حدود ۳۰-۱۵ درصد تمام سرطان پستان را به خود اختصاص می‌دهند که شامل کارسینوم داخل مجرایی (DCIS یا Ductal carcinoma in situ) و کارسینوم لوبولی (LCIS یا Lobular carcinoma in situ) است. کارسینوم‌های مهاجم پستان که حدود ۸۵-۷۰ درصد بقیه‌ی سرطان‌های پستان را به خود اختصاص می‌دهند، شامل کارسینوم مهاجم مجرایی (NST یا Invasive ductal carcinoma no special type) و کارسینوم مهاجم لوبولی (Invasive lobular carcinoma) ILC یا NLC می‌باشند (۶).

در سرطان پستان، مجموعه‌ای از عوامل محیطی و ژنتیکی نقش دارند. ژن‌هایی که در سرطان پستان فعال می‌شوند، در دو دسته قرار می‌گیرند: گروه اول ژن‌های مهار کننده‌ی تومور (Tumor suppressor) که مانع پیشرفت تومور می‌شوند مانند ژن P۵۳ (۸-۷) و PTEN. گروه دیگر، ژن‌هایی هستند که جهش آن‌ها باعث پیشرفت و یا تسریع تومور می‌گردد (۹).

ژن PTEN یک ژن مهار کننده‌ی تومور است که بر روی کروموزوم ۱۰q۲۳ قرار دارد و از ۱۱ اگزون تشکیل شده است. مطالعات جدید روی این ژن متمرکز شده است. ژن PTEN در بعضی از تومورهای بدخیم از جمله سرطان پستان غیر فعال می‌شود (۱۰).

نقش عملکردی این ژن، القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌باشد. محصول ژن PTEN در تولید سیگنال‌های کموتاکسی و مهار تکثیر سلولی نقش دارد؛ به طوری که گزارش شده است که اختلال عملکردی آن منجر به افزایش اندازه‌ی سلول‌های اپی تلیال در ناحیه‌ی هیپر پلازی پروستات در موش می‌شود و پس از مدتی (۱۴-۱۰ ماه) عدم بیان ژن PTEN در بافت خوش‌خیم، موجب تبدیل آن به کارسینومای مهاجم پروستات (Invasive prostate carcinoma) شده است (۱۱).

در پژوهش Wang و همکاران در زمینه‌ی سرطان پروستات مشاهده شد که ژن PTEN روی کموتاکسی سلول‌های سرطانی، پاسخ‌های متعدد سلولی را تنظیم می‌کند (۱۱) و مطالعات In vitro نشان می‌دهد که تزریق PTEN به موش‌های فاقد بیان ژن PTEN، موجب کاهش متاستاز سلول‌های سرطانی به ریه می‌گردد (۱۲). اختلال عملکردی ژن PTEN نه تنها همراه با چندین سرطان همراه می‌شود؛ بلکه می‌تواند منجر به بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت، پارکینسون و اسکیزوفرنی شود (۱۳).

با توجه به نقش‌های مختلف عملکردی ژن PTEN مطالعات جدید تکمیلی نیاز است تا مکانیسم این ژن بهتر مشخص شود (۱۴). عدم بیان ژن PTEN ناشی از جهش ژن PTEN است که منجر به اختلال عملکردی ژن و افزایش قدرت تهاجمی تومور می‌شود و جهش ژن PTEN اغلب با از دست رفتن

عمل پروتئین همراه است. پروتئین PTEN که محصول ژن PTEN است، با روش ایمونوهیستوشیمی قابل تعیین می‌باشد (۱۵).

از آن جا که ژن PTEN نقش یک سرکوب کننده‌ی تومور را به عهده دارد و جهش آن با متاستاز سریع بعضی تومورها همراه است (۱۶)، اما مشخص نیست که بین شاخص‌های بافتی و آسیب‌شناسی در سرطان پستان با بیان ژن PTEN ارتباطی وجود دارد یا خیر؟ به علاوه این که آیا بررسی بیان ژن PTEN می‌تواند در فرایند تشخیصی و درمانی بیماران مبتلا به سرطان کمک کننده باشد یا خیر؟ از این رو، مطالعه‌ی حاضر طراحی شد تا میزان بیان ژن PTEN در بیماران مبتلا به سرطان پستان با شاخص‌های پاتولوژی و بافتی بررسی شود.

روش‌ها

این مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی روی تعداد ۱۰۰ نمونه‌ی مبتلا به سرطان بافت پستان مراجعه کننده به بیمارستان‌های شهر سبزوار انجام شد. در مطالعه‌ی حاضر از بافت مجاور سالم به عنوان نمونه‌ی شاهد استفاده شد. ترتیب مراحل انجام کار به طور خلاصه به شرح زیر بود:

نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد ثابت شدند. پاساژ بافتی به وسیله‌ی دستگاه Tissue processing انجام شد و بعد از انفیلتراسیون نمونه‌ها در پارافین مذاب، نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری شدند. مقاطع ۴ میکرونی از تمام نمونه‌ها با میکروتوم دوار Litze تهیه شد. لام‌های (اسلاید) حاوی نمونه با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. در صورت تشخیص بدخیمی توسط دو متخصص آسیب‌شناسی (دو سو کور) و تعیین درجه‌ی بافتی که بر اساس میتوز پلی مورفیسم، وجود یا عدم وجود غدد در نمونه‌ها بود، تومورها به درجات ۱ تا ۳ تقسیم‌بندی شدند.

بیان ژن PTEN به ترتیب زیر در نمونه‌ها انجام شد.

جهت انجام ایمونوهیستوشیمی دما و غلظت‌های آنتی بادی بر طبق دستور کیت انجام گرفت؛ اما برای ماسک‌زدایی محل شاخص‌های آنتی‌ژنیک نمونه‌ها، ازمیکروویو وب افرسیترات با حرارت ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. برای مهار فعالیت اندوژناز پراکسیداز به مدت ۳۰ دقیقه در محلول ۳ درصد آب اکسیژنه قرار داده شد و دوباره لام‌ها ۵ بار با بافر فسفات سالین شستشو داده شد. با آنتی بادی اولیه (Primary specific rabbit monoclonal PTEN antibody) ساخت شرکت Novocastra (Newcastle, UK) روی لام‌ها چکانده شد و سه بار با بافر فسفات سالین (PBS یا Phosphate buffered saline) شستشو داده شد و سپس از آنتی بادی ثانویه استفاده شد (توضیح این که اسلایدها برای عبور از هر مرحله به مرحله‌ی بعدی، سه بار با بافر فسفات سالین شستشو داده می‌شدند).

از استرپتوآویدین متصل به HRP (Horseradish peroxidase) که قادر است دی‌آمینوبنزیدین (DAB یا ۳,۳'-Diaminobenzidine) را اکسید کند، برای رنگ‌آمیزی سلول‌ها استفاده شد و با میکروسکوپ نوری بررسی و تصویر گرفته شد. سلول‌هایی که کمتر از ۱۰ درصد رنگ گرفته بودند، منفی قلمداد شدند و آن‌هایی که بیش از ۱۰ درصد رنگ قهوه‌ای به خود گرفته بودند، مثبت قلمداد شدند و با در نظر گرفتن بیان و عدم بیان ژن PTEN اسلایدها به درجات مثبت و منفی تقسیم شدند

(۱۷، ۱۵). سپس از اسلایدها با میکروسکوپ نوری ۲ Advanced motic plus تصویر گرفته شد. اسلایدها توسط دو نفر به طور جداگانه بررسی شدند.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۱/۵ (version 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون‌های χ^2 و Fisher's exact تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

الف- یافته‌های دموگرافیک، آسیب‌شناسی و بافتی

میانگین سن بیماران مبتلا به سرطان پستان ۱۳/۸۶ ± ۴۷/۱۱ سال و حداقل و حداکثر سن به ترتیب ۲۵ و ۸۲ سال بود. از تعداد ۱۰۰ نمونه‌ی بدخیمی، ۸۲ مورد از نوع کارسینوم مهاجم مجرایی، ۱۳ نمونه از نوع کارسینوم لوبولی غیر مهاجم و ۵ نمونه از نوع کاسینوم لوبولی مهاجم بودند.

تعداد ۳۲ نمونه در مرحله‌ی صفر بیماری (Carcinoma in situ) بودند؛ یعنی سلول‌های سرطانی محدود به یک لوبول و یک مجرا بود و بافت‌های چربی اطراف، آلوده به سلول‌های سرطانی نبودند. ۴۴ مورد در مرحله‌ی ۱ (Stage I) از نظر پیشرفت بیماری قرار داشتند و گره‌های لنفاوی به سلول‌های سرطانی گرفتار نشده بودند. در ۱۴ نمونه، گره‌های لنفاوی و بافت‌های مجاور به سلول‌های بدخیم آلوده شده بودند؛ یعنی در مرحله‌ی ۲ (Stage II) از نظر پیشرفت بیماری قرار داشتند. ۶ نمونه در مرحله‌ی ۳ (Stage III) بیماری قرار داشتند و تعداد ۴ نمونه در مرحله‌ی ۴ و پیشرفت بدخیمی قرار داشتند؛ یعنی به بافت‌های دیگر متاستاز (Stage IV) داده بودند (جدول ۲).

جدول ۱. توزیع فراوانی بیان ژن PTEN بر اساس درجه‌ی تمایز تومور در سلول‌های سرطانی بافت پستان

PTEN / درجه	مثبت فراوانی (درصد)	منفی فراوانی (درصد)	تعداد کل فراوانی (درصد)
درجه‌ی ۱	۱۴ (۱۴)	۳ (۳)	۱۷ (۱۷)
درجه‌ی ۲	۴۵ (۴۵)	۷ (۷)	۵۲ (۵۲)
درجه‌ی ۳	۱۱ (۱۱)	۲۰ (۲۰)	۳۱ (۳۱)
تعداد کل	۷۰ (۷۰)	۳۰ (۳۰)	۱۰۰ (۱۰۰)

بین درجه‌ی بالای تومور و بیان ژن PTEN در بافت بدخیم غده‌ی پستان، ارتباط معکوس و معنی‌داری وجود دارد ($P < ۰/۰۰۱$). بدین معنی که در تومورهای درجه‌ی بالا، بیان ژن PTEN کمتر می‌باشد.

جدول ۲. ارتباط بین مرحله‌ی تومور با بیان ژن PTEN در سلول‌های سرطانی بافت پستان

PTEN / مرحله	مثبت فراوانی (درصد)	منفی فراوانی (درصد)	تعداد کل فراوانی (درصد)
مرحله‌ی صفر	۲۴ (۲۴)	۸ (۸)	۳۲ (۳۲)
مرحله‌ی ۱	۳۶ (۳۶)	۸ (۸)	۴۴ (۴۴)
مرحله‌ی ۲	۹ (۹)	۴ (۵)	۱۴ (۱۴)
مرحله‌ی ۳ و ۴	۱ (۱)	۹ (۹)	۱۰ (۱۰)
تعداد کل	۷۰ (۷۰)	۳۰ (۳۰)	۱۰۰ (۱۰۰)

بین مرحله‌ی تومور و بیان ژن PTEN در بافت بدخیم غده‌ی پستان ارتباط معکوس و معنی‌داری وجود دارد ($P < ۰/۰۰۱$). بدین معنی که بیان ژن PTEN در تومورهایی که در مرحله‌ی بالایی از پیشرفت قرار می‌گیرند، کمتر می‌باشد.

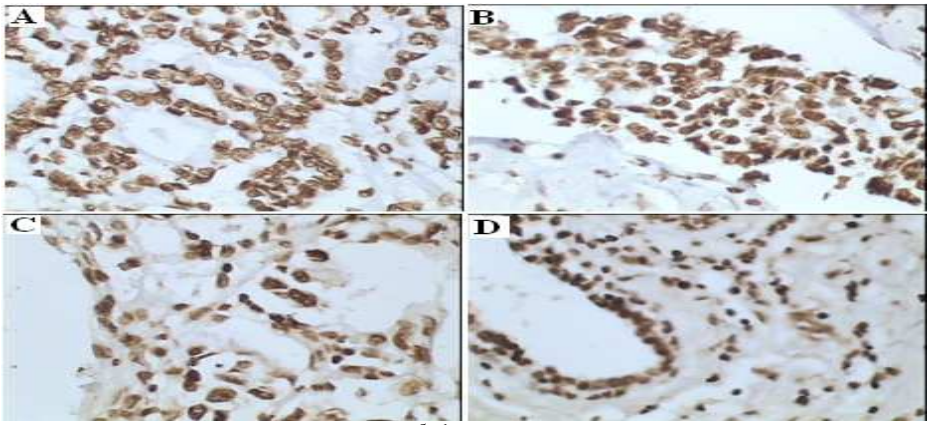
سلول‌های بدخیمی در دو بیمار به اندام تنفسی ریه و یک مورد به پستان مجاور و یک مورد به کبد سرایت کرده بود. از نظر درجه‌ی تمایز بافتی، ۱۷ مورد در درجه‌ی ۱، ۵۲ مورد در درجه‌ی ۲ و ۳۱ مورد در درجه‌ی ۳ از نظر پیشرفت بافتی و آسیب‌شناسی قرار داشتند.

ب- یافته‌های بیان ژن PTEN در نمونه‌های مورد مطالعه

تعداد ۷۰ نمونه‌ی بدخیم (۷۰ درصد) با بیان بالای ژن PTEN همراه بودند. ۳۰ مورد (۳۰ درصد) از نمونه‌های بدخیم، فاقد بیان ژن PTEN بودند و تمام نمونه‌های غیر سرطانی (نمونه‌های سالم) با بیان بالای ژن PTEN همراه بودند. بین درجه‌ی تمایز و مرحله‌ی تومور، ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵۰$). همچنین بین بیان بالای ژن PTEN با مرحله‌ی تومور، ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($P > ۰/۰۰۱$)؛ به طوری که از تعداد ۷۰ نمونه‌ی مثبت که با بیان بالای ژن PTEN بودند، ۲۴ مورد در مرحله‌ی صفر بیماری قرار داشتند، ۳۶ مورد در مرحله‌ی ۱، ۹ نمونه در مرحله‌ی ۲ و ۱ نمونه در مرحله‌ی ۳ بیماری قرار داشتند. بیمارانی که در مرحله‌ی پیشرفت بیماری (مرحله‌ی ۴) قرار داشتند، فاقد بیان ژن PTEN بودند (جدول ۱).

همچنین بین بیان بالای ژن PTEN با درجه‌ی تومور، ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($P < ۰/۰۰۱$)؛ بدین ترتیب، در نمونه‌های درجه‌ی ۳، بیان ژن PTEN کمتری مشاهده شد (جدول ۱). بیان ژن PTEN در تومورهای مرحله‌ی پیشرفت بیماری (متاستاز)، کمتر بود. همچنین در تومورهای بدخیمی مهاجم مجرایی، عدم بیان ژن PTEN در ۲۸ نمونه (۲۸ درصد) و در تومورهای غیر مهاجم در ۲ نمونه (۲ درصد) بود؛ یعنی بین نوع تومور و عدم بیان ژن PTEN ارتباط معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۴۰$).

در رنگ‌آمیزی اختصاصی، سلول‌های سرطانی که با بیان ژن PTEN همراه بودند، رنگ قهوه‌ای را به خود گرفتند (شکل ۱- A و B). میزان بیان ژن PTEN در نمونه‌های بدخیمی که درجه‌ی بالاتری داشتند، کمتر بود (شکل ۱- C). در رنگ‌آمیزی اختصاصی بافت سالم سلول‌های زمینه‌ای و مجرای غده‌ی پستان، بیان بالای ژن PTEN مشاهده شد (شکل ۱- D).



شکل ۱. مقطع عرضی ۴ میکرونی از بافت سرطانی غده‌ی پستان. رنگ‌آمیزی اختصاصی ایمونوهیستوشیمی (بزرگ‌نمایی ۴۰۰ ×)
تصویر A. درجه‌ی ۱، تصویر B. درجه‌ی ۲ و تصویر C. درجه‌ی ۳ سلول‌های بدخیم را نشان می‌دهد که در آن‌ها بیش از ۵۰ درصد سلول‌ها، ژن PTEN را بیان می‌کنند (نقاط قهوه‌ای رنگ). تصویر D. بافت سالم غده‌ی پستان را نشان می‌دهد.

بحث

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که بین کاهش بیان ژن PTEN و درجه‌ی تومور ارتباط معنی‌داری وجود دارد. بدین ترتیب بیان ژن PTEN در تومورهای توسعه یافته‌ی سرطان پستان که از نظر تهاجمی در درجه‌ی بالاتری قرار داشتند، کمتر بود. مطالعه‌ی Wikman و همکاران در زمینه‌ی سرطان پستان نشان داد که احتمال متاستاز سلول‌های سرطانی به بافت‌های دیگر از جمله مغز در بیمارانی که ژن PTEN در آن‌ها بیان نشود، بیشتر است (۱۷). این یافته با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد. در مطالعه‌ی حاضر ۷۰ درصد از تومورهای بدخیم با بیان ژن PTEN و ۳۰ درصد فاقد بیان این ژن بودند. نمونه‌های منفی از نظر بیان ژن PTEN بیشتر در بیمارانی مشاهده شد که در مرحله‌ی بالاتر بیماری قرار داشتند.

گزارش Yang و همکاران در چین نشان داد که از ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان، ۲۴ مورد (۴۸ درصد) از بیماران فاقد بیان ژن PTEN بودند (۱۶). مطالعه‌ی حاضر با این تحقیق از دو جنبه تفاوت دارد: میزان بیان ژن PTEN و حجم نمونه؛ در مطالعه‌ی حاضر بیان ژن PTEN در ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان انجام شده است، در حالی که در تحقیق پیش‌گفته، بر روی ۵۰ نمونه‌ی بدخیمی انجام گرفته است. از طرفی، این احتمال نیز داده می‌شود که تفاوت در میزان بیان ژن PTEN مرتبط به عوامل جغرافیایی باشد.

در مطالعه‌ی Zhou و همکاران در زمینه‌ی سرطان خون، مشاهده شد که بیماران با بیان ژن PTEN، به داروی Doxorubicine حساس هستند؛ در حالی که بیماران فاقد بیان این ژن و یا با کاهش بیان این ژن، به داروی Doxorubicine مقاوم هستند (۱۸). مطالعه‌ی Zhou و همکاران نشان داد که عدم بیان ژن PTEN با مقامت دارویی همراه است. ذکر این نکته ضروری است که محصول ژن PTEN از طریق مهار MDM۲ (Mouse double minute ۲ homolog) و فعالیت چند ژن دیگر از جمله P۵۳، فرایند مرگ فیزیولوژی را فراهم می‌سازد؛ به طوری که با از دست رفتن بیان ژن PTEN در آپوپتوز سلول‌های بدخیم مقاومت ایجاد می‌شود (۱۸).

ژن PTEN از طریق یک نقش سیگنالی آنتاگونیستی فسفاتیدیل اینوزیتول، موجب مهار فعالیت MDM۲ می‌شود؛ در نتیجه پروتئین این ژن در سیتوپلاسم باقی می‌ماند و توسط آنزیم‌ها تجزیه می‌گردد. ژن MDM۲ یک انکوپروتئین است و موجب بی‌اثر کردن فعالیت ژن P۵۳ می‌شود؛ در حالی که ژن PTEN موجب حفظ عملکرد ژن P۵۳ می‌گردد. در نتیجه، بیان ژن PTEN موجب حساس شدن تومور به شیمی درمانی می‌شود (۲۰-۱۹).

مطالعه‌ی Zhang و همکاران در مورد سرطان پستان، نشان داد که از ۱۴۶ بیمار مبتلا به سرطان پستان، ۸۴ نمونه (۵۷/۵ درصد) با بیان ژن PTEN همراه بودند، در حالی که تمام نمونه‌های سالم با بیان ژن PTEN همراه بودند (۲۱). در مطالعه‌ی حاضر نیز تمام نمونه‌های سالم با بیان ژن PTEN همراه بودند که از این نظر با مطالعه‌ی پیش‌گفته همخوانی دارد؛ اما در مورد میزان بیان ژن PTEN در نمونه‌های بدخیم در دو ناحیه‌ی متفاوت جغرافیایی، کمی تفاوت دارد (۷۰ درصد در مطالعه‌ی حاضر در مقابل ۵۷/۵ درصد).

مطالعات جدید نشان می‌دهد که مکانیسم‌های

مختلف ژنتیکی و غیر ژنتیکی از جمله عوامل اپی ژنتیکی در تنظیم و عملکرد ژن PTEN نقش دارند که بعضی از این عوامل، هنوز شناخته نشده‌اند و مطالعات بیشتری در این زمینه لازم است (۲۲). توصیه می‌شود بیان ژن PTEN در سرطان پستان در چندین ناحیه‌ی جغرافیایی بررسی شود. آنالیزهای جامع از ژن PTEN نشان می‌دهد که ژن PTEN نه تنها یک مهار کننده‌ی تومور می‌باشد، بلکه در پیش‌آگهی سرطان پستان نیز نقش دارد (۲۳).

در مطالعه‌ی حاضر، بیان ژن PTEN در بیمارانی که در مرحله‌ی پیشرفت بیماری قرار داشتند (Stage IV)، منفی بود. احتمال داده می‌شود که سلول‌های بدخیمی که با عدم بیان ژن PTEN همراه باشند، به خاطر خارج شدن عوامل مهاری از چرخه‌ی تقسیم سلولی، سرعت تقسیم و افزایش تهاجم در سلول‌های بدخیم افزایش چشمگیری پیدا کند؛ به طوری که در مطالعه‌ی حاضر، میزان بیان ژن PTEN در تومورهای مهاجم مجرایی نسبت به تومورهای غیر مهاجم کمتر بود و این میزان از نظر آماری معنی‌دار بود. بنابراین احتمال می‌رود که یکی از دلایل افزایش تهاجم در تومور مهاجم مجرایی، عدم بیان ژن PTEN در این تومورها باشد.

مطالعه‌ی Jones و همکاران نشان می‌دهد که از دست رفتن کامل عملکردی پروتئین PTEN در تومورها، موجب افزایش قدرت تهاجمی می‌شود. همچنین به طور معنی‌داری رسپتورهای استروژن کاهش می‌یابند (۲۳). در مطالعه‌ی حاضر، میزان بیان ژن PTEN در تومورهای بدخیم پستان که در درجه‌ی بالاتر قرار داشتند، کمتر بود. این مطالعه با تحقیق Jones و همکاران (۲۳) همخوانی دارد. محصول ژن PTEN در تنظیم استرس‌های اکسیداتیو سلولی و مرگ سلولی (آپوپتوز) فعال می‌باشد (۲۵-۲۴) و مطالعات جدید دیگر نشان می‌دهند که برای ارزیابی بقا، می‌توان از ژن PTEN به عنوان یک نشانگر استفاده کرد (۲۶). از طرفی، محصول ژن PTEN روی بیان ژن‌های دیگر که در سرطان پستان برای پاسخ درمانی مهم هستند، تأثیر می‌گذارد. هر چند که بعضی از این اعمال ژن هنوز شناخته نشده است (۲۷).

در مطالعه‌ی Baig و همکاران در زمینه‌ی سرطان پستان، مشاهده شد که تغییرات ژنتیکی از جمله جهش در ژن PTEN (۲۹) که با سرطان پستان همراه می‌شود، با پیش‌آگهی بد همرا می‌گردد (۲۸). با توجه به این که سرطان پستان دومین سرطان کشنده در خانم‌ها می‌باشد و میانگین سن ابتلا به سرطان پستان در بعضی از نواحی رو به کاهش است، پیشنهاد می‌شود در کنار شاخص‌های پاتولوژی و بافتی، از عوامل پیش‌آگهی (نشانگرهای) جدید استفاده شود که بتواند وضعیت بیان ژن‌های مهار کننده یا تسریع کننده‌ی تومور را در سلول‌های بدخیم که در مرحله‌ی اولیه‌ی بیماری قرار دارند (به بافت‌های مجاور تجاوز نکرده‌اند) مشخص کند تا در فرایند درمانی و پیش‌آگهی به بیمار کمک کننده باشند.

در مطالعه‌ی حاضر، بیماران مبتلا به سرطان پستان که از نظر بیان پروتئین PTEN منفی بودند، در مرحله‌ی پیشرفت بیماری قرار داشتند. بنابراین می‌توان گفت که عدم بیان ژن PTEN در سرطان پستان، باعث تسریع رشد سلول‌های بدخیم می‌شود.

تشکر و قدردانی

از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار به خاطر تصویب و تأمین هزینه‌های طرح، همچنین از

پاتولوژیست‌های محترم آقایان دکتر محمدرضا مهاجری و فرشاد معروضی و کارشناسان آزمایشگاه خانم‌ها لندرانی و محمودی به خاطر انجام بخشی از امور بافت‌شناسی سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. Oncologist 2004; 9(6): 606-16.
2. Dunning AM, Healey CS, Pharoah PD, Teare MD, Ponder BA, Easton DF. A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1999; 8(10): 843-54.
3. Laurance J. Breast cancer cases rise 80% since Seventies. The independent Health & Wellbeing 2006; 9-29.
4. Lam WW, Fielding R, Ho EY. Predicting psychological morbidity in Chinese women after surgery for breast carcinoma. Cancer 2005; 103(3): 637-46.
5. Golmohammadi R, Pejhan A. The prognostic value of the P53 protein and the Ki67 marker in breast cancer patients. J Pak Med Assoc 2012; 62(9): 871-5.
6. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell R. Robbins Basic Pathology. 8th ed. Cambridge, MA: Saunders; 2007.
7. Golmohammadi R, Namazi MJ, Nikbakht M, Salehi M, Derakhshan MH. Characterization and Prognostic Value of Mutations in Exons 5 and 6 of the p53 Gene in Patients with Colorectal Cancers in Central Iran. Gut Liver 2013; 7(3): 295-302.
8. Dastjerdi MN, Salahshoor MR, Mardani M, Rabbani M, Hashemibeni B, Gharagozloo M, et al. The apoptotic effects of sirtuin1 inhibitor on the MCF-7 and MRC-5 cell lines. Res Pharm Sci 2013; 8(2): 79-89.
9. de Assis LV, Isoldi MC. The function, mechanisms, and role of the genes PTEN and TP53 and the effects of asbestos in the development of malignant mesothelioma: a review focused on the genes' molecular mechanisms. Tumour Biol 2014; 35(2): 889-901.
10. Bogdanova N, Helbig S, Dork T. Hereditary breast cancer: ever more pieces to the polygenic puzzle. Hered Cancer Clin Pract 2013; 11(1): 12.
11. Wang S, Gao J, Lei Q, Rozengurt N, Pritchard C, Jiao J, et al. Prostate-specific deletion of the murine Pten tumor suppressor gene leads to metastatic prostate cancer. Cancer Cell 2003; 4(3): 209-21.
12. Wan W, Zou H, Sun R, Liu Y, Wang J, Ma D, et al. Investigate the role of PTEN in chemotaxis of human breast cancer cells. Cell Signal 2007; 19(11): 2227-36.
13. Gori S, Sidoni A, Colozza M, Ferri I, Mameli MG, Fenocchio D, et al. EGFR, pMAPK, pAkt and PTEN status by immunohistochemistry: correlation with clinical outcome in HER2-positive metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab. Ann Oncol 2009; 20(4): 648-54.
14. Boosani CS, Agrawal DK. PTEN modulators: a patent review. Expert Opin Ther Pat 2013; 23(5): 569-80.
15. Sakr RA, Barbashina V, Morrogh M, Chandarlapaty S, Andrade VP, Arroyo CD, et al. Protocol for PTEN expression by immunohistochemistry in formalin-fixed paraffin-embedded human breast carcinoma. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2010; 18(4): 371-4.
16. Yang J, Ren Y, Wang L, Li B, Chen Y, Zhao W, et al. PTEN mutation spectrum in breast cancers and breast hyperplasia. J Cancer Res Clin Oncol 2010; 136(9): 1303-11.
17. Wikman H, Lamszus K, Detels N, Uslar L, Wrage M, Benner C, et al. Relevance of PTEN loss in brain metastasis formation in breast cancer patients. Breast Cancer Res 2012; 14(2): R49.
18. Zhou M, Gu L, Findley HW, Jiang R, Woods WG. PTEN reverses MDM2-mediated chemotherapy resistance by interacting with p53 in acute lymphoblastic leukemia cells. Cancer Res 2003; 63(19): 6357-62.
19. van den Broek AJ, Broeks A, Horlings HM, Canisius SV, Braaf LM, Langerod A, et al. Association of the germline TP53 R72P and MDM2 SNP309 variants with breast cancer survival in specific breast tumor subgroups. Breast Cancer Res Treat 2011; 130(2): 599-608.
20. Mayo LD, Dixon JE, Durden DL, Tonks NK, Donner DB. PTEN protects p53 from Mdm2 and sensitizes cancer cells to chemotherapy. J Biol Chem 2002; 277(7): 5484-9.
21. Zhang HY, Liang F, Jia ZL, Song ST, Jiang ZF. PTEN mutation, methylation and expression in breast cancer patients. Oncol Lett 2013; 6(1): 161-8.
22. Fata JE, Debnath S, Jenkins EC, Jr., Fournier MV. Nongenomic Mechanisms of PTEN

Regulation. Int J Cell Biol 2012; 2012: 379685.
23. Jones N, Bonnet F, Sfar S, Lafitte M, Lafon D, Sierankowski G, et al. Comprehensive analysis of PTEN status in breast carcinomas. Int J Cancer 2013; 133(2): 323-34.
24. Kitagishi Y, Matsuda S. Redox regulation of tumor suppressor PTEN in cancer and aging (Review). Int J Mol Med 2013; 31(3): 511-5.
25. Li Y, He L, Zeng N, Sahu D, Cadenas E, Shearn C, et al. Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 (PTEN) signaling regulates mitochondrial biogenesis and respiration via estrogen-related receptor alpha (ERRalpha). J Biol Chem 2013; 288(35): 25007-24.
26. Song MS, Salmena L, Pandolfi PP. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor. Nat Rev Mol Cell Biol 2012; 13(5): 283-96.
27. Henle SJ, Carlstrom LP, Cheever TR, Henley JR. Differential role of PTEN phosphatase in chemotactic growth cone guidance. J Biol Chem 2013; 288(29): 20837-42.
28. Baig RM, Mahjabeen I, Sabir M, Masood N, Hafeez S, Malik FA, et al. Genetic changes in the PTEN gene and their association with breast cancer in Pakistan. Asian Pac J Cancer Prev 2011; 12(10): 2773-8.

Journal of Isfahan Medical School Received: 28.02.2014

Vol. 32, No. 282, 3rd Week, June 2014 Accepted: 23.04.2014

Immunohistochemical Evaluation of the Relationship of PTEN Gene Expression and Pathological Parameters in Patients with Breast Cancer

Rahim Golmohammadi PhD[1], Mohammad-Shafi Mojadadi PhD[2], Akbar Pejhan PhD[3], Mehadi Nikbakht-Dastjerdi PhD[4]

Original Article

Abstract

Background: Genetic damages and epigenetic factors are important in invasive breast cancer. PTEN gene is one of the most important tumor suppressor genes. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) protein can be traced by immunohistochemistry methods. The purpose of this study was to determine the relationship of PTEN gene expression and pathological parameters in patients with breast cancer.

Methods: This descriptive analytical research was conducted on 100 cases with breast cancer admitted to a hospital in Sabzevar, Iran, during 2010-13. Samples were fixed in formalin; tissue processing and taking sections was done. Then, the slides were stained by hematoxylin and eosin. Malignancy was diagnosed by two pathologists blindly. Expression of PTEN gene was evaluated after antigen retrieval with primary specific rabbit monoclonal PTEN antibody using by immunohistochemical method. Photos were taken by light microscope. Data were analyzed using chi-square and Fisher's exact tests.

Findings: In 70 (70%) specimens, PTEN protein was detected. Protein stability was observed in total normal samples. No significant relationship was observed between the stage and grade of tumor, but there was significant relationship between PTEN gene expression and tumor grade and stage ($P < 0.05$). Over-expression of PTEN gene was lower in invasive ductal carcinoma compared to non-invasive breast cancers.

Conclusion: Our study showed that PTEN gene expression is low in patients with high-grade breast tumors. Therefore, we may conclude that low expression of PTEN gene is accompanied with bad prognosis in patients with breast cancer.

Keywords: Breast cancer, Immunohistochemistry, Over-expression of PTEN gene

Citation: Golmohammadi R, Mojadadi MSh, Pejhan A, Nikbakht-Dastjerdi M. **Immunohistochemical Evaluation of the Relationship of PTEN Gene Expression and Pathological Parameters in Patients with Breast Cancer.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(282): 514-23

1- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran
2- Assistant Professor, Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran
3- Associate Professor, Department of Physiological Sciences, School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran
4- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Rahim Golmohammadi PhD, Email: rahimgolmohammadi@yahoo.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۸۲/هفته سوم خرداد ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۸

مقایسه‌ی اثر ۸ هفته تمرین هوازی و تمرین مقاومتی بر نیم‌رخ چربی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲

امین اعتمادی بروجنی[۱]، دکتر مهدی کارگر فرد[۲]، دکتر حسین مجتهدی[۳]، دکتر رضا روزبهانی[۴]، حسین دست بر حق[۱]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در تحقیقات قبلی اثرات فعالیت بدنی و ورزش منظم در پیشگیری و به تأخیر انداختن بروز دیابت نوع ۲، افزایش حساسیت انسولین و بهبود متابولیسم گلوکز مورد تأیید قرار گرفته است. هدف از انجام تحقیق حاضر، مقایسه‌ی اثرات دو نوع تمرین هوازی و مقاومتی بر نیم‌رخ چربی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ بود.

روش‌ها: به همین منظور، تعداد ۴۵ نفر بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ به روش نمونه‌گیری هدفمند در دسترس، انتخاب و سپس به طور تصادفی در سه گروه تمرین هوازی، تمرین مقاومتی و شاهد قرار گرفتند. گروه‌های تجربی به مدت ۸ هفته (سه جلسه در هفته، هر جلسه ۷۰-۴۵ دقیقه) به انجام تمرین‌های هوازی و مقاومتی زیر نظر مربی مربوط پرداختند. در طول این مدت، گروه شاهد هیچ فعالیت بدنی منظمی نداشتند و فقط پیگیری شدند. در این پژوهش، متغیرهای تری گلیسرید، کلسترول تام، لیپوپروتئین کم‌چگال و لیپوپروتئین پرچگال قبل و بعد از دوره‌های تمرینی اندازه‌گیری شدند. در نهایت، یافته‌ها با استفاده از آزمون اندازه‌گیری‌های تکراری در سطح کمتر از ۰/۰۵ مورد تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج پژوهش نشان دهنده‌ی بهبود معنی‌دار کلسترول تام و لیپوپروتئین پرچگال پس از تمرین هوازی و بهبود معنی‌دار لیپوپروتئین پرچگال پس از تمرین مقاومتی بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه، نقش مؤثرتر تمرین استقامتی در بهبود نیم‌رخ چربی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در مقایسه با تمرین‌های مقاومتی را نشان داد.

واژگان کلیدی: دیابت نوع ۲، تمرین هوازی، تمرین مقاومتی، نیم‌رخ چربی

ارجاع: اعتمادی بروجنی امین، کارگر فرد مهدی، مجتهدی حسین، روزبهانی رضا، دست بر حق حسین. **مقایسه‌ی اثر ۸ هفته تمرین هوازی و تمرین مقاومتی بر نیم‌رخ چربی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۲): ۵۳۳-۵۲۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۴- استادیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مهدی کارگر فرد
Email: kargar_m46@yahoo.com

مقدمه

فعالیت بدنی و ورزش خطر بیشتر بیماری‌های مزمن شامل بیماری‌های عروقی، پوکی استخوان، برخی انواع سرطان و اختلالات عصبی همچون آلزایمر را کاهش می‌دهد. در مورد دیابت، یک پیوند قوی بین این بیماری و ورزش وجود دارد، اما به صورت عمده این ارتباط مربوط به دیابت نوع ۲ است. در دیابت نوع ۱، گزارش‌های کمی حاکی از اثر ورزش بر بیماری هستند و بیشتر بر نقش ورزش در کنترل و بهبود تنظیم قند خون تأکید دارند (۱).

در بیماران مبتلا به دیابت، توانایی ضعیف برای کنترل قند خون و مقاومت انسولین به همراه فشار خون بالا، چربی خون بالا و در نهایت تصلب شرایین مطرح هستند. در نتیجه، مبتلایان به دیابت نوع ۲ در معرض بیماری‌های عروق کرونری قلب، بیماری‌های عروق محیطی و بیماری‌های مویرگی می‌باشند. کنترل قند خون در درجه‌ی اول و کنترل چربی خون در درجه‌ی دوم از مهم‌ترین اهداف بیماران مبتلا به دیابت است (۲).

دیابت نوع ۲ به وسیله‌ی مقاومت به انسولین، افزایش تولید گلوکز کبدی و در برخی مواقع کاهش میزان انسولین خون (به صورت نسبی و نه مطلق) مشخص می‌گردد. در دیابت نوع ۲، مشکل به طور عمده در بافت‌های ویژه‌ی عضلات دیده می‌شود؛ به طوری که در این بافت‌ها مقاومت به انسولین زیاد است و موجب هایپرگلایسمی می‌گردد (۳).

کاهش فعالیت جسمانی در دهه های اخیر، سبب شده است که شمار مبتلایان به دیابت نوع ۲ افزایش یابد (۴). با توجه به این که چاقی مهم‌ترین عامل قابل اصلاح ابتلا به دیابت است، فعالیت جسمانی و ورزش، روش بسیار کارآمدی در پیشگیری و درمان دیابت نوع ۲ تلقی می‌شوند (۵). از جمله فواید فعالیت بدنی منظم، می‌توان به کاهش وزن، حفظ وزن در حد طبیعی، کنترل بهتر قند خون، افزایش توانایی بدن در استفاده از انسولین، کاهش نیاز به مصرف دارو و تزریق انسولین، سلامت دستگاه قلب و عروق، کاهش فشار خون، کاهش چربی های خون، کاهش تنش‌های عصبی، آمادگی بدنی، حفظ استحکام استخوان‌ها و ایجاد شادابی و نشاط اشاره نمود (۶).

مطالعات نشان داده اند که انجام منظم حرکات ورزشی در کنار رعایت برنامه ی غذایی سالم، سبب پیشگیری از بروز بیماری دیابت می‌شود. داشتن فعالیت بدنی در پیشگیری از وقوع دیابت در افراد در معرض خطر، بسیار مؤثر است. در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲، ورزش یکی از عوامل اصلی کنترل قند خون است. تحقیقات نشان داده اند که افزایش فعالیت بدنی نه تنها باعث پیشگیری از بروز دیابت می‌شود، بلکه یکی از ابزارهای درمانی کارآمد در افراد مبتلا به شمار می‌آید (۵).

با توجه به فراگیری روز افزون دیابت نوع ۲ و مشکلات بی‌شماری که این بیماری برای مبتلایان به همراه دارد؛ همچون فشار خون بالا، چاقی، چربی خون بالا، خطر گرفتگی مویرگ‌ها شامل رتینوپاتی و نفروپاتی، بیماری گرفتگی رگ‌های بزرگ شامل سکته ی قلبی و مغزی، اختلالات عصبی گوناگون (هم خودکار و هم محیطی)، ایسکمی خاموش و غیره، وجود یک راه حل مطمئن و کاربردی الزامی است. ورزش با تأثیر خود بر مقاومت انسولین، بهبود کنترل قند خون، کنترل چاقی، پیشگیری از بیماری‌های قلبی و فواید بسیار زیاد خود به همراه

اصلاح سبک زندگی و رژیم غذایی مناسب، می‌تواند راه حلی درخور برای این بیماری باشد (۱۱-۵، ۱).

در گزارش‌های تحقیقی قبلی، تأثیر هر یک از تمرین‌های هوازی و مقاومتی به طور جداگانه بر روی نیم‌رخ چربی مورد بررسی قرار گرفته است و کمتر تحقیقی به مقایسه‌ی هر دو شیوه پرداخته است. از این رو، این مقایسه لازم و ضروری به نظر می‌رسید تا بتوان بین میزان تأثیرگذاری این سه روش متفاوت، تصمیم گیری کرد و بهترین روش پیشگیری یا کاهش مشکلات ناشی از دیابت را انتخاب و تجویز نمود و از اتلاف وقت و هزینه جلوگیری کرد و در درمان یا بهبود کیفیت زندگی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ قدم مثبتی برداشت.

روش‌ها

این تحقیق از نوع نیمه تجربی با طرح پیش آزمون- پس آزمون با گروه شاهد بود که بر روی مردان مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام شد. شرایط ورود به مطالعه شامل جنس مرد، ابتلا به بیماری دیابت نوع ۲ طبق تشخیص پزشک و مدارک پزشکی، سن ۶۵-۴۵ سال، عدم سابقه‌ی ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی، عدم انجام فعالیت منظم بدنی، عدم استفاده از انسولین و نداشتن عوارض دیابت از جمله زخم پای دیابتی بود. تعداد ۴۵ نفر از بیمارانی که داوطلب همکاری با پژوهش بودند، به روش در دسترس و نمونه‌گیری هدفمند انتخاب شدند. پس از تکمیل رضایت‌نامه، خون‌گیری از آزمودنی‌ها جهت اندازه‌گیری کلسترول تام (TC یا Total cholesterol)، تری گلیسیرید (TG یا Triglyceride)، لیپوپروتئین پرچگال (HDL یا High-density lipoprotein) و لیپوپروتئین کم‌چگال (LDL یا Low-density lipoprotein) انجام شد و پس از آن آزمودنی‌ها به صورت تصادفی در دو گروه مورد شامل تمرین هوازی (۱۵ نفر) و تمرین مقاومتی (۱۵ نفر) و یک گروه شاهد (۱۵ نفر) قرار گرفتند.

گروه تمرین هوازی تمرین‌ها را به مدت ۸ هفته به صورت فعالیت‌هایی همچون راه رفتن سریع، دویدن، جاگینگ (هر هفته سه جلسه، هر جلسه ۴۵-۲۰ دقیقه با شدت ۸۵-۶۰ درصد ضربان قلب ذخیره‌ای) انجام دادند. همچنین تمرین‌های گروه مقاومتی شامل ۸ هفته تمرین بدن‌سازی (هر هفته سه جلسه، هر جلسه ۲۴-۸ تکرار با شدت ۸۵-۶۰ درصد یک تکرار بیشینه) انجام دادند. در ضمن، هر جلسه‌ی تمرینی شامل سه مرحله‌ی *گرم کردن* -یک روند چهار مرحله‌ای ۱۵ دقیقه‌ای شامل کشش ملایم عضلات بزرگ پایین تنه، سپس بالا بردن اندک ضربان قلب به وسیله‌ی حرکاتی همچون راه رفتن، در ادامه کشش اصلی روی تمام گروه عضلات و در آخر بالا بردن ضربان قلب (۱۳-۱۲)، *تمرین اصلی* - دوره‌ی ۸ هفته‌ای که افزایش اندک، تدریجی و مداومی را شاهد بود تا اصل اضافه بار به وسیله‌ی مدت زمان تمرین و شدت تمرین رعایت شود- و *سرد کردن* -به مدت ۱۰ دقیقه و به منظور کاهش ضربان قلب و بازگشت به حالت اولیه- بود.

همچنین گروه شاهد شامل ۱۵ نفر بیمار مبتلا به دیابت بود که در طول مدت پژوهش، در فعالیت بدنی منظم و خاصی شرکت نداشتند و فعالیت‌های روزمره‌ی خود را پیگیری می‌کردند.

پس از اتمام دوره‌ی ۸ هفته‌ای تمرین‌ها، برای هر سه گروه پس آزمون انجام گرفت تا تفاوت بین گروه‌های تمرین هوازی، مقاومتی و گروه شاهد بر

روی متغیرهای مورد نظر (TC، TG، HDL و LDL) مشخص شود.

برای اندازه‌گیری عوامل مورد نظر، بیماران به مدت ۱۲-۸ ساعت ناشتا بودند، سپس مقدار ۵ میلی‌لیتر خون وریدی از ایشان گرفته شد و نیم‌رخ چربی شامل تری گلیسرید، کلسترول تام، لیپوپروتئین پرچگال و لیپوپروتئین کم‌چگال توسط کیت مَن و دستگاه آلفا کلاسیک ساخت ایران و روش فتومتریک آنزیماتیک و کیت ساخت شرکت پارس آزمون ایران اندازه‌گیری شد.

به منظور بررسی تغییرات متغیرهای مورد مطالعه در هر گروه قبل و بعد از تمرین و نیز مقایسه‌ی تفاوت در تغییرات به دست آمده در دو گروه، از آزمون‌هایی نظیر تجزیه و تحلیل واریانس‌ها با اندازه‌گیری‌های تکراری استفاده شد. همچنین برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) با سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه در مجموع ۴۵ نفر (در هر گروه ۱۵ نفر) مورد مطالعه قرار گرفتند. مشخصات بدنی و فیزیولوژیک گروه‌های مورد مطالعه در این پژوهش در جدول ۱ مشاهده می‌شود. تغییرات متغیرهای مورد بررسی در هر سه گروه نیز در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱. مشخصات بدنی و فیزیولوژیکی

متغیر	گروه			F	Sig.
	تمرین هوازی	تمرین مقاومتی	شاهد		
سن (سال)	۴۹/۳۴ ± ۶/۴۹	۴۹/۲۰ ± ۶/۲۷	۴۹/۵۳ ± ۷/۰۷	۰/۱۲۹	۰/۹۴۳
قد (سانتی‌متر)	۱۷۱/۹۷ ± ۶/۹۱	۱۷۴/۱۲ ± ۴/۵۱	۱۷۵/۲۵ ± ۵/۸۱	۱/۰۸۲	۰/۳۶۴
وزن (کیلوگرم)	۸۵/۵۰ ± ۷/۸۷	۸۵/۷۲ ± ۷/۸۹	۸۵/۶۰ ± ۷/۰۶	۰/۰۳۹	۰/۹۹۰
حداکثر اکسیژن مصرفی (میلی‌لیتر/ کیلوگرم بر دقیقه)	۲۹/۶۸ ± ۳/۳۹	۳۰/۴۹ ± ۳/۹۲	۲۸/۷۱ ± ۵/۱۶	۰/۸۳۸	۰/۴۷۹

جدول ۲. تغییرات متغیرهای مورد بررسی در سه گروه

متغیر	گروه	تمرین هوازی		تمرین مقاومتی		شاهد		F	Sig.
		پیش آزمون	پس آزمون	پیش آزمون	پس آزمون	پیش آزمون	پس آزمون		
TG (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)		۱۳۹/۶۰ ± ۵۱/۳۱	۱۳۵/۸۷ ± ۴۱/۶۱	۱۴۲/۸۰ ± ۴۱/۵۶	۱۳۸/۸۳ ± ۲۳/۷۲	۱۵۳/۲۰ ± ۴۴/۶۰	۱۵۵/۴۷ ± ۴۸/۲۸	۰/۴۹	۰/۶۹
TC (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)		۲۷۵/۵۷ ± ۲۸/۲۳	۲۵۰/۸۳ ± ۳۷/۲۲	۲۶۸/۵۷ ± ۲۳/۶۱	۲۶۰/۱۷ ± ۲۹/۵۱	۲۷۶/۷۳ ± ۳۳/۴۰	۳۰۱/۶۳ ± ۳۰/۱۳	۲/۸۹	۰/۰۴
HDL (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)		۳۹/۲۰ ± ۹/۱۰	۴۶/۲۷ ± ۹/۳۲	۳۸/۶۷ ± ۵/۹۹	۴۲/۶۰ ± ۷/۰۷	۳۸/۷۳ ± ۷/۲۶	۳۳/۲۶ ± ۵/۷۸	۲/۹۰	۰/۰۴
LDL (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)		۱۲۸/۶۷ ± ۲۷/۶۹	۱۱۸/۳۳ ± ۲۶/۸۶	۱۲۳/۲۰ ± ۲۴/۴۴	۱۱۷/۹۳ ± ۱۶/۹۹	۱۲۵/۲۰ ± ۲۷/۴۹	۱۲۴/۹۳ ± ۲۲/۱۹	۰/۱۵	۰/۹۳

TG: Triglyceride; TC: Total cholesterol
HDL: High-density lipoprotein; LDL: Low-density lipoprotein

بحث

تمرین هوازی و تمرین مقاومتی موجب افزایش میزان HDL در بیماران شده است. اما در پژوهش حاضر این دو شیوه‌ی تمرینی، تغییرات معنی‌داری را در میزان LDL و تری گلیسیرید ایجاد نکردند و با توجه به داده‌های جدول ۲، تنها تمرین هوازی موجب کاهش میزان کلسترول تام در این بیماران بوده است.

یافته‌های پژوهش حاضر با یافته‌های پژوهش‌های Marwick و همکاران (۱۴)، Balducci و همکاران (۱۵) و Dunstan و همکاران (۱۶) مطابق بود که نشان دادند یک دوره‌ی تمرینی موجب افزایش میزان HDL و کاهش کلسترول تام در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌شود. Gordon و همکاران در تحقیق خود با مضمون اثر تمرین درمانی بر روی نیم‌رخ چربی و تعیین کننده‌های استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲، که بر روی ۷۷ بیمار مبتلا به دیابت انجام دادند، تأثیرگذاری تمرین‌های هاتا یوگا بر روی گلوکز خون ناشتا، نیم‌رخ چربی، نشانگرهای استرس اکسیداتیو و وضعیت آنتی اکسیدان‌ها در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ را تأیید کردند و پیشنهاد دادند که تمرین‌های هاتا یوگا و تمرین‌های ایروبیک ممکن است به وسیله‌ی کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود وضعیت آنتی اکسیدان‌ها، تأثیرات درمانی، پیشگیری و محافظتی در بیماران مبتلا به دیابت داشته باشد (۱۷).

در مطالعه‌ی رحیمی و همکاران تأثیر ۸ هفته ورزش در آب بر نیم‌رخ چربی ۳۰ مرد ۶۰-۵۰ ساله‌ی مبتلا به دیابت نوع ۲ سنجیده شده است که نتایج این تحقیق، بیانگر تفاوت معنی‌داری بین میانگین TC، TG، HDL، LDL و VLDL (Very-low-density lipoprotein) گروه‌های مورد و شاهد بود. این نتایج حاکی از آن است که ورزش در آب، باعث بهبود معنی داری در نیم رخ چربی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌گردد (۱۸).

از سوی دیگر، نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش Gordon و همکاران (۱۷) و نیز Misra و همکاران (۱۹) در مورد میزان تغییرات LDL و کلسترول تام در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ همسو نبوده است. پژوهش‌های Honkola و همکاران (۲۰) و نیز Yang و همکاران (۲۱) کاهش تری گلیسیرید و LDL را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ بر اثر تمرین‌های ورزشی نشان داده‌اند که در پژوهش حاضر، این تغییرات معنی‌دار نبودند و در نتیجه، یافته‌های پژوهش حاضر در مورد تغییرات میزان LDL و تری گلیسیرید با پژوهش‌های ذکر شده همخوان نبوده است. شاید بتوان اختلاف موجود بین نتایج این پژوهش‌هابا نتایج مطالعه‌ی حاضر در مورد متغیرهای LDL و تری گلیسیرید را به اختلاف بین شدت، مدت زمان تمرین و همچنین اختلاف بین سن و جنس نمونه‌های پژوهشی نسبت داد.

نتایج تحقیق حاضر با نتایج پژوهش‌های Sigal و همکاران (۲۲) و نیز Castaneda و همکاران (۲۳) که تغییری را در HDL گزارش نکردند، در تناقض بود.

چاقی به همراه اختلالات لیپیدی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ بسیار رایج است. افزایش میزان LDL و کاهش HDL منجر به افزایش بیماری‌های قلبی و عروقی در این بیماران می‌گردد (۲۴). یکی از شایع‌ترین اشکال دیس‌لیپیدمی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲، بالا بودن تری گلیسیرید و کاهش HDL می‌باشد (۲۵). همچنین بسیاری از مطالعات نشان

داده‌انـد کـه افـزایش تـری گلیسـیرید، LDL، TC و کاهش HDL، مهم‌ترین عوامل خطر برای بیماری‌های قلبی و عروقی به شمار می‌آیند (۲۶)؛ بـه طـوری کـه نشان داده شـده اسـت، کـاهش تقریبـی ۵ درصـد در میزان LDL از نظر بالینی بسیار مهم است. برای مثـال ۱ درصد کاهش در میزان LDL، کاهش ۱/۷ درصـدی مخاطرات بیماری‌های عـروق کرونـروی را بـه دنبـال دارد. به علاوه، افزایش ۱ درصـد در میـزان HDL در بیماران مبـتلا بـه دیابـت، منجـر بـه کـاهش خطـر ۳ درصدی در بیماران قلبی و عروقی می‌شود (۲۸-۲۷).

LDL بر روی دیواره‌ی سرخرگ‌ها اثـر نـامطلوبی دارد و باعـث تسـریع بیمـاری آترواسـکلروزیس می‌شود، که در این مطالعه ورزش به تنهـایی موجـب کاهش آن نشد. اما می‌توان بـه وسـیله‌ی تمـرین‌هـای بدنی منظم با شدت، مدت و تکرار مناسب، میـزان آن را کمـی کـاهش داد و از بـروز بیمـاری‌هـای قلبـی جلوگیری کرد. اما این نکته قابل توجه اسـت کـه اثـر ورزش و تمرین‌های بدنی روی کاهش نسبت غلظـت تری گلیسرید بر LDL، مقدار بسیار کمـی اسـت؛ امـا ممکن است اثرات مفیدی روی اجزای ترکیبـی LDL داشته باشد (۲۹).

HDL خـواص آنتـی آتروژنیـک (ضـد تشـکیل ضایعات آتروماتور در دیواره‌ی عروق) دارد و این که پژوهش حاضر نشـان داد کـه ظرفیـت سـرمی HDL افـزایش مـی‌یابـد و بـه طـور قطـع، RCT (Randomised controlled trials) را تغییر می‌دهـد، روشن می‌کند که RCT یک مکانیسم پیچیده‌ای اسـت که واکنش‌های متقابل زیادی را درگیر می‌کند و HDL بالا ممکـن اسـت یـک قسـمت (جـزء) کـوچکی از مکانیسم‌هـای مسـؤول کـاهش احتمـال خطـر CHD (Coronary heart disease) باشـد. عـلاوه بـر ایـن، HDL نقش حساس دیگری در کاهش احتمـال خطـر CHD دارد که بیشتر از طریق تأثیر گذاشـتن بـر روی اکسایش LDL این نقش را نشان می‌دهد.

همچنین به نظر می‌رسد HDL تجزیه‌ی رسـوبات چربـی موجـود را تسـهیل مـی‌کنـد. در واقـع، HDL می‌تواند به طور مستقیم نسوج محیطی را از کلسترول تخلیه کند و یا با مبادله‌ی واسطه‌ای لیپـوپروتئین‌هـای خیلی سبک را به کبد برساند (۳۰).

HDL یک نقش بسیار مهـم را در مسـیر حمـل و نقل کلسترول دارد و مقدار آن بـا توجـه بـه مقـدار و شـدت تمـرین افـزایش مـی‌یابـد (۳۱). همچنـین در چندین گزارش (اما نـه همـه‌ی گـزارش‌هـا) افـزایش HDL پلاسما با کاهش وزن و تری‌گلیسرید پلاسمای بدن مرتبط است (۳۲-۳۱) که در ظاهر، این تغییـرات باعث بهبود حساسیت انسـولین مـی‌شـود (۳۳، ۲۸). یکی از علت‌هـای احتمـالی افـزایش HDL، افـزایش فعالیـت آنـزیم لیپـوپروتئین لیپـاز LPL (Lipoprotein lipase) در نتیجـه‌ی فعالیـت بـدنی می‌باشد (۳۳).

آنزیم LPL در تبدیل VLDL به HDL مؤثر است و بـا افـزایش فعالیـت آن، سـطح HDL-c افـزایش می‌یابد. از طرفی، لیستین کلسـترول آسـیل ترانسـفراز (Lecithin-cholesterol acyltransferase یـا LCAT) علاوه بر LDL، کلسـترول را بـه ذرات HDL تبـدیل می‌کنـد. ممکـن اسـت افـزایش ایـن آنـزیم مسـؤول افزایش HDL ناشی از تمرین باشـد (۳۴). نشـان داده شده است که LCAT به میـزان زیـادی در بعضـی از تمرین‌های ورزشی افزایش داشته است (۳۵-۳۴).

همچنین به نظر می‌رسد فعالیت‌های ورزشی سـبب

افزایش لیپولیز و کاهش اسیدهای چرب در خود عضلات نیز می‌شوند (۳۷-۳۶)؛ به طوری که افزایش فعالیت LPL تجزیه‌ی گلیسرول در VLDL را تسریع می‌کند و موجب حذف ذره‌های لیپوپروتئینی می‌شود. این موضوع به نوبه‌ی خود قشر مازاد چربی (کلسترول آزاد و فسفولیپید) را به وجود می‌آورد که به HDL منتقل می‌شود و سبب افزایش آن می‌گردد (۳۷).

علاوه بر این علت احتمالی دیگر، افزایش HDL افزایش تولید HDL توسط کبد در پی تغییر فعالیت آنزیم LPL و کاهش لیپاز کبدی به دنبال فعالیت بدنی می‌باشد (۳۷). احتمال می‌رود مکانیزم‌های دیگری مثل کاهش حساسیت انسولین که تغییراتی در سطح چربی‌ها و لیپوپروتئین‌های خونی ایجاد می‌کند، می‌تواند در این زمینه تأثیرگذار باشد (۳۸).

در این پژوهش اثر معنی‌دار ورزش بر روی سطح LDL و سطح TC مشاهده نشد، اما احتمال دارد اندازه‌ی ذرات LDL در پاسخ به ورزش تغییر یابد.

در یک جلسه ی تمرینی، در صورتی که مصرف انرژی بالا باشد، امکان کاهش غلظت کلسترول پلاسما وجود دارد. یک چنین تمرینی می تواند غلظت HDL را افزایش دهد. تغییرات متضاد بین افزایش HDL و کاهش در تری گلیسیرید و VLDL شاید به علت افزایش فعالیت آنزیم LPL باشد که موجب تجزیه‌ی تری آسیل گلیسرول موجود در VLDL و در نتیجه، باعث کاهش لیپوپروتئین می شود. این امر موجب انتقال کلسترول های آزاد و فسفولیپیدهای مازاد به HDL می‌گردد.

علاوه بر این، فعالیت ورزشی از طریق فعال کردن LCAT، ذرات HDL را تغذیه می کند. فعالیت بدنی مزمن می‌تواند غلظت کلسترول تام در پلاسما و توزیع آن در LDL و HDL را تحت تأثیر قرار دهد. غلظت کلسترول تام در پلاسما با وزن رابطه‌ی مستقیم دارد و امکان دارد یکی از مکانیسم‌های کاهش کلسترول تام توسط تمرین هوازی، کاهش وزن بدن توسط این تمرین‌ها در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در این مطالعه باشد (۳۹).

فعالیت ورزشی هوازی برای بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ پیشنهاد می‌شود؛ زیرا فواید زیادی را برای این بیماران به همراه دارد. اما پژوهش‌های اخیر بر تأثیر فعالیت ورزشی مقاومتی در کنار فعالیت ورزشی هوازی تأکید می‌کنند؛ به صورتی که افزایش HDL خون، بهبود عملکرد قلب، کاهش فشار خون، افزایش حساسیت انسولین و کنترل قند خون و نیز افزایش قدرت و استقامت عضلات از فواید مهم فعالیت مقاومتی برای بیماران مبتلا به دیابت به شمار می‌آیند (۴۰).

یافته‌های پژوهش حاضر اثرات مفید و غیر قابل انکار فعالیت ورزشی را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ تأیید می‌کند. تمرین‌های هوازی و مقاومتی هر کدام به تنهایی نقش مثبتی در کاهش شاخص‌های گلایسمیک و جلوگیری از عوامل خطرزای بیماری‌های قلبی و عروقی بازی می‌کنند. همان‌طور که در پژوهش حاضر نشان داده شد، تمرین‌های مقاومتی و هوازی موجب افزایش میزان HDL در این بیماران شد. همچنین تمرین‌های هوازی به تنهایی، موجب کاهش کلسترول تام گردید. هر دو ورزش هوازی و ورزش مقاومتی، نقش بسیار مهم در جلوگیری و کنترل مقاومت انسولین در دیابت نوع ۲ دارد؛ اما هر دو نوع ورزش باید به طور منظم و مداوم انجام گیرد تا مفید واقع شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت‌های مالی و همکاری‌های بی‌دریغ معاونت پژوهشی دانشکده‌ی تربیت بدنی دانشگاه اصفهان و همه‌ی عزیزانی که در انجام این پژوهش همکاری داشتند، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

1. Stehno-Bittel L. Organ-based response to exercise in type 1 diabetes. ISRN Endocrinol 2012; 2012: 318194.
2. Waryasz GR, McDermott AY. Exercise prescription and the patient with type 2 diabetes: a clinical approach to optimizing patient outcomes. J Am Acad Nurse Pract 2010; 22(4): 217-27.
3. American Diabetes Association. Clinical practice recommendations. Washington, DC: ADA; 2008.
4. LeMura LM, von Duvillard SP. Clinical exercise physiology: application and physiological principles. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2004.
5. Larijani B. Diabetes and exercise. Tehran, Iran: Institute of Endocrinology and Metabolism; 2010. p. 4-15. [In Persian].
6. American College of Sports Medicine, Larry Durstine J, Moore G, Painter P, Roberts S. ACSM's exercise management for persons with chronic diseases and disabilities. Champaign, IL: Human Kinetics; 2009.
7. Bacchi E, Negri C, Trombetta M, Zanolin ME, Lanza M, Bonora E, et al. Differences in the acute effects of aerobic and resistance exercise in subjects with type 2 diabetes: results from the RAED2 Randomized Trial. PLoS One 2012; 7(12): e49937.
8. Escribano GS, Vega Alonso AT, Lozano AJ, Alamo SR, Lleras MS, Castrodeza SJ, et al. Obesity in castile and leon, Spain: epidemiology and association with other cardiovascular risk factors. Rev Esp Cardiol (Engl Ed) 2011; 64(1): 63-6.
9. Hu FB, Li TY, Colditz GA, Willett WC, Manson JE. Television watching and other sedentary behaviors in relation to risk of obesity and type 2 diabetes mellitus in women. JAMA 2003; 289(14): 1785-91.
10. Piarulli F, Sartore G, Lapolla A. Glyco-oxidation and cardiovascular complications in type 2 diabetes: a clinical update. Acta Diabetol 2013; 50(2): 101-10.
11. Zanuso S, Jimenez A, Pugliese G, Corigliano G, Balducci S. Exercise for the management of type 2 diabetes: a review of the evidence. Acta Diabetol 2010; 47(1): 15-22.
12. American College of Sports Medicine̋ ACSM's resource manual for guidelines for exercise testing and prescription. 7th ed. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer Health; 2013.
13. Rahl RL. Physical activity and health guidelines: recommendations for various ages, fitness levels, and conditions from 57 authoritative sources. 1st ed. Champaign, IL: Human Kinetics; 2010.
14. Marwick TH, Hordern MD, Miller T, Chyun DA, Bertoni AG, Blumenthal RS, et al. Exercise training for type 2 diabetes mellitus: impact on cardiovascular risk: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation 2009; 119(25): 3244-62.
15. Balducci S, Leonetti F, Di MU, Fallucca F. Is a long-term aerobic plus resistance training program feasible for and effective on metabolic profiles in type 2 diabetic patients? Diabetes Care 2004; 27(3): 841-2.
16. Dunstan DW, Daly RM, Owen N, Jolley D, De Court, Shaw J, et al. High-intensity resistance training improves glycemic control in older patients with type 2 diabetes. Diabetes Care 2002; 25(10): 1729-36.
17. Gordon LA, Morrison EY, McGrowder DA, Young R, Fraser YT, Zamora EM, et al. Effect of exercise therapy on lipid profile and oxidative stress indicators in patients with type 2 diabetes. BMC Complement Altern Med 2008; 8: 21.
18. Rahimi N, Marandi SM, Kargarfard M. Effect of 8 weeks of water-based exercise on lipid profile in patients with type II diabetes. J Isfahan Med Sch 2011; 29(148): 988-96. [In Persian].
19. Misra A, Alappan NK, Vikram NK, Goel K, Gupta N, Mittal K, et al. Effect of supervised progressive resistance-exercise training protocol on insulin sensitivity, glycemia, lipids, and body composition in Asian Indians with type 2 diabetes. Diabetes Care 2008; 31(7): 1282-7.
20. Honkola A, Forsen T, Eriksson J. Resistance training improves the metabolic profile in individuals with type 2 diabetes. Acta Diabetol 1997; 34(4): 245-8.

21. Yang K, Bernardo LM, Sereika SM, Conroy MB, Balk J, Burke LE. Utilization of 3-month yoga program for adults at high risk for type 2 diabetes: a pilot study. Evid Based Complement Alternat Med 2011; 2011: 257891.
22. Sigal RJ, Kenny GP, Boule NG, Wells GA, Prud'homme D, Fortier M, et al. Effects of aerobic training, resistance training, or both on glycemic control in type 2 diabetes: a randomized trial. Ann Intern Med 2007; 147(6): 357-69.
23. Castaneda C, Layne JE, Munoz-Orians L, Gordon PL, Walsmith J, Foldvari M, et al. A randomized controlled trial of resistance exercise training to improve glycemic control in older adults with type 2 diabetes. Diabetes Care 2002; 25(12): 2335-41.
24. Lapolla A, Piarulli F, Sartore G, Ceriello A, Ragazzi E, Reitano R, et al. Advanced glycation end products and antioxidant status in type 2 diabetic patients with and without peripheral artery disease. Diabetes Care 2007; 30(3): 670-6.
25. NIH Consensus conference. Triglyceride, high-density lipoprotein, and coronary heart disease. NIH Consensus Development Panel on Triglyceride, High-Density Lipoprotein, and Coronary Heart Disease. JAMA 1993; 269(4): 505-10.
26. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, et al. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. Circulation 1999; 100(10): 1134-46.
27. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. Circulation 1989; 79(1): 8-15.
28. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. N Engl J Med 2002; 347(19): 1483-92.
29. Trovati M, Carta Q, Cavalot F, Vitali S, Banaudi C, Lucchina PG, et al. Influence of physical training on blood glucose control, glucose tolerance, insulin secretion, and insulin action in non-insulin-dependent diabetic patients. Diabetes Care 1984; 7(5): 416-20.
30. Kelley DE, Goodpaster BH. Effects of exercise on glucose homeostasis in Type 2 diabetes mellitus. Med Sci Sports Exerc 2001; 33(6 Suppl): S495-S501.
31. Ribeiro IC, Iborra RT, Neves MQ, Lottenberg SA, Charf AM, Nunes VS, et al. HDL atheroprotection by aerobic exercise training in type 2 diabetes mellitus. Med Sci Sports Exerc 2008; 40(5): 779-86.
32. Umpierre D, Ribeiro PA, Kramer CK, Leitao CB, Zucatti AT, Azevedo MJ, et al. Physical activity advice only or structured exercise training and association with HbA1c levels in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. JAMA 2011; 305(17): 1790-9.
33. Duncan GE, Perri MG, Theriaque DW, Hutson AD, Eckel RH, Stacpoole PW. Exercise training, without weight loss, increases insulin sensitivity and postheparin plasma lipase activity in previously sedentary adults. Diabetes Care 2003; 26(3): 557-62.
34. Ferguson MA, Alderson NL, Trost SG, Essig DA, Burke JR, Durstine JL. Effects of four different single exercise sessions on lipids, lipoproteins, and lipoprotein lipase. J Appl Physiol (1985) 1998; 85(3): 1169-74.
35. Kantor MA, Cullinane EM, Sady SP, Herbert PN, Thompson PD. Exercise acutely increases high density lipoprotein-cholesterol and lipoprotein lipase activity in trained and untrained men. Metabolism 1987; 36(2): 188-92.
36. Durstine JL, Grandjean PW, Davis PG, Ferguson MA, Alderson NL, DuBose KD. Blood lipid and lipoprotein adaptations to exercise: a quantitative analysis. Sports Med 2001; 31(15): 1033-62.
37. Ranallo RF, Rhodes EC. Lipid metabolism during exercise. Sports Med 1998; 26(1): 29-42.
38. Ersoy C, Imamoglu S, Budak F, Tuncel E, Erturk E, Oral B. Effect of amlodipine on insulin resistance & tumor necrosis factor-alpha levels in hypertensive obese type 2 diabetic patients. Indian J Med Res 2004; 120(5): 481-8.
39. Mougios V. Exercise Biochemistry. Champaign, IL: Human Kinetics; 2006.
40. Soukup JT, Maynard TS, Kovaleski JE. Resistance training guidelines for individuals with diabetes mellitus. Diabetes Educ 1994; 20(2): 129-37.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 06.03.2014
Vol. 32, No. 282, 3rd Week, June 2014
Accepted: 28.04.2014

Comparison of the Effects of 8-Weeks Aerobic Training and Resistance Training on Lipid Profile in Patients with Diabetes Type 2

Amin Eatemady-Boroujeni MSc[1], Mehdi Kargarfard PhD[2], Hosein Mojtahedi PhD[3], Reza Rouzbehani MD[4], Hosein Dastbarhagh MSc[1]

Original Article

Abstract

Background: In the recent studies, effects of the physical activity and regular exercise in preventing and postponing diabetes type 2, increase in insulin sensitivity, and improvement in glucose metabolism has been observed. Purpose of this study was to survey the effects of aerobic training and resistance training on lipid profile in patients with diabetes type 2.

Methods: 45 patients with diabetes type 2 were selected by the targeted sampling method and divided into two aerobic training, resistance experimental, and control groups. Experimental groups exercised for 8 week, 3 sessions per week, each session 45 to 70 minutes. In this period, the control group had no regular exercise. In this study, multiple variables like triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein (LDL) and high-density lipoprotein (HDL) was measured before and after training course. Finally, the results were analyzed using repeated measure test in significance level of 95%.

Findings: Results of this study showed a significant improvement in TG and HDL levels after aerobic training course and meaningful improvement in HDL level after resistance training course.

Conclusion: Aerobic training course had more effect on improvement of lipid profile rather than resistance training course.

Keywords: Diabetes type 2, Aerobic training, Resistance training, Lipid profile

Citation: Eatemady-Boroujeni A, Kargarfard M, Mojtahedi H, Rouzbehani R, Dastbarhagh H. **Comparison of the Effects of 8-Weeks Aerobic Training and Resistance Training on Lipid Profile in Patients with Diabetes Type 2**. J Isfahan Med Sch 2014; 32(282): 524-33

1- PhD Student, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
4- Assistant Professor, Department of Community Medicine, School of Medical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mehdi Kargarfard PhD, Email: kargar_m46@yahoo.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۸۲/هفته سوم خرداد ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۱۵

جداسازی پلاسماسل از خون محیطی و هم‌کشتی با سلول استرومای مغز استخوان به منظور کشت طولانی مدت

معصومه بزاز[۱]، دکتر جلیل فلاح مهرآبادی[۲]، دکتر مهدی مهدوی[۳]، دکتر مهدی زین‌الدینی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: فن‌آوری تهیه‌ی آنتی بادی بر پایه‌ی تک سلول B روشی نوین در تهیه‌ی آنتی بادی مونوکلونال انسانی محسوب می‌گردد. مهم‌ترین بخش این فن‌آوری، کشت طولانی مدت پلاسماسل جدا شده از خون جهت ترشح آنتی بادی است. با توجه به این که دلیل زنده ماندن طولانی مدت پلاسماسل‌ها در مغز استخوان حضور سیگنال‌های اطراف آن‌ها است، جهت کشت پلاسماسل در شرایط In vitro لازم است این سیگنال‌ها به واسطه‌ی حضور یک لایه سلول تغذیه کننده تأمین شوند. به نظر می‌رسد که از میان انواع مختلف این سلول‌ها، سلول‌های استرومای مغز استخوان (BMSCs یا Bone marrow stromal cells) گزینه‌ی مناسب‌تری جهت هم‌کشتی با پلاسماسل محسوب می‌گردند. هدف از این پژوهش، جداسازی پلاسماسل‌های ترشح کننده‌ی آنتی بادی از خون محیطی و زنده نگهداشتن آن‌ها در شرایط In vitro می‌باشد.

روش‌ها: پس از تزریق واکسن کزاز، تیتر آنتی بادی در سرم خون افراد داوطلب با روش ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) اندازه‌گیری شد. PBMCs (Peripheral blood mononuclear cells) جدا شده از خون فرد ایمن با آنتی بادی‌های رنگی اختصاصی سه نشانگر سطحی CD۴۵، CD۱۹ و CD۳۸ رنگ‌آمیزی شدند. پس از آن پلاسماسل‌ها به روش FACS (Fluorescence-activated cell sorting) از سایر جمعیت‌های سلولی موجود، جدا و در پلیت ۹۶ خانه‌ای Sort شدند. سپس همراه با یک لایه BMSCs کشت داده شدند. پس از گذشت ۱۰ روز، از پلاسماسل‌ها RNA استخراج شد و واکنش RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن آنتی بادی انجام شد.

یافته‌ها: روز ششم پس از واکسیناسیون، تیتر آنتی بادی سرم، ۱۶ IU/ml به دست آمد که نشان از پاسخ ایمنی بسیار مناسب در مقابل واکسن کزاز بود. همچنین، آنالیز فلوسایتومتری نمونه‌ی خون محیطی فرد ایمن شده در روز هفتم، درصد پلاسماسل موجود در PBMCs را حدود ۰/۳ درصد نشان داد. در نتیجه‌ی انجام واکنش RT-PCR با پرایمرهای اختصاصی ژن آنتی بادی، قطعه‌ی VH (Variable heavy chain) به طول ۴۰۰ bp تکثیر شد. این نتیجه، زنده بودن پلاسماسل‌ها و همچنین بیان ژن آنتی بادی را در روز دهم در شرایط هم‌کشتی با BMSCs تأیید نمود.

نتیجه‌گیری: حاصل این پژوهش، فراهم آوردن شرایط مناسب به منظور کشت پلاسماسل برای مدت ۱۰ روز در محیط In vitro بود. بنابراین بخشی از فن‌آوری نوین تهیه‌ی آنتی بادی بر پایه‌ی تک سلول B نیز پایه‌گذاری شد. نتایج به دست آمده در این پژوهش شامل درصد پلاسماسل موجود در PBMCs و اندازه‌ی قطعه‌ی ژنی VH تکثیر شده، با سایر مطالعات انجام شده در این زمینه مطابقت داشت.

واژگان کلیدی: آنتی بادی مونوکلونال انسانی، پلاسماسل، سلول استرومای مغز استخوان، FACS، هم‌کشتی

ارجاع: بزاز معصومه، فلاح مهرآبادی جلیل، مهدوی مهدی، زین‌الدینی مهدی. **جداسازی پلاسماسل از خون محیطی و هم‌کشتی با سلول استرومای مغز استخوان به منظور کشت طولانی مدت.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۲): ۵۴۳-۵۳۴

۱- کارشناس ارشد، پژوهشکده‌ی علوم و فناوری زیستی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران
۲- استادیار، پژوهشکده‌ی علوم و فناوری زیستی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران
۳- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر جلیل فلاح مهرآبادی
Email: Jalil.fallah@gmail.com

مقدمه

امروزه آنتی بادی‌ها به ابزارهای قدرتمندی در درمان بیماری‌ها تبدیل شده‌اند. آنتی بادی‌های به طور کامل انسانی (Human monoclonal antibodies یا hMAbs) به عنوان بهترین آنتی بادی‌های مونوکلونال درمانی معرفی شده‌اند. از میان تکنولوژی‌های تهیه‌ی hMAbs ، تکنولوژی بر پایه‌ی تک سلول B (Single B cell antibody technology) به دلیل ایجاد آنتی بادی با کمترین میزان ایمونوژنیسیته و بیشترین کارایی نسبت به سایر تکنولوژی‌ها، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (۱). یکی از مراحل مهم در این تکنولوژی، کشت پلاسماسل‌های جدا شده از خون محیطی در شرایط In vitro به منظور ترشح آنتی بادی است (۲).

پلاسماسل‌ها آخرین مرحله از تمایز لنفوسیت‌های B می‌باشند که مسؤولیت مهم آن‌ها ترشح میزان بسیار زیاد آنتی بادی جهت ایجاد ایمنی هومورال در برابر عامل بیگانه است؛ بنابراین به گونه‌ای تمایز یافته‌اند که حدود ۷۰-۴۰ پیکوگرم در روز آنتی بادی ترشح نمایند. دیگر ویژگی‌های پلاسماسل عبارتند از افزایش وسعت شبکه‌ی آندوپلاسمی، حضور مقدار بسیار زیادی ریبوزوم در سیتوپلاسم سلول و همچنین بیان بالای آنتی ژن‌های سطحی CD۳۸ و CD۱۳۸ این ویژگی‌ها، پلاسماسل‌ها را از سایر لنفوسیت‌های B متمایز می‌سازد (۵-۳).

پلاسماسل‌ها طی پاسخ ایمنی هومورال و از تمایز سلول‌های B ایجاد می‌گردند. پاسخ ایمنی هومورال در بافت‌های لنفاوی محیطی آغاز می‌گردد. از اولین برخورد آنتی ژن با سلول‌های B بالغ در طحال یا غدد لنفاوی تا تبدیل آن‌ها به پلاسماسل و ورود به خون، مدت ۸-۶ روز به طول می‌انجامد. در این سه روز، موج عظیمی از پلاسمابلاست‌های اختصاصی آنتی ژن وارد سیستم گردش خون می‌شوند تا به سمت مغز استخوان حرکت کنند و در آن جا مستقر شوند (۷-۶).

با وجود این که پلاسماسل‌ها برای مدت زمان بسیار طولانی در مغز استخوان زنده می‌مانند و آنتی بادی ترشح می‌کنند، اما در شرایط In vitro بیش از یک روز زنده نخواهند ماند (۸). تحقیقات نشان داده‌اند که علت زنده ماندن طولانی پلاسماسل‌ها در مغز استخوان، حضور سیگنال‌هایی است که از سلول‌های استرومای مغز استخوان موجود در محیط زندگی طبیعی پلاسماسل ترشح می‌شود. برخی از این سیگنال‌ها در اثر ارتباط سلول- سلول و برخی دیگر به واسطه‌ی حضور سیتوکین‌های ترشح شده در محیط، موجب زنده ماندن طولانی پلاسماسل می‌گردند. مهم‌ترین محرک‌هایی که جهت زنده ماندن پلاسماسل در محیط کشت لازم هستند شامل IL-۶ (Interleukin-۶)، IL-۵ (Interleukin-۵) و TNF-α (Tumor necrosis factor alpha) می‌باشد (۴)؛ بنابراین در صورت کشت پلاسماسل در شرایط In vitro لازم است این عوامل در محیط کشت حضور داشته باشند تا پلاسماسل‌ها برای مدت چند روز در محیط کشت زنده بمانند و آنتی بادی ترشح نمایند (۴).

پلاسماسل‌ها با اهداف مختلفی در محیط In vitro کشت داده شده‌اند، سپس سوپ رویی آن‌ها جهت آنالیز آنتی بادی ترشح شده، مورد استفاده گرفته است. کشت پلاسماسل، اولین بار در دهه‌ی ۱۹۷۰ با هدف انجام تحقیقات بر روی

بیماری مولتیپل میلوما آغاز شد (۵). از آن زمان، کشت پلاسماسل با اهداف مختلفی چون بررسی بدخیمی‌های پلاسماسل، بیماری‌های خود ایمنی، تعیین پاسخ آنتی بادی نسبت به آنتی ژن خاص و در نهایت، تهیه‌ی آنتی بادی درمانی انسانی انجام شده است (۶).

با توجه به موارد ذکر شده، زنده نگه داشتن پلاسماسل در محیط کشت نیازمند به حضور یک لایه سلول به عنوان تغذیه کننده می‌باشد (۸-۷، ۳). سلول‌های تغذیه کننده، وظیفه‌ی تأمین عوامل رشد و همچنین برقراری ارتباط سلول- سلول با پلاسماسل، جهت انتقال سیگنال‌های زنده ماندن سلول را بر عهده دارند (۱۰-۹). تا کنون از سلول‌های مختلفی مانند فیبروبلاست پوست و مزانشیم استرومای مغز استخوان BMSC (Bone marrow stromal cell) به عنوان تغذیه کننده جهت کشت پلاسماسل طبیعی و بدخیم استفاده شده است (۴، ۲).

با توجه به این که در ایران اکثر داروهای نوترکیب به ویژه آنتی بادی‌های درمانی، وارداتی هستند و خرید هر دوز از دارو، مستلزم پرداخت هزینه‌ی سنگینی می‌باشد، پایه‌گذاری تکنولوژی‌های تهیه‌ی آنتی بادی‌های مونوکلونال درمانی امری ضروری به شمار می‌رود. در این تحقیق تلاش شده است تا با فراهم آوردن شرایط کشت پلاسماسل در محیط In vitro، بخشی از تکنولوژی تهیه‌ی آنتی بادی بر پایه‌ی تک سلول B را راه‌اندازی نماییم. هدف از این تحقیق، فراهم آوردن شرایط مناسب جهت جداسازی، کشت و زنده نگه‌داشتن پلاسماسل در In vitro برای مدت طولانی جهت ترشح آنتی بادی بوده است.

روش‌ها

جهت جداسازی، کشت و زنده نگه داشتن پلاسماسل‌ها ابتدا سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی PBMCs (Peripheral blood mononuclear cells)، هفت روز پس از واکسیناسیون، از خون فرد واکسینه شده علیه توکسوئید کزاز، جداسازی شدند. سپس با آنتی بادی مونوکلونال کانژوگه به رنگ فلورسانس و بر اساس الگوی سه رنگی CD۴۵-PerCp، CD۱۹-Alexa flour۴۴۸ و CD۳۸-PE رنگ‌آمیزی شدند. پس از آماده‌سازی نمونه، پلاسماسل‌ها از میان سایر سلول‌های تک هسته‌ای خون به روش FACS (Fluorescence-activated cell sorting) جداسازی شدند. پس از ۱۰ روز کشت در حضور سلول‌های استرومای مغز استخوان، زنده بودن پلاسماسل و همچنین بیان ژن آنتی بادی توسط واکنش RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) مورد بررسی قرار گرفت.

انتخاب داوطلب بر اساس تیتر آنتی بادی سرم بعد از واکسیناسیون

تعدادی از افراد به عنوان داوطلب انتخاب و از آن‌ها سرم صفر گرفته شد. سپس با واکسن کزاز (بخش واکسیناسیون انستیتو پاستور ایران) واکسینه شدند. ۶ روز پس از واکسیناسیون، دوباره از افراد سرم تهیه شد و با استفاده از کیت الایزا اختصاصی توکسین کزاز (شرکت IBL)، تیتر آنتی بادی اختصاصی کزاز در سرم صفر و سرم پس از واکسیناسیون برای هر فرد اندازه‌گیری شد. در این میان، فردی که تفاوت تیتر آنتی بادی در سرم قبل و پس از واکسیناسیون او بیشتر بود، انتخاب شد. همچنین در روز ششم پس از واکسیناسیون، جهت تعیین درصد پلاسماسل موجود

در خون محیطی، از فرد خون گرفته شد و آنالیز فلوسایتومتری بر روی خون کامل توسط دستگاه FACS Caliber موجود در بخش فلوسایتومتری در پژوهشکده‌ی سلول‌های بنیادی پژوهشگاه رویان انجام شد.

جداسازی پلاسماسل از خون محیطی

روز هفتم پس از واکسیناسیون، ۱۰ میلی‌لیتر خون در Vacutainer حاوی Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (شرکت BD) جمع‌آوری شد و به نسبت ۱:۱ با PBS/EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Phosphate buffered saline/acid) رقیق شد، سپس به نسبت ۱:۲ بر روی فایکول منتقل شد. سانتریفوژ با دور g ۴۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه و بدون توقف انجام شد. لایه‌ی بافیکوت از مرز میان پلاسما و فایکول برداشته شد و با PBS/EDTA شستشو داده شد. در نهایت، رسوب سلولی حاصل در RPMI (Roswell Park memorial institute) کامل به حالت سوسپانسیون درآمد. پس از شمارش سلول‌ها، درصد زنده بودن آن‌ها نیز مشخص شد. سپس آنتی بادی‌های رنگی CD۴۵-PerCp، Alexaflou۴۴۸-CD۱۹ و CD۳۸-PE به سلول‌ها اضافه شدند. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از شستشو و حذف آنتی بادی‌های اتصال نیافته، سلول‌ها به روش FACS با استفاده از دستگاه Cell Sorter BD FACS Aria II در پلیت ۹۶ خانه‌ای Sort شدند.

کشت و شناسایی پلاسماسل

پلاسماسل‌های جدا شده به روش FACS (Fluorescent activated cell sorting)، در پلیت ۹۶ خانه‌ای و در محیط RPMI کامل، بر روی یک لایه سلول استرومای مغز استخوان که از قبل در پلیت ۹۶ خانه‌ای قرار داده شده بودند، کشت داده شدند. جهت آماده‌سازی سلول بنیادی مزانشیم مغز استخوان، پس از تحویل سلول‌ها از بانک سلول‌های بنیادی پژوهشگاه رویان، ابتدا اجازه داده شد تا سلول‌ها تکثیر یابند تا زمانی که حدود ۹۰ درصد سطح فلاسک را اشغال نمایند. سپس با استفاده از تریپسین از سطح فلاسک جدا و پس از شمارش در پلیت ۹۶ خانه‌ای، کشت داده شدند. پس از گذشت ۱۰ روز از کشت پلاسماسل، واکنش RT-PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی ناحیه‌ی متغیر زنجیره‌ی سنگین VH (Variable heavy chain) آنتی بادی انجام شد. برای این منظور ابتدا RNA تام با استفاده از کیت شرکت Signosis از پلاسماسل‌ها استخراج شد و واکنش رونوشت‌برداری معکوس با استفاده از کیت سنتز cDNA (Complementary DNA) شرکت فرمنتاز انجام شد. جهت تکثیر ناحیه‌ی سنگین آنتی بادی، cDNA ساخته شده به عنوان الگو در واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. شرایط انجام واکنش در جداول ۱ و ۲ مشخص شده است.

یافته‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمایش الایزا و فلوسایتومتری مشخص شد که افراد واکسینه شده، هر کدام پاسخ متفاوتی نسبت به واکسن داشتند. این نتیجه زمانی مشخص شد که اختلاف تیتر IgG (Immunoglobulin G) اختصاصی کزاز در سرم قبل و بعد از واکسیناسیون افراد سنجیده شد (جدول ۳).

جدول ۱. شرایط بافری RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) جهت تکثیر قطعات VH (Variable heavy chain)

نام ماده	Taq 2x master mix	Total	H_2O	Templet (cDNA)	VH Primers	
					IgG	VH
مقدار	۱x	۲۵ µl	۷/۵ µl	۳ µl	۰/۴mM	۰/۴mM

IgG: Immunoglobulin G; cDNA: Complementary DNA

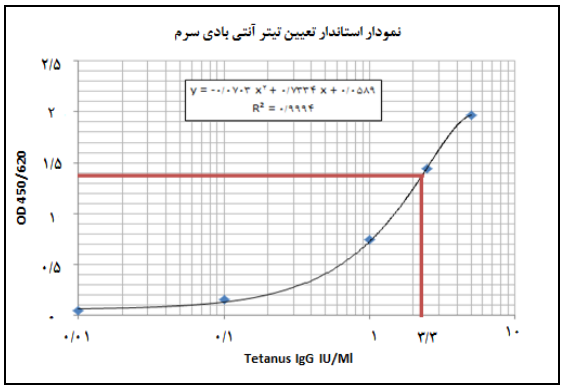
جدول ۲. شرایط دمایی RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) جهت تکثیر قطعات VH (Variable heavy chain)

تعداد چرخه	مرحله	زمان	دما
Cycle۳۵	Denature	۳۰ (ثانیه)	۹۴ °C
	Annealing	۳۰ (ثانیه)	۶۲ °C
	Extension	۱ (دقیقه)	۷۲ °C
Final Extention		۵ (دقیقه)	۷۲ °C

جدول ۳. نتیجه‌ی الایزا جهت تعیین تیتر سرم افراد داوطلب، قبل و بعد از تزریق واکسن

داوطلب	جنسیت	سن	(IU/ml) Tetanus IgG titer		اختلاف تیتر
			قبل از واکسن	بعد از واکسن	
۱	زن	۲۶	۳/۳	۳/۷	۰/۴
۲	مرد	۴۰	۰/۵	۱۶/۵	۱۶/۰
۳	مرد	۲۳	۴/۵	۱۰/۰	۵/۵
۴	زن	۲۵	۳/۷	۸/۰	۴/۷

IgG: Immunoglobulin G

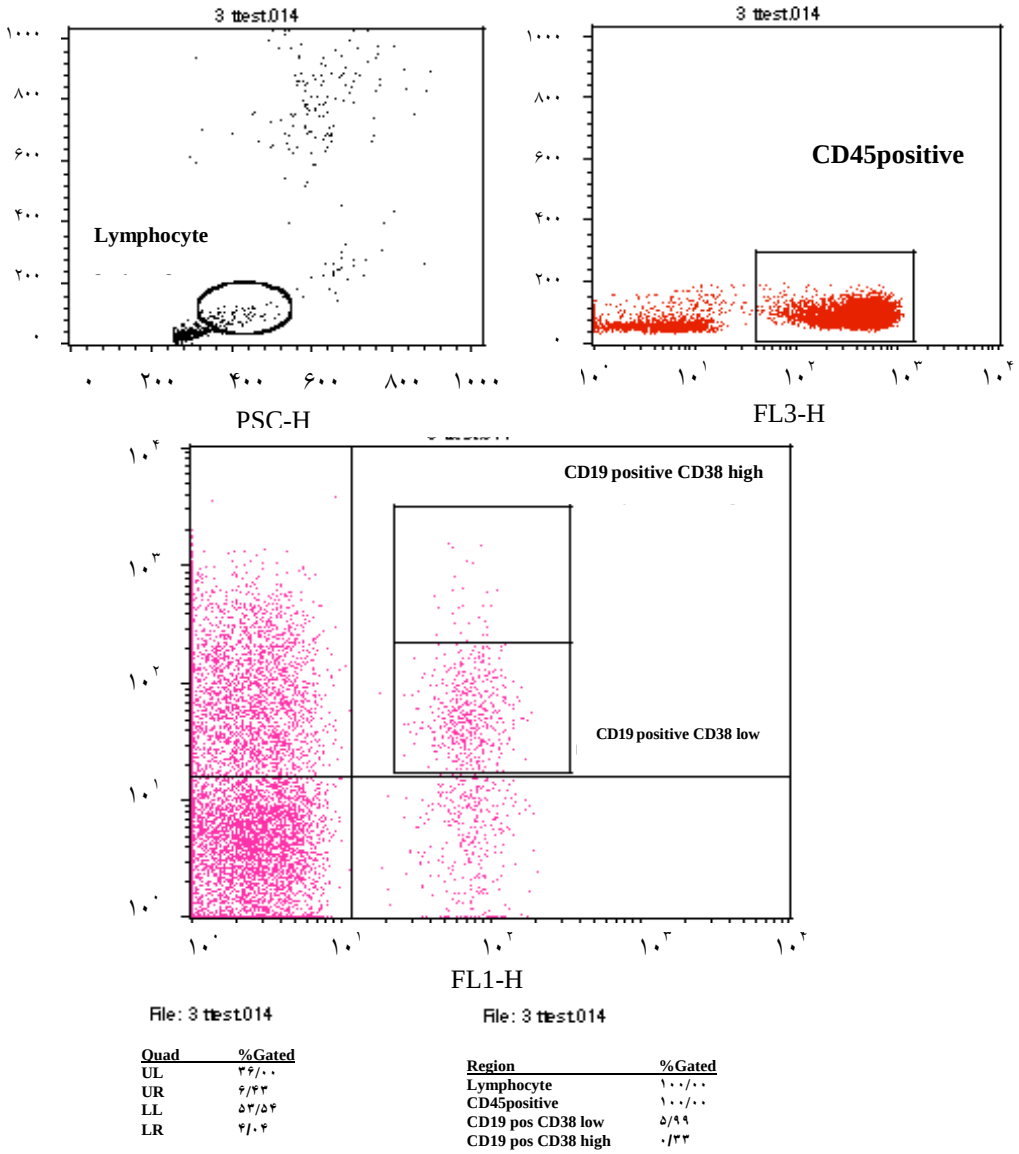


شکل ۱. نمودار استاندارد جهت تعیین تیتر سرم بر اساس IU/ml

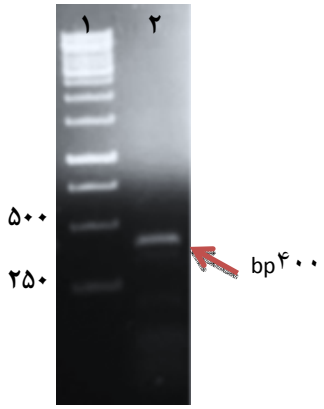
بر اساس نمودار استاندارد (شکل ۱) و با توجه به نتایج حاصل از واکنش الایزا در رقت ۱/۵۰۰ سرم، اختلاف تیتر IgG اختصاصی کزاز در افراد داوطلب از ۰/۳ IU/mL تا ۱۶ IU/mL متفاوت بوده است. از میان داوطلبان، فردی که بیشترین اختلاف تیتر میان سرم صفر و پس از واکسیناسیون داشت، به عنوان دهنده‌ی پلاسماسل‌در نظر گرفته شد. تیتر آنتی بادی در خون وی حدود ۱۶/۵ IU/ml مشخص شد که با توجه به اطلاعات موجود در کیت الایزا شرکت IBL، نشان از پاسخ ایمنی بسیار مناسبی است. همچنین نتایج آنالیز فلوسایتومتری نمونه‌ی خون فرد ایمن در روز ششم و هفتم نشان داد که میزان پلاسماسل‌ها که همزمان سه شاخص سطحی CD۴۵، CD۱۹ و CD۳۸ را در سطح خود بیان می‌کنند، حدود ۰/۳ درصد است (شکل ۲).

روز هفتم پس از واکسیناسیون پلاسماسل‌ها از

میان سایر جمعیت‌های سلولی جداسازی و در پلیت ۹۶ خانه‌ای پوشیده شده با سلول‌های استرومای مغز استخوان، Sort شدند. پس از گذشت ۱۰ روز از هم‌کشتی پلاسماسل‌ها با سلول‌های BMSC، به ترتیب فرایندهای استخراج RNA، ساخت cDNA و در نهایت واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ناحیه‌ی VH بر روی آن‌ها انجام شد. در نتیجه‌ی انجام واکنش PCR بر روی Total cDNA به دست آمده از پلاسماسل‌ها، قطعه‌ی VH به طول ۴۰۰ bp تکثیر شد (شکل ۳).



شکل ۲. نتیجه‌ی حاصل از آنالیز داده‌های فلوسایتومتری. جهت انجام آنالیز ابتدا بر اساس نتیجه‌ی حاصل از نمونه‌ی ایزوتایپ کنترل و بر اساس گرانولوسیتی SSC (Side scatter) و اندازه‌ی FSC (Forward scatter) جمعیت‌های گرانولوسیت، مونوسیت و لنفوسیت از یکدیگر متمایز شد و جمعیت لنفوسیتی انتخاب گردید. پس از آن از میان جمعیت $CD۴۵^{+}$ (FL۳)، جمعیتی از سلول‌ها که بیان همزمان CD۱۹ (FL۱) و CD۳۸ (FL۲) را نشان می‌دادند، مشخص شدند.



شکل ۳. تصویر الکتروفورز نتیجه‌ی RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) جهت تکثیر قطعات VH (Variable heavy chain)
ردیف ۱. نشانگر Kb ۱. ردیف ۲. محصول PCR با پرایمر VH۱

با توجه به این که ژن آنتی بادی از مخزن RNA پلاسماسل‌ها تکثیر یافته است، مشخص شد که با استفاده از شرایط فراهم شده در این پژوهش و در صورت هم‌کشتی پلاسماسل با سلول‌های BMSC می‌توان پلاسماسل‌ها را برای مدت بیش از یک روز (۱۰ روز) در محیط In vitro زنده نگه داشت. همچنین مشخص شد که در این مدت، فرایند رونویسی و در نتیجه، بیان ژن آنتی بادی در پلاسماسل‌ها انجام شده است.

بحث

تکنولوژی‌های تهیه‌ی آنتی بادی‌های درمانی به طور کامل انسانی، در حال پیش‌روی به سمت جداسازی ژن آنتی بادی از تک سلول B ترشح کننده‌ی آنتی بادی می‌باشد. یکی از مراحل ضروری در این روش، کشت پلاسماسل برای مدت چند روز در محیط In vitro می‌باشد. پلاسماسل‌ها آخرین مرحله از تمایز سلول‌های B هستند و به طور خود به خود تقسیم و تکثیر نمی‌شوند. تکثیر آن‌ها تنها زمانی ممکن است که بدخیم شوند، مانند آن چه که در بیماری مولتیپل میلوما اتفاق می‌افتد. همچنین با وجود این که پلاسماسل‌ها برای مدت طولانی در شرایط In vivo زنده می‌مانند، در صورت کشت در محیط In vitro بیش از یک روز زنده نمی‌مانند (۱۰، ۴).

جهت زنده نگه داشتن پلاسماسل در محیط In vitro ، وجود سیتوکین‌هایی که در محیط زندگی طبیعی پلاسماسل موجب حفظ و زنده ماندن آن می‌گردند، بسیار ضروری است. در پژوهش‌هایی که در زمینه‌ی زنده نگه داشتن پلاسماسل انجام شده است، سیتوکین‌های لازم برای زنده نگه داشتن پلاسماسل‌ها به روش‌های مختلفی مانند کشت بر روی تک لایه‌ی فیبروبلاست پوست، استرومای مغز استخوان، PBMC و یا با استفاده از Condition medium حاصل از کشت آن‌ها تأمین شده‌اند (۱۱).

در برخی از پژوهش‌های انجام شده نیز از IL-۶ نوترکیب جهت زنده نگه داشتن پلاسماسل استفاده شده است (۱۲). در این پژوهش از سلول‌های استرومای مغز استخوان به عنوان سلول تغذیه کننده استفاده شد و نتایج حاصل نشان داد که شرایط ایجاد شده در این پژوهش، جهت کشت پلاسماسل به مدت ۱۰ روز در محیط In vitro مناسب می‌باشد.

همچنین مشخص شد که الگوی سه رنگی فلورسانس بر اساس نشانگرهای سطحی CD۴۵، CD۱۹ و CD۳۸ که در این پژوهش جهت جداسازی پلاسماسل مورد استفاده قرار گرفت، برای زمانی که منبع پلاسماسل، خون محیطی باشد، الگوی مناسبی است. این مورد در پژوهش انجام شده توسط Meijer و همکاران نیز به تأیید رسیده است (۱۴-۱۳).

همچنین درصد پلاسماسل موجود در خون محیطی در افراد مختلف متفاوت بود؛ به طوری که افرادی که تیتر بالاتری از آنتی بادی را در خون خود داشتند، درصد پلاسماسل آن‌ها نیز بیشتر بود. درصد پلاسماسل موجود در خون محیطی افراد واکسینه شده، بین ۰/۳-۰/۱ متغیر بود.

نتایج به دست آمده در این مرحله، با نتایج موجود در دیگر مطالعات مشابه مطابقت داشت؛ به طوری که در سایر مطالعات مشابه، درصد پلاسماسل موجود در خون محیطی در روز ششم تا هشتم پس از واکسیناسیون، در افراد مختلف حدود ۰/۴-۰/۱ گزارش شده بود (۱۸-۱۵). نتیجه‌ی دیگری که از این تحقیق حاصل شد، تناسب میان تیتر آنتی بادی موجود در سرم فرد با میزان پلاسماسل موجود در خون محیطی وی در روز ششم و هفتم پس از واکسیناسیون بود. همچنین در میان افراد داوطلب، فردی که پس از گذشت یک ماه از تزریق واکسیناسیون اول به وی یادآور تزریق شده بود، درصد پلاسماسل بیشتری را در مقایسه با افرادی که تنها یادآور ده ساله به آن‌ها تزریق شده بود، نشان داد.

پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش به گونه‌ای در نظر گرفته شده بودند که قطعه‌ی VH با طول حدود ۴۰۰ bp طی واکنش PCR تکثیر گردد. در مطالعات مشابه نیز اندازه‌ی قطعه VH از حدود ۴۰۰ bp تا ۵۶۰ bp متفاوت بوده است (۱۹). دلیل این اختلاف، تفاوت موجود در طول ناحیه‌ی CDR۳ در آنتی بادی‌های مختلف و همچنین انتخاب محل اتصال پرایمرها طی واکنش PCR می‌باشد. در این پژوهش، پرایمر Forward، اختصاصی ۹ آمینواسید ابتدای آمینو ناحیه‌ی متغیر زنجیره‌ی سنگین و پرایمر Reverse، اختصاصی آمینواسیدهای ۱۲۱-۱۱۵ از ناحیه‌ی CH۱ آنتی بادی IgG در نظر گرفته شد.

بر اساس نتایج حاصل و شرایط ایجاد شده در این پژوهش، مشخص شد که پلاسماسل‌ها را می‌توان با الگوی سه رنگی و به واسطه‌ی حضور همزمان نشانگرهای CD۴۵، CD۱۹ و CD۳۸ از خون محیطی جداسازی نمود. همچنین با شرایط ذکر شده در این پژوهش، امکان کشت و زنده نگه داشتن پلاسماسل‌های انسانی طبیعی برای مدت ۱۰ روز (بیش از یک روز) در محیط In vitro فراهم گشت. علاوه بر این، مشخص شد که پلاسماسل‌ها در این مدت ژن‌های مسؤول سنتز آنتی بادی را نیز بیان نموده‌اند.

تشکر و قدردانی

از همکاران پژوهشکده‌ی علوم و فن‌آوری زیستی دانشگاه صنعتی مالک اشتر و همچنین پژوهشگاه رویان که با رهنمودهای خود ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Tiller T. Single B cell antibody technologies. N Biotechnol 2011; 28(5): 453-7.
2. He XS, Sasaki S, Narvaez CF, Zhang C, Liu H, Woo JC, et al. Plasmablast-derived polyclonal antibody response after influenza vaccination. J Immunol Methods 2011; 365(1-2): 67-75.
3. Chu VT, Beller A, Nguyen TT, Steinhauser G, Berek C. The long-term survival of plasma cells. Scand J Immunol 2011; 73(6): 508-11.
4. Chu VT, Berek C. The establishment of the plasma cell survival niche in the bone marrow. Immunol Rev 2013; 251(1): 177-88.
5. Burk KH, Drewinko B, Turjillo JM, Ahearn MJ. Establishment of a human plasma cell line in

vitro. Cancer Res 1978; 38(8): 2508-13.
6. Sabrina Y, Ali M, Nakano H. In vitro generation of anti-hepatitis B monoclonal antibodies from a single plasma cell using single-cell RT-PCR and cell-free protein synthesis. J Biosci Bioeng 2010; 109(1): 75-82.
7. Moser K, Tokoyoda K, Radbruch A, MacLennan I, Manz RA. Stromal niches, plasma cell differentiation and survival. Curr Opin Immunol 2006; 18(3): 265-70.
8. Minges Wols HA, Underhill GH, Kansas GS, Witte PL. The role of bone marrow-derived stromal cells in the maintenance of plasma cell longevity. J Immunol 2002; 169(8): 4213-21.
9. Corti D, Voss J, Gamblin SJ, Codoni G, Macagno A, Jarrossay D, et al. A neutralizing antibody selected from plasma cells that binds to group 1 and group 2 influenza A hemagglutinins. Science 2011; 333(6044): 850-6.
10. Chu VT, Berek C. Immunization induces activation of bone marrow eosinophils required for plasma cell survival. Eur J Immunol 2012; 42(1): 130-7.
11. Perez LA, Woessner S, Sole F, Florensa L, Bonet C. Chromosomal and in vitro culture studies in a case of primary plasma cell leukemia. Cancer Genet Cytogenet 1994; 76(1): 36-8.
12. Cassese G, Arce S, Hauser AE, Lehnert K, Moewes B, Mostarac M, et al. Plasma cell survival is mediated by synergistic effects of cytokines and adhesion-dependent signals. J Immunol 2003; 171(4): 1684-90.
13. Meijer PJ, Nielsen LS, Allan JL. Human antibody repertoires. In: Dimitrov AS, editor. Therapeutic antibodies: methods and protocols. New York, NY: Human Press; 2009.
14. Meijer PJ, Andersen PS, Haahr HM, Steinaa L, Jensen A, Lantto J, et al. Isolation of human antibody repertoires with preservation of the natural heavy and light chain pairing. J Mol Biol 2006; 358(3): 764-72.
15. Lanzavecchia A, Corti D, Sallusto F. Human monoclonal antibodies by immortalization of memory B cells. Curr Opin Biotechnol 2007; 18(6): 523-8.
16. Degrassi A, Hilbert DM, Rudikoff S, Anderson AO, Potter M, Coon HG. In vitro culture of primary plasmacytomas requires stromal cell feeder layers. Proc Natl Acad Sci U S A 1993; 90(5): 2060-4.
17. Coronella JA, Telleman P, Truong TD, Ylera F, Junghans RP. Amplification of IgG VH and VL (Fab) from single human plasma cells and B cells. Nucleic Acids Res 2000; 28(20): E85.
18. Wang X, Stollar BD. Human immunoglobulin variable region gene analysis by single cell RT-PCR. J Immunol Methods 2000; 244(1-2): 217-25.
19. Tiller T, Meffre E, Yurasov S, Tsuiji M, Nussenzweig MC, Wardemann H. Efficient generation of monoclonal antibodies from single human B cells by single cell RT-PCR and expression vector cloning. J Immunol Methods 2008; 329(1-2): 112-24.

Journal of Isfahan Medical School Received: 10.03.2014

Vol. 32, No. 282, 3rd Week, June 2014 Accepted: 05.05.2014

Isolation of Peripheral Blood Plasma Cells and Co-Culture with Bone Marrow Stromal Cells in Order to Long-Term Culture

Masoumeh Bazzaz MSc[1], Jalil Fallah-Mehrabadi PhD[2], Mahdi Mahdavi PhD[3], Mahdi Zeinoddini PhD[2]

Original Article

Abstract

Background: Single B cell antibody technology is a novel strategy to make human monoclonal antibody (mAb). Its main part is long-term culture of primary plasma cells (PC) to secrete antibody. PC survival in bone marrow is related to environmental signals, which should supply using a feeder cell monolayer during in-vitro culture of PCs. It seems that among different kinds of feeder cells, bone marrow stromal cells (BMSCs) are the best. The aim of this study was isolation of antibody secreting plasma cells from peripheral blood and surviving them during in-vitro culture.

Methods: After tetanus vaccination, Ig concentrations of serum samples were titrated using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. Isolated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of vaccinated donor were stained with three fluorescent anti CD38, anti CD19 and anti CD45 antibodies. Stained plasma cells were sorted into 96 wells using fluorescence-activated cell sorting (FACS) and cultured with BMSCs as feeder cell. After 10 days, in order to determine plasma cell survival, total RNA were extracted from plasma cells and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) method was performed using antibody specific primers.

Findings: 7 days after vaccination, the serum antibody titration of donor was 16 IU/ml, which confirmed provoking a good immune response against tetanus vaccination. Flow analysis of peripheral blood sample on seventh day showed the presence of 0.3% plasma cells in PBMCs. Using RT-PCR with primers specific for antibody gene, the amplification of a variable heavy chain (VH) gene segment with the size of 400 bp was done; this confirmed the plasma cells survival and antibody gene expression during co-culture with BMSCs.

Conclusion: The main result of this project was finding suitable pattern to isolate and survive plasma cells during 10 days in-vitro culture. Therefore, a part of single B cell antibody technology was established. Some of the results consist of percentage of plasma cells in PBMCs and the size of VH segment are in agreement with previous studies.

Keywords: Human monoclonal antibody, Plasma cell, Bone marrow stromal cell, Fluorescence-activated cell sorting (FACS), Co-culture

Citation: Bazzaz M, Fallah-Mehrabadi J, Mahdavi M, Zeinoddini M. **Isolation of Peripheral Blood Plasma Cells and Co-Culture with Bone Marrow Stromal Cells in Order to Long-Term Culture.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(282): 534-43

1- Biosciences and Biotechnology Research Center, Malek Ashtar University of Technology, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Biosciences and Biotechnology Research Center, Malek Ashtar University of Technology, Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Department of Immunology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
Corresponding Author: Jalil Fallah Mehrabadi PhD, Email: Jalil.fallah@gmail.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۸۲/هفته سوم خرداد ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱/۲۵

گزارش یک مورد کیست آدنوکارسینوم پاپیلری پانکراس

بیتا شهباززادگان[۱]، دکتر ایرج فیضی[۲]، دکتر مهدی صمدزاده[۳]، دکتر یوسف شفائی[۴]

گزارش مورد

چکیده

مقدمه: کیست‌های ساده‌ی پانکراس از انواع کمپلکس کوچک‌ترند و بیشتر در نواحی دیستال پانکراس قرار دارند. تومور پاپیلری جامد و کیستیک پانکراس یک نئوپلاسم نادر است که در کودکان و افراد مسن نادرتر است و اغلب در دختران و زنان جوان دیده می‌شود.

گزارش مورد: بیمار خانمی ۴۰ ساله با سابقه‌ی ۵ ساله‌ی درد سر دل بود که طی این مدت بارها به پزشک مراجعه کرده بود. بیمار پس از معاینه‌ی بالینی جهت پانکراتیت سیستکتومی کاندیدای جراحی شد و با بیهوشی عمومی تحت عمل جراحی پانکراتکتومی قرار گرفت. پیگیری بیمار بعد از عمل نیز ادامه داشت.

نتیجه‌گیری: تومور پاپیلری جامد و سیستیک پانکراس یک نئوپلاسم نادر و اغلب خوش‌خیم با منشأ ناشناخته است. تظاهر آن با درد مبهم شکم می‌باشد. سونوگرافی، MRI (Magnetic resonance imaging) و CT-scan (Computerized tomography) به تشخیص قبل از جراحی کمک می کنند. جراحی درمان انتخابی است و تشخیص قطعی با هیستولوژی و ایمونوهیستوشیمی می‌باشد.

واژگان کلیدی: کیست پانکراس، پاپیلری، موسینوس

ارجاع: شهباززادگان بیتا، فیضی ایرج، صمدزاده مهدی، شفائی یوسف. **گزارش یک مورد کیست آدنوکارسینوم پاپیلری پانکراس.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۲): ۵۴۹-۵۴۴

مقدمه

تومور پاپیلری جامد و کیستیک پانکراس (Papillary cystic and solid tumor of pancreas) تومور نادر و اپیتلیالی با درجه‌ی بدخیمی پایین می‌باشد (۱). کیست‌های ساده‌ی پانکراس از انواع کمپلکس کوچک‌ترند و بیشتر در نواحی دیستال پانکراس قرار دارند. به طور معمول، این کیست‌ها بدون علامت هستند و می‌توانند به طور نگهدارنده تحت نظر قرار گیرند (۲). شیوع ضایعات کیستی پانکراس در اتوپسی‌ها حدود ۲۴ درصد می‌باشد (۳).

تومور پاپیلری جامد و کیستیک پانکراس اولین بار توسط فرانتز در سال ۱۹۵۹ توصیف شد و کمتر از ۳۵۰ مورد آن تا به حال گزارش شده است. این تومور در کودکان و افراد مسن نادر است و اغلب در دختران و زنان جوان رخ می‌دهد. بیماران به طور معمول با علایم مبهم مثل احساس پری شکم و یا درد در

۱- کارشناس ارشد، گروه آموزش پرستاری، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل و دانشجوی دکتری، گروه بهداشت عمومی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه جراحی توراکس، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
۳- متخصص بیماری‌های اعصاب و روان، گروه روان‌پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
۴- استادیار، گروه جراحی پلاستیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر ایرج فیضی
Email: feiziiraj@yahoo.com

قسمت‌های فوقانی شکم مراجعه می‌کنند. ۹۰ درصد بیماران در زمان تشخیص بی‌علامت هستند و در معاینه‌ی فیزیکی به طور اتفاقی یافت می‌شوند. تظاهر آن بعد از ضربه یا پارگی کپسول رخ می‌دهد (۴).

اکثر ضایعات کیستی پانکراس کیست کاذب است و در بیمارانی دیده می‌شود که دارای سابقه‌ی پانکراتیت می‌باشند؛ در حالی که کیست‌های ساده، اغلب به طور اتفاقی و در افرادی کشف می‌گردند که سابقه‌ای از بیماری پانکراس نداشته‌اند و مشخصات تصویربرداری آن‌ها در سونوگرافی و CT-scan (Computerized tomography) شبیه سایر کیست‌های خوش‌خیم می باشد (۵).

کیست‌های منفرد حقیقی پانکراس بسیار نادر هستند. تشخیص‌های افتراقی این ضایعات، چالش برانگیز بوده‌اند. نادر بودن کیست‌های اپیتلیالی خوش‌خیم پانکراس، دلیل ناچیز بودن اطلاعات موجود در زمینه‌ی خصوصیات بالینی و درمان مناسب آن‌ها می‌باشد. طی سال‌های اخیر، افزایش استفاده از روش‌های تصویربرداری مقطعی سبب افزایش تشخیص کیست‌های کوچک و بدون علامت پانکراس شده است. اکثر کیست‌های پانکراس بدون علامت هستند، اما توانایی بالقوه‌ی آن‌ها در ترانسفورماسیون بدخیمی و یا ایجاد پانکراتیت، نحوه‌ی برخورد با این ضایعات را پیچیده کرده است (۲).

اگر چه اکثر ضایعات کیستی پانکراس غیر مهاجم هستند، اما تا کنون در برخورد با این ضایعات به طور شایع از پانکراتکتومی‌های ماژور نظیر پانکراتیکو-دئودنکتومی و یا دیستال پانکراتکتومی استفاده شده است (۶).

تشخیص

به جز علایم بالینی، در آزمایشگاه ممکن است افزایش آمیلاز سرم، کاهش کلسیم، لکوسیتوز، پروتئینوری، هیپرگلیسمی، بالا رفتن لیپاز، فسفولیپاز A و تریپسین خون، افزایش LDH (Lactate dehydrogenase) و اوره‌ی خون وجود داشته باشد. آمیلاز سرم اغلب (اما نه همیشه) در پانکراتیت بالا است (به خصوص در پانکراتیت حاد صفراوی). ۳-۲ ساعت بعد از شروع پانکراتیت حاد، آمیلاز افزایش می‌یابد و بعد از ۱۰-۳ روز به حد طبیعی بر می‌گردد. آمیلاز ادرار و مایع صفاقی ممکن است با میزان و مدت زمان بیشتری بالا باشند.

گاهی اسکن رادیوایزوتوپ، رادیوگرافی شکم، CT-scan یا سونوگرافی لوزالمعده و آندوسکوپی مفید می‌باشد.

درمان

نئوپلاسم‌های کیستیک دارای دیواره یا ندولاریته‌ی نامنظم، بسیار مشکوک به بدخیمی هستند. به منظور تلاش در جهت تشخیص بدخیمی قبل از عمل، مایع کیست را با استفاده از EUS (Endoscopic ultrasound) می‌توان آسپیره نمود و تحت بررسی قرار داد. کیست‌های محتوی مایع غلیظ همراه با سطح پایین آمیلاز و مقادیر بالای آنتی ژن کارسینو امبریوژنیک برای بدخیمی محتمل‌تر هستند. بررسی سیتولوژیک مایع آسپیره شده نیز می‌تواند در جهت کمک به رسیدن به تشخیص انجام گیرد. ضایعات کیستیک پانکراس در صورتی که هر گونه نگرانی در رابطه با پتانسیل بدخیم بودن را دارند، باید خارج شوند. خارج کردن هسته‌ی نئوپلاسم‌های کوچک کیستیک پانکراس که به نظر خوش‌خیم

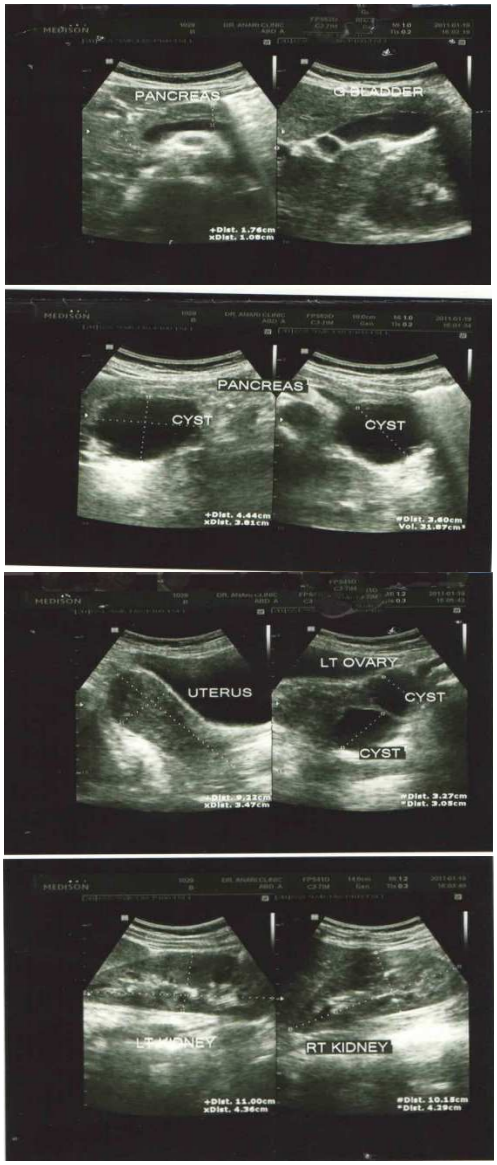
مـی‌رسـند، رویکـرد مناسـبی اسـت. اسـتفاده از سـونوگرافی حـین عمـل در ایـن گونـه بیمـاران در اجتناب از صدمه رساندن به مجرای اصلی پانکراس و شکل‌گیری فیستول به دنبال عمل مفید می‌باشد.

پانکراتکتومی دیستال با لاپاروسکوپ یا یـا بـدون حفظ طحال مـی‌توانـد در مـورد ضـایعاتی کـه در دم پانکراس قرار دارند، مورد استفاده قرار گیرد. با توجـه به بهبود تجربه در سرتاسـر دنیـا در مـورد رزکسـیون پانکراس به کمک لاپاروسـکوپ، در مـورد ضـایعاتی که پتانسیل بدخیمی دارند، باید قبل از بـه کـار بـردن ایـن روش احتیـاط لازم را بـه کـار بسـت. ضـایعات کیستیک کوچـک در سـر پـانکراس، چـالش برانگیـز مـی‌باشـند. بـه دلیـل عـوارض و مـرگ و میـر پانکراتیکودئودنکتومی، در بیماران بـا ضـایعات پـیش بـدخیم هماننـد کیسـت آدنومـای موسـینو، رویکـرد جراحی محافظه کارانه، مطلوب‌تر است. رزکسیون سر پانکراس با حفظ دئودنوم، در مواقعی کـه ضـایعه بـه دئودنوم دست‌اندازی نکرده باشد و به نظر محـدوده‌ی مشخصی داشته باشد، ممکن است راهکار بی‌خطـری باشد (۷).

گزارش مورد

بیمار خانم ۴۰ ساله‌ای بود که از ۵ سـال پـیش دچـار درد سر دل بود که طی ایـن مـدت بارهـا بـه پزشـک مراجعه کرده بود؛ اما بهبودی نیافته بود تا ایـن کـه در بررسی اخیر، توده‌ای در پانکراس کشـف شـد. بیمـار سابقه‌ای از درد شـکم، کـاهش وزن، زردی، تهـوع و استفراغ را نداشت. بیمار در این مدت علایـم انسـداد گوارشی، تب و لرز، ضعف و بی‌حـالی، بـی‌اشـتهایی، اسهال و یبوست را نیز نداشت. نکته‌ی قابـل تـوجهی در آزمایش‌های پاراکلینیکی بیمار وجود نداشت.

بیمـار تحـت سـونوگرافی از شـکم و لگـن قـرار گرفت که تصویر توده‌ی کیستیک با جدار بـه نسـبت ظریف و بدون بخش سولید داخلی یا جداری با منشأ از دم پانکراس به ابعاد تقریبی ۴۴ × ۳۸ × ۳۶ میلی‌متـر مشاهده شد. در ضمن، تصویری از توده‌های کیسـتیک در تخمدان چپ بیمار مشاهده شد، امـا سـایر احشـای شکمی و لگنی طبیعی گزارش شدند (شکل ۱).



شکل ۱. تصویر سونوگرافی شکم و لگن بیمار

در CT-scan انجام شده از بیمار نیز وجود این توده تأیید گردید.

شرح عمل

بیمار تحت بیهوشی عمومی، بعد از آماده‌سازی با انسزیون خط وسط بالای ناف، شکم باز شد و تحت عمل جراحی قرار گرفت. سپس پانکراتکتومی دیستال (شامل کیست) همراه با حفظ طحال برای بیمار انجام شد.

بحث

Fiamingo و همکاران یک خانم ۲۶ ساله با یک کیست منفرد حقیقی مشاهده شده در CT-scan و MRI (Magnetic resonance imaging) را گزارش کرد که در تک حفره‌ای و در سر پانکراس قرار داشت و با عمل جراحی کیست را برش داده و پانکراتیو- ژوژنوستومی لوپ به روش Roux-en-Y انجام داد (۸).

Cioffi و همکاران خانم ۲۲ ساله‌ای با کیست علامت‌دار حقیقی در سر پانکراس و در مجاورت IVC (Inferior vena cava)، درخت صفراوی، دئودنوم و کلیه‌ی راست را گزارش نمود. وی کیست را تحت انوکلئاسیون لاپاراروسکوپیک عمل نمود که بعد از یک سال پیگیری بیمار عارضه‌ای نداشت (۹). در گزارش Caillot و همکاران، خانم ۳۴ ساله‌ای گزارش شد که یک کیست بزرگ در دم پانکراس داشت و با یک توده‌ی بدون علامت مراجعه نموده بود و با دیستال پانکراتکتومی وسیع با حفظ طحال تحت درمان قرار گرفت (۱۰).

مطالعه‌ی Carboni و همکاران ۳۰ بیمار مبتلا به نئوپلاسم کیستی پانکراس را مورد بررسی قرار داد. میانگین سنی افراد مورد مطالعه ۶۳ سال و ۶۳ درصد آن‌ها زن بودند. از این تعداد، ۴۰ درصد از بیماران علامت‌دار بودند و ۲۹ نفر از بیماران نیز تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند. مرگ و میر در ۶/۵ درصد، شیوع پس از عمل در ۴۱ درصد و نیاز به عمل جراحی مجدد در ۶/۵ درصد از بیماران گزارش گردید (۱۱).

تومور پاپیلری جامد و سیستیک پانکراس یک نئوپلاسم نادر و اغلب خوش‌خیم با منشأ ناشناخته است. تظاهر آن با درد مبهم شکم و گاهی نیز تظاهر حاد به دنبال تروماى شکم می‌باشد. سونوگرافی، CT-scan و MRI به تشخیص قبل از جراحی کمک می‌کنند. جراحی، درمان انتخابی است و تشخیص قطعی با هیستولوژی و ایمونوهیستوشیمی انجام می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کارکنان محترم بیمارستان دکتر فاطمی اردبیل تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References

1. Petrakis I, Vrachassotakis N, Kogerakis N, Hatzidakis A, Zoras O, Chalkiadakis G. Solid pseudopapillary neoplasm of the pancreas: report of a case after a 10-year follow-up and review of the literature. Pancreatology 2001; 1(2): 123-8.
2. Ostadian N, Mirrokni SM, Noorzadeh M. Enucleation of a large true cyst in the head of pancreas instead of Whipple procedure in an 8-year old boy: a case report. Tehran Univ Med J 2011; 68(11): 686-90. [In Persian].
3. Kimura W, Nagai H, Kuroda A, Muto T, Esaki

Y. Analysis of small cystic lesions of the pancreas. Int J Pancreatol 1995; 18(3): 197-206.
4. Hormozdi M, Rakhshani N, Sedighi A, Atef vahid A, Eram Sh. Solid and cystic papillary epithelial neoplasm of pancreas: the report of 2 cases. Razi j Med Sci 2006: 13 (50): 205-8. [In Persian].
5. Bergin D, Ho LM, Jowell PS, Pappas TN, Paulson EK. Simple pancreatic cysts: CT and endosonographic appearances. AJR Am J Roentgenol 2002; 178(4): 837-40.
6. Tien YW, Hu RH, Hung JS, Wang HP, Lee PH. Noninvasive pancreatic cystic neoplasms can be safely and effectively treated by limited pancreatectomy. Ann Surg Oncol 2008; 15(1): 193-8.
7. Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE. Schwartz's principles of surgery. 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2005.
8. Fiamingo P, Veroux M, Gringeri E, Mencarelli R, Veroux P, Madia C, et al. True solitary pancreatic cyst in an adult: report of a case. Surg Today 2005; 35(11): 979-83.
9. Cioffi U, De Simone M, Santambrogio R, Fortis D, Ferrero S, Ciulla MM, et al. Laparoscopic enucleation of solitary true pancreatic cyst in an adult. J Gastrointest Surg 2003; 7(7): 921-4.
10. Caillot JL, Rongieras F, Voiglio E, Isaac S, Neidhardt JP. A new case of congenital cyst of the pancreas. Hepatogastroenterology 2000; 47(34): 916-8.
11. Carboni F, Lepiane P, Santoro R, Lorusso R, Mancini R, Proposito D, et al. Cystic pancreatic neoplasms: 12-year surgical experience. J Exp Clin Cancer Res 2006; 25(2): 167-75.

Journal of Isfahan Medical School Received: 20.01.2014

Vol. 32, No. 282, 3rd Week, June 2014 Accepted: 14.04.2014

A Case Report of Mucinous Cystic Neoplasm

Bita Shahbazzadegan MSc[1], Iraj Feizi MD[2], Mehdi Samadzadeh MD[3], Yousef Shafaiee MD[4]

Case Report

Abstract

Background: Pancreatic simple cysts are smaller than the complex cysts and are located in distal areas of pancreas. Papillary solid and cystic tumor is a rare neoplasm in children and elderly, and often occurs in young women and girls.

Case Report: A forty-year-old woman with a history of epigastria pain for five years had referred several times to medical centers was conducted to be candidate to pancreatic systectomy with general anesthesia. She underwent distal pancreatectomy. Patient postoperative follow-up was continued.

Conclusion: Papillary solid and cystic tumor of the pancreas is a rare neoplasm with unknown origin and often benign. It presents with vague abdominal pain. Ultrasound, magnetic resonance imaging (MRI) and CT-scan would help to make diagnosis before the surgery. Surgery is the choice treatment and the diagnosis would be proved with histology and immunohistochemistry.

Keywords: Pancreatic cyst, Papillary, Mucinous

Citation: Shahbazzadegan B, Feizi I, Samadzadeh M, Shafaiee Y. **A Case Report of Mucinous Cystic Neoplasm.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(282): 544-9

1- Department of Nursing, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil AND PhD Student, Department of Public Health, School of Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Department of Thoracic Surgery, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
3- Department of Psychiatry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
4- Assistant Professor, Department of Plastic Surgery, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
Corresponding Author: Iraj Feizi MD, Email: feiziiraj@yahoo.com

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

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

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

INSTRUCTION TO AUTHORS

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

Editorial Board (In alphabetical order)

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

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 282, 3rd week, June 2014

Isfahan University of Medical Sciences

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

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

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

Published by:
Isfahan University of Medical Sciences
E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:
P.O. Box 81744-176, Isfahan, I.R. IRAN
Telefax: +98 311 7922291
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
Website: http://www.journals.mui.ac.ir/jims
Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:
Farzanegan Radandish Co.
P.O. Box 81465-1798, Isfahan, I.R. IRAN
Telefax: +98 311 6686302
E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com
f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexers

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

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

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