

مقاله های پژوهشی

- ۶۵۰ بررسی اثر تزریق درون صفاقی لیپوپلی ساکارید (LPS) بر فرایندهای آپوپتوز، حافظه و ایجاد آنزیم در هیپوکمپ موش های نر صحرایی نژاد ویستار در یک روش وابسته به زمان دکتر شهربانو عریان، مرتضی نظری سرنجه، مسعود باقرپور زارچی، دکتر فریبا خداقلی، دکتر محمد نیونی، دکتر کیانا شاهزamani
- ۶۶۰ بررسی پلی مورفیسم تکرار CAC در ژن HOXA1 و ارتباط آن با سرطان پستان سمیه نجفی درچه، دکتر منوچهر توسلی، دکتر سیمین همی، فروزان صفری
- ۶۶۹ مطالعه ای لوکوس DFNB3 وابسته به ناشنوایی غیر سندرمیک اتوزومال مغلوب در جمعیتی از ناشنوایان ایرانی با روش آنالیز پیوستگی ژنتیکی سمیه رئیسی، دکتر محمد حسین صنعتی، دکتر محمد امین طباطبائی فر، دکتر حمیدرضا پورجعفری، دکتر زرین مینوچهر، افسانه شاورزی، میترا عطایی، محبوبه کشیری، دکتر مرتضی هاشم زاده چالشتی
- ۶۷۸ بررسی مقایسه ای تأثیر پروفیلاکسی تزریق وریدی دگزامتازون و پتیدین بر لوز بعد از عمل سزارین سکشن الکتیو تحت بی حسی اسپینال دکتر میترا جبل عاملی، آرمینا رادمنش

مقاله مروری

- ۶۹۰ آرتیفکت ها و سایر اشکال مشابه عناصر قارچی در آزمایشگاه قارچ شناسی پزشکی دکتر اصغر سپهوند، دکتر رسول محمدی، عاطفه میر دریکوند، سهیلا سلیمان نژاد، دکتر رضا روزبهانی

Original Articles

- Effect of Intraperitoneal Injection of Lipopolysaccharide (LPS) on Apoptosis, Memory and Alzheimer's Disease Processes in the Hippocampus of Male Wistar Rats in a Time-Dependent Manner 659
 Shahrbanoo Oryan PhD, Morteza Nazari-Serenjeh MSc, Masoud Bagherpoor-Zarchi MSc, Fariba Khodagholi PhD, Mohammad Nabiuni PhD, Kiana Shahzamani PhD
- The Relationship of CAC Polymorphism in HOXA1 Gene and Breast Cancer 668
 Somayeh Najafi-Dorche, Manoochehr Tavassoli PhD, Simin Hemati MD, Forouzan Safari
- Study of the Association of DFNB3 Locus with Autosomal Recessive Non-Syndromic Hearing Loss in Iranian Deaf Population Using Genetic Linkage Analysis 677
 Somayeh Reisi, Mohammad Hossein Sanati PhD, Mohammad Amin Tabatabaiefar PhD, Hamid Reza Pourjafari PhD, Zarrin Minucheher PhD, Afsaneh Shavarzi, Mitra Ataie MSc, Mahbobeh Kasiri, Morteza Hashemzadeh-Chaleshtori PhD
- Comparing the Efficacy of Prophylactic Intravenous Dexamethasone and Pethidine on Postoperative Shivering in Elective Cesarean Section Under Spinal Anaesthesia 689
 Mitra Jabalameli MD, Armina Radmanesh

Review Article

- Artifacts Similar to Fungal Elements in Medical Mycology Laboratories 701
 Asghar Sepahvand PhD, Rasoul Mohammadi PhD, Atefeh Mirderikvand, Soheila Soleiman-Nezhad, Reza Rouzbahani MD, MPH



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۲۸۵)، بهمن دوم تیر ۱۳۹۳

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

E-mail: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مسئول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱۱-۶۶۹۴۷۳۷

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

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

وب سایت مجله:

امور نشر:

(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)

شرکت فرزانتگان راداندیش

اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵

تلفن و دورنگار: ۰۳۱۱-۶۶۸۶۳۰۲

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

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

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

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

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

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

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

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

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

بررسی اثر تزریق درون صفاقی لیپوپلی ساکارید (LPS) بر فرایندهای آپوپتوز، حافظه و ایجاد آلزایمر در هیپوکمپ موش‌های نر صحرایی نژاد
ویستار در یک روش وابسته به زمان..... ۶۵۰

دکتر شهربانو عریان، مرتضی نظری سرنجه، مسعود باقرپور زارچی، دکتر فریبا خداقلی، دکتر محمد نبیونی، دکتر کیانا شاهزمانی

۶۶۰..... بررسی پلی مورفیسم تکرار CAC در ژن HOXA۱ و ارتباط آن با سرطان پستان.....

سمیه نجفی درچه، دکتر منوچهر توسلی، دکتر سیمین همتی، فروزان صفری

۶۶۹..... مطالعه‌ی لوکوس DFNB۳ وابسته به ناشنوایی غیر سندرمیک اتوزومال مغلوب در جمعیتی از ناشنوایان ایرانی با روش آنالیز پیوستگی ژنتیکی.....

سمیه رئیسی، دکتر محمد حسین صنعتی، دکتر محمد امین طباطبائی فر، دکتر حمیدرضا پورجعفری، دکتر زرین مینوچهر، افسانه شاورزی، میترا عطایی،
محبوبه کثیری، دکتر مرتضی هاشم‌زاده چالشتی

۶۷۸..... بررسی مقایسه‌ای تأثیر پروفیلاکسی تزریق وریدی دگزامتازون و پتیدین بر لرز بعد از عمل سزارین سکشن الکتیو تحت بی‌حسی اسپینال.....

دکتر میترا جبل عاملی، آرمینا رادمنش

مقاله مروری

۶۹۰..... آرتیفکت‌ها و سایر اشکال مشابه عناصر قارچی در آزمایشگاه قارچ‌شناسی پزشکی.....

دکتر اصغر سپه‌وند، دکتر رسول محمدی، عاطفه میر دریکوند، سهیلا سلیمان‌نژاد، دکتر رضا روزبهانی

بررسی اثر تزریق درون صفاقی لیپوپلی ساکارید (LPS) بر فرایندهای آپوپتوز، حافظه و ایجاد آلزایمر در هیپوکمپ موش‌های نر صحرائی نژاد ویستار در یک روش وابسته به زمان

دکتر شهربانو عریان^۱، مرتضی نظری سرنجه^۲، مسعود باقرپور زارچی^۳، دکتر فریبا خدافل^۴، دکتر محمد نبیونی^۵، دکتر کیانا شاهزمانی^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در این مطالعه اثر تزریق درون صفاقی لیپوپلی ساکارید (LPS یا Lipopolysaccharide) در ایجاد آپوپتوز با افزایش مقدار پروتئین‌های آپوپتوزی Bax (B-cell lymphoma-۲-associated X protein) و Caspase-۳ و کاهش مقدار پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl-۲ (B-cell lymphoma-۲) در هیپوکمپ رت و نیز اثر آن بر روی حافظه و بروز آلزایمر به صورت وابسته به زمان در ساعت‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ بعد از تزریق بررسی شد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر عفونت باکتریایی (از طریق LPS) در ایجاد اختلال شناختی در حافظه در اثر یک بار تزریق LPS و نیز ایجاد مدل دیگری از موش‌های مبتلا به آلزایمر به جای تزریق آمیلوئید بتا (Aβ یا Amyloid-beta) و استرپتوزوتوسین (STZ) یا Streptozotocin) به داخل مغز - که با مرگ و میر زیاد حیوانات همراه است - بود.

روش‌ها: از موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار ۲۵۰-۲۳۰ گرمی برای تزریق درون صفاقی LPS و انجام آزمایش‌های مولکولی وسترن بلات (Western blot)، آزمایش آنزیمی و سنجش حافظه با دستگاه شاتل باکس (Shuttle-box) به صورت وابسته به زمان استفاده شد. در این مدل به جای تزریق Aβ و STZ به داخل مغز از LPS استفاده گردید. این ترکیب، به خاطر توانایی که در عبور از سد خونی-مغزی (BBB یا Blood-brain barrier) دارد، می‌تواند به سلول‌های مغزی به ویژه سلول‌های ناحیه‌ی هیپوکمپ حمله کند و موجب مرگ این سلول‌ها و ایجاد اختلال در حافظه شود.

یافته‌ها: افزایش مقدار پروتئین‌های آپوپتوزی Bax و Caspase-۳ و کاهش مقدار پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl-۲ به صورت وابسته به زمان در گروه مورد نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. همچنین نتیجه‌ی آزمایش آنزیمی Caspase-۳ نتایج وسترن بلات را تأیید نمود. اختلال ایجاد شده به وسیله‌ی LPS در حافظه نیز توسط آزمایش شاتل باکس به صورت وابسته به زمان مشخص گردید. نتایج به دست آمده، معنی‌دار بودند ($P < 0.001$).

نتیجه‌گیری: LPS موجب افزایش بروز آپوپتوز و مرگ سلول‌های نورونی در ناحیه‌ی هیپوکمپ مغز موش‌های نر صحرائی نژاد ویستار به صورت وابسته به زمان می‌شود که این آپوپتوز، موجب کاهش قدرت حافظه‌ی حیوان می‌شود.

واژگان کلیدی: بیماری آلزایمر، آپوپتوز، شاتل باکس، لیپوپلی ساکارید

ارجاع: عریان شهربانو، نظری سرنجه مرتضی، باقرپور زارچی مسعود، خدافل فریبا، نبیونی محمد، شاهزمانی کیانا. بررسی اثر تزریق درون صفاقی لیپوپلی ساکارید (LPS) بر فرایندهای آپوپتوز، حافظه و ایجاد آلزایمر در هیپوکمپ موش‌های نر صحرائی نژاد ویستار در یک روش وابسته به زمان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۵): ۶۵۹-۶۵۰

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکده‌ی زیست‌شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۲- کارشناس ارشد، گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکده‌ی زیست‌شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۳- دانشیار، گروه سلولی مولکولی، دانشکده‌ی زیست‌شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۴- استادیار، گروه سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی زیست‌شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۵- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

مقدمه

از دست دادن توانایی شناختی با افزایش سن، فرایندی طبیعی است که سرعت و شدت آن بسیار متغیر می‌باشد. بیماری آلزایمر (AD یا Alzheimer's disease) در ابتدا دمانس (Dementia) پیری نامیده می‌شد. آلزایمر به نوعی از دمانس اطلاق می‌شود که به دلیل عواملی از قبیل سکت، ترومای مغزی یا مصرف الکل نباشد (۱). بیماری آلزایمر با تحلیل مغز و تخریب متمرکز نورونی، به ویژه در ناحیه هیپوکمپ و قسمت قاعده‌ای پیشانی، همراه است. بارزترین مشخصه‌ی این بیماری، تخریب نورون‌های کولینرژیک در هیپوکمپ و کورتکس پیشانی است و به نظر می‌رسد که این تخریب، عامل اصلی کاهش شناختی و از دست دادن حافظه‌ی کوتاه مدت در بیماری آلزایمر می‌باشد (۲).

بیشترین کاهش سیناپس‌ها در بخش‌های خارجی لایه‌ی مولکولی ژيروس دندان‌های هیپوکمپ می‌باشد که احتمال دارد در نتیجه‌ی کاهش ورودی از کورتکس انتورهینال باشد. کاهش یا اختلال عملکرد سیناپسی از طریق اختلال در ارتباطات نورونی باعث بروز نشانه‌های بالینی زوال عقلی می‌گردد. حتی سیناپس‌هایی که از نظر ساختاری به نظر سالم می‌آیند، ممکن است دچار اختلال عملکرد باشند (۳). درک اختلال حافظه‌ای که بیماران مبتلا به آلزایمر تجربه می‌کنند، برای طراحی و تعیین میزان مؤثر بودن داروهای جدید برای درمان اختلال حافظه ضروری است. حافظه به مجموعه‌ای از توانایی‌های عقلی اطلاق می‌گردد که سیستم‌ها و جایگاه‌های متفاوتی درون مغز در آن دخالت دارند (۴). اختلال حافظه‌ی اپیزودیک (Episodic) (این حافظه وقتی به خدمت

گرفته می‌شود که فرد به طور آگاهانه یک واقعه مانند صرف یک وعده‌ی غذایی با یک دوست را به یاد بیاورد)، دارای بیشترین تطابق بالینی در بیماران مبتلا به آلزایمر می‌باشد. اختلال در سیستم حافظه‌ی اپیزودیک یکی از علائم اولیه‌ی بیماری آلزایمر محسوب می‌گردد. از آن جایی که توانایی حافظه‌ی اپیزودیک در بیماران مبتلا به آلزایمر تقلیل می‌یابد، وقایعی که در گذشته‌ی دور رخ داده‌اند، به نسبت بهتر از وقایعی که بعد و یا مقداری قبل از شروع بیماری رخ داده‌اند، به خاطر آورده می‌شوند (۵).

مولکول‌های LPS (Lipopolysaccharide) که همچنین به عنوان لیپوگلیکان هم شناخته می‌شوند، مولکول‌های بزرگی هستند که شامل یک جزء لیپیدی و یک جزء پلی ساکارییدی هستند که توسط یک پیوند کووالانسی به هم متصل شده‌اند. این مولکول‌ها در غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی یافت می‌شوند و به عنوان اندوتوکسین عمل می‌کنند و پاسخ‌های ایمنی شدیدی را در حیوانات ایجاد می‌نمایند. این مولکول‌ها توانایی بروز آپوپتوز را در سلول دارند. مرگ سلولی از جمله آپوپتوز و همچنین التهاب از جمله فرایندهای درگیر در بیماری‌های نورودژنراتیو می‌باشد (۶-۷).

واژه‌ی آپوپتوز اولین بار در سال ۱۹۷۲ توسط Kerr و همکاران (به نقل از Elmore) به عنوان نوع متمایزی از مرگ سلولی مطرح شد. آپوپتوز در واقع فرم بسیار تنظیم شده‌ای از مرگ سلولی می‌باشد که نقش مهمی را در رشد و نمو طبیعی ارگانیسم‌های پر سلولی و شکل‌گیری بافت‌ها و اندام‌ها بازی می‌کند (۸). از نقطه نظر مکانیسم مولکولی و بیوشیمیایی، می‌توان گفت که آپوپتوز شامل یک آبشاری از فرایندهای بیوشیمیایی پیچیده‌ای است که داخل

ناحیه‌ی شکنج دندانه‌ای (DG یا Dentate gyrus) در هیپوکمپ می‌باشد (۱۲).

به منظور بررسی اثر LPS روی یادگیری و حافظه، یک گروه تحقیقاتی به مدت ۵ روز و به صورت مداوم به رت‌ها LPS تزریق کردند که نتایج به دست آمده نشان داد که تعداد شوک‌های الکتریکی لازم برای آموزش رت‌های LPS دریافت کرده، بیشتر شده است که مخالف با گروه شاهد می‌باشد (۱۳). Choi و همکاران نشان داده‌اند که موش‌هایی که LPS دریافت کرده‌اند، در روزهای اول و سوم بعد از دریافت LPS، در دستگاه سنجش حافظه‌ی Morris water maze اختلال حافظه نشان می‌دهند (۱۴).

LPS موجب افزایش فعال شدن iNOS (Inducible nitric oxide synthase) و از این رو تولید NO (Nitric oxide) می‌شود (۱۵-۱۶). پروکسی نیتريت مشتق شده از NO می‌تواند موجب آسیب غیر قابل برگشت به میتوکندری، آزاد شدن سیتوکروم C و فعال شدن Caspase-۳ شود (۱۷) که در نهایت، موجب آپوپتوز نورونی می‌گردد.

روش‌ها

در این مطالعه از موش‌های صحرایی (Rat) نر، نژاد ویستار (Wistar) در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۳۰ g که در مرکز پرورش حیوان دانشگاه خوارزمی تهران پرورش داده شدند و تحت مقررات نگهداری و کار تحقیقاتی با حیوانات آزمایشگاهی (با حرارت کنترل شده‌ی 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد، ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی) قرار داشتند و آب و غذای مخصوص حیوان (Pellet) به میزان کافی و همواره در دسترس بود.

سلول رخ می‌دهد. مهم‌ترین آن‌ها شامل فعال شدن آنزیم‌های سیتوزولی تحت عنوان Caspase‌ها و همچنین یک گروه از اندونوکلائزهای وابسته به Caspase‌ها در داخل هسته می‌باشد (۹-۱۰).

Caspase‌ها پروتئازهای وابسته به سیستئین هستند که مولکول هدف را از محل کریوکسیل آسپاراتات می‌شکنند. Caspase‌ها در سیتوپلاسم به فرم غیر فعال Procaspase حضور دارند و با فرایند پروتئولیز زیموژن، به فرم فعال تبدیل می‌شوند. بررسی تغییرات Procaspase و Caspase-۳ یکی از مهم‌ترین روش‌های بررسی آپوپتوز به شمار می‌رود. یک مکانیسم در مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول، تنظیم افزایشی پروتئین پروآپوپتوتیک Bax (Bcl-۲-associated X protein) است. افزایش بیان Bax روی نفوذ پذیری غشای میتوکندری اثر می‌گذارد که منجر به فعال شدن کاسپازها می‌گردد و در نهایت، طی آن اجزای سلولی تجزیه می‌شوند.

به طور متضاد، Bcl-۲ (B-cell lymphoma-۲) یکی از ژن‌های کلیدی شناخته شده برای تنظیم کاهشی Bax است و بنابراین، قدرت مهار مسیر میتوکندریایی آپوپتوز را دارد. بیان بیش از حد Bcl-۲، فعالیت کاسپاز را تضعیف می‌کند که یک ارتباط احتمالی بین این عوامل ایجاد می‌کند (۱۱). در پژوهش‌های قبل، برای تأیید این که LPS موجب استرس سلولی می‌شود، همچنان که با افزایش در فعالیت JNK (c-Jun N-terminal kinases) و C-jun نشان داده شده است، فعال شدن Caspase-۳ در برش‌های هیپوکمپ مورد بررسی قرار گرفته است که نتایج حاکی از فعال شدن Caspase-۳، به طور همزمان با فعال شدن JNK در سلول‌های گرانولی

جذب به منزله‌ی افزایش فعالیت Caspase-3 می‌باشد.
ض- آزمون رفتاری شاتل باکس (Shuttle-box) (۱۳)

تمام داده‌ها حاصل میانگین ۳ بار تکرار مستقل از هم، هر بار ۳ بار آزمایش هستند. تمام یافته‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ ثبت شدند. آنالیز واریانس‌ها با آزمون ANOVA (Analysis of variance) انجام شد. $P < 0/001$ معیار معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

۱- LPS موجب افزایش مقدار عوامل آپوپتوزی و

کاهش عوامل ضد آپوپتوزی شد.

در این آزمایش، به منظور بررسی روند آپوپتوز، سطوح عوامل آپوپتوزی Caspase-3 و Bax و نیز سطح عامل ضد آپوپتوزی Bcl-2 سنجیده شد. عوامل آپوپتوزی در یک روند تقریبی مشابه، افزایشی را در ساعت ۲۴ نشان دادند که این تأخیر ممکن است به دلیل وجود سد خونی- مغزی و به دنبال آن، مقاومت سلول‌های ناحیه‌ی هیپوکمپ در مقابل بروز مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول باشد. اندازه‌گیری میزان عامل Bcl-2 روند تقریبی متقابلی با Bax را نشان می‌دهد؛ یعنی در زمان‌هایی که Bax سیر افزایشی داشته است، این عامل به مقادیر پایین کاهش یافته و به این طریق، سد دفاعی در برابر آپوپتوز شکسته شده است. در ساعت‌های بعد نیز تغییر چشمگیری در سطح این عوامل رخ نداده است که شاید به این دلیل باشد که سایر سلول‌های هیپوکمپ، تدابیری را برای مقابله با آپوپتوز تدارک دیده باشند که در این مطالعه، مجالی برای سنجش این موضوع وجود نداشت. چون

الف- مواد مورد نیاز جهت تزریق LPS: محلول سالینی LPS، تزریق LPS به وسیله‌ی سرنگ انسولین

ب- لوازم مورد نیاز جهت جداسازی هیپوکمپ و انجام وسترن بلات (Western blot) (۱۸)

ه- گروه‌های مورد بررسی در این تحقیق شامل موارد زیر بود:

کلیدی جمعیت مورد بررسی به دو گروه اصلی بررسی‌های مولکولی و آزمون رفتاری تقسیم شد. گروه‌هایی که برای آزمایش‌های مولکولی در نظر گرفته شدند، شامل ۶ گروه می‌باشند که شامل گروه شاهد و گروه‌های مورد ساعت‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ بعد از تزریق LPS بودند. گروه شاهد مقدار $200 \mu\text{l/kg}$ سالین و گروه‌های دیگر مقدار $300 \mu\text{g/kg}$ از LPS را در $200 \mu\text{l}$ از سالین دریافت کردند و سپس در ساعت‌های مقرر به منظور انجام آزمون‌های مورد نظر گردن زده شدند.

ر- استخراج پروتئین از بافت هیپوکمپ (۱۸)

ش- مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام آزمون سنجش فعالیت Caspase-3:

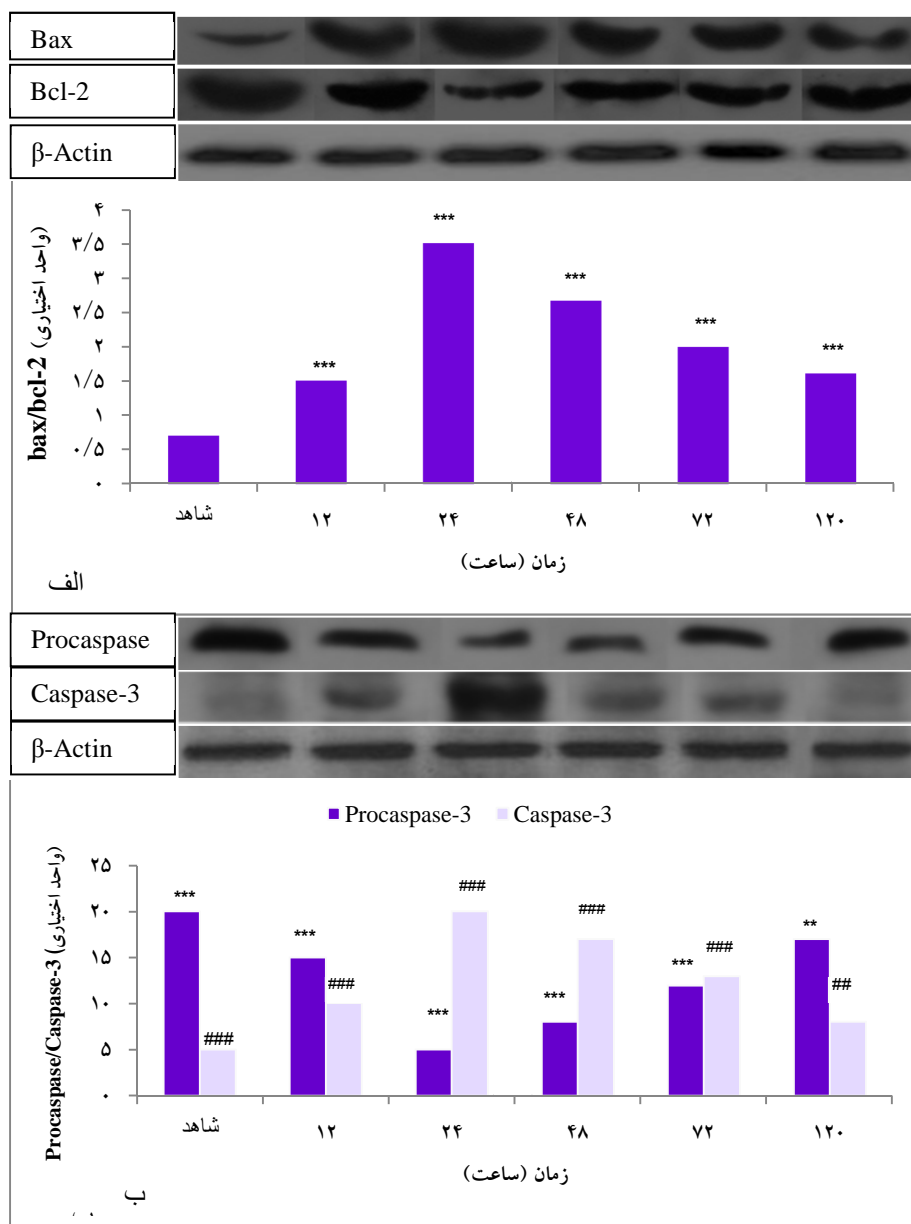
کیت سنجش فعالیت Caspase-3، آب مقطر، سمپلر و سر سمپلر، دستگاه الیزا ریدر

ص- روش سنجش فعالیت Caspase-3:

کیت سنجش فعالیت Caspase-3 حاوی دو محلول به نام‌های A و B می‌باشد. به منظور انجام این آزمون، مقدار $25 \mu\text{l}$ از محلول A را به همراه $25 \mu\text{l}$ آب مقطر در ول‌های یک پلیت ۹۶ خانه‌ای می‌ریزیم و سپس مقدار $25 \mu\text{l}$ از محلول B را به هر یک از ول‌ها اضافه می‌کنیم و به سرعت مقدار جذب در طول موج 540 nm را در دستگاه الیزا ریدر می‌خوانیم. افزایش

افزایش در آپوپتوز در واقع در ساعت ۲۴ رخ داده است یا این که قبل از آن شروع شده است (شکل ۱).

در فاصله‌ی بین ساعت‌های ۱۲ و ۲۴ نیز سنجشی صورت نگرفت، به طور دقیق مشخص نشد که این



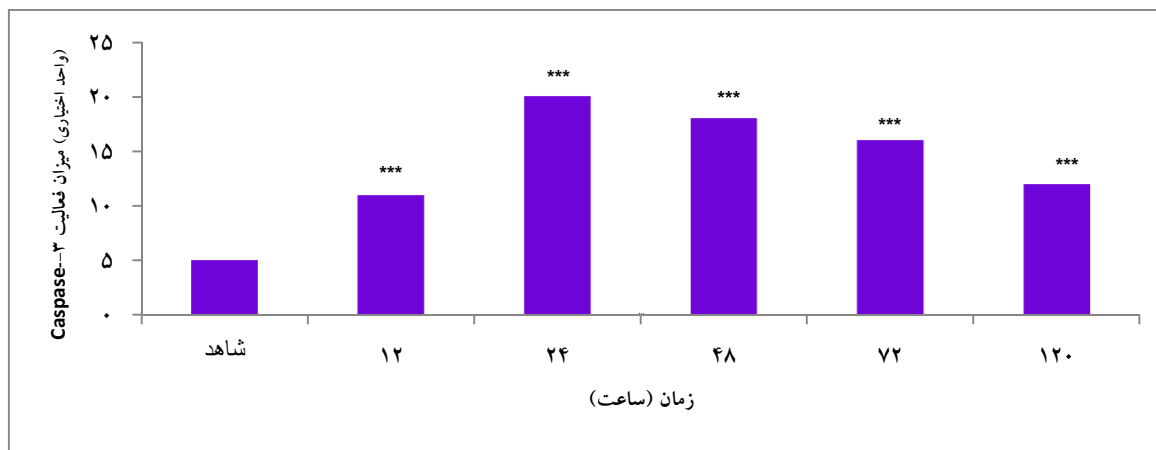
شکل ۱. اثرات تزریق درون صفاقی LPS (Lipopolysaccharide) بر تغییرات عوامل آپوپتوزی (الف) نتایج وسترن بلات و آنالیز کمی عوامل Bax (Bcl-۲-associated X protein) و Bcl-۲ (B-cell lymphoma-۲).

(ب) نتایج وسترن بلات و آنالیز کمی عامل Caspase-۳

این شکل نشان می‌دهد که تزریق لیپوپلی ساکارید موجب افزایش سطح عوامل آپوپتوزی Bax و Caspase-۳ و به طور متقابل، کاهش سطح عامل ضد آپوپتوزی Bcl-۲ می‌شود.

۶۰ μ g پروتئین در وسترن بلات بر روی SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis) جدا شد و تحت تأثیر آنتی بادی‌های ضد Bax، Bcl-۲، Caspase-۳ و β -actin قرار گرفت.

^{***}P < ۰/۰۰۱; ^{**}P < ۰/۰۱; ^{###}P < ۰/۰۰۱; ^{##}P < ۰/۰۱ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد



شکل ۲. بررسی میزان فعالیت Caspase-3

این نتایج مؤید نتایج حاصل از وسترن بلات برای این عامل آپوپتوزی می‌باشند و با استفاده از کیت سنجش فعالیت Caspase-3 در دستگاه الیزا ریدر به دست آمده‌اند.

$P < 0/001$ *** تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد

دلیل است که حافظه‌ی حیوان به درستی کار می‌کند، بلکه ممکن است به این دلیل باشد که التهاب ایجاد شده در حیوان باعث بروز عدم تمایل حیوان برای ورود به اتاقک تاریک به دلیل ضعف و بی‌حالی باشد و این ضعف در ساعت ۲۴ از بین می‌رود و حیوان هر چند با تأخیر اما در نهایت به اتاقک تاریک وارد می‌شود. در ساعت ۴۸ نیز نتیجه‌ای مشابه با ساعت ۲۴ رخ داد و حیوان به اتاقک تاریک وارد شد (شکل ۳).

بحث

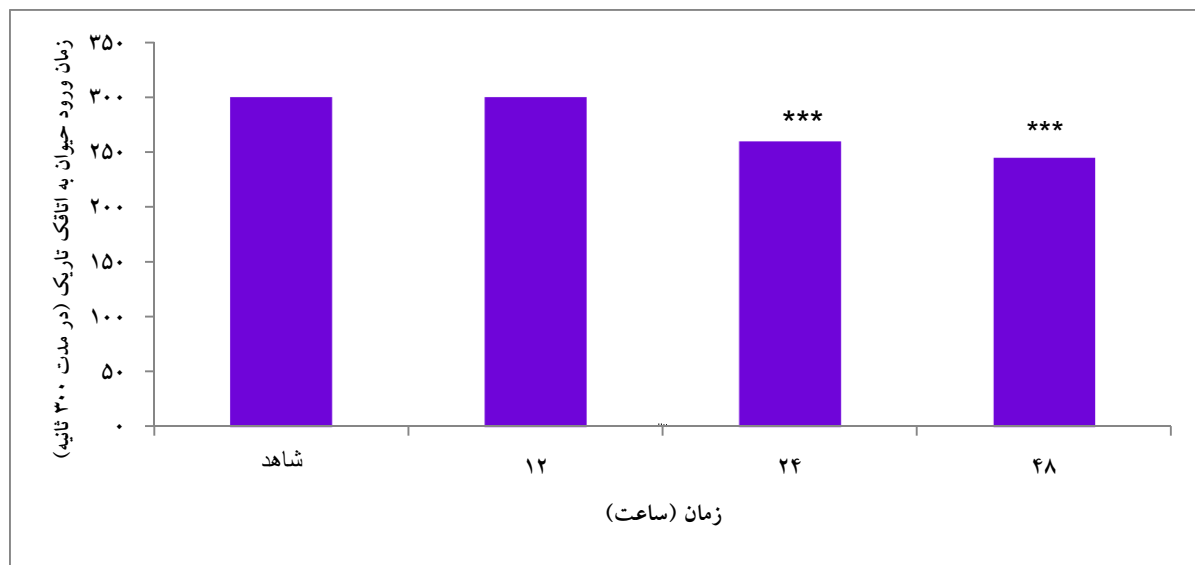
مطالعه‌ی حاضر به طور مشخصی افزایش سطح عوامل آپوپتوزی Caspase-3 و Bax و نیز کاهش سطح عامل ضد آپوپتوزی Bcl-2 را نشان می‌دهد. آزمون سنجش فعالیت Caspase-3 با استفاده از کیت آن انجام شد و نتیجه‌ی به دست آمده، مؤید فعال شدن این عامل آپوپتوزی بود. همچنین موش‌هایی که LPS دریافت کرده بودند، در زمان کمتری نسبت به گروه شاهد به اتاقک تاریک شاتل باکس وارد شدند.

۲- سنجش فعالیت Caspase-3 توسط کیت آن نتایج وسترن بلات را تأیید کرد.

برای اطمینان بیشتر در مورد فعالیت Caspase-3 و بروز آپوپتوز از کیت سنجش فعالیت Caspase-3 هم استفاده شد که نتایج به دست آمده، روندی را مشابه با وسترن بلات نشان داد (شکل ۲).

۳- آزمون رفتاری انجام شده در این مطالعه بروز اختلال در حافظه را نشان داد.

به منظور بررسی اثر LPS روی حافظه، از آزمون رفتاری شاتل باکس استفاده شد. این آزمون، تنها به منظور نشان دادن اثر اندوتوکسین در حافظه انجام شد و روند زمانی خاصی مد نظر نبود و نتایج به دست آمده، نشان داد که با وجود این که در ساعت ۱۲ اختلال در حافظه دیده نمی‌شود و حیوان از اتاقک روشن به اتاقک تاریک وارد نمی‌شود؛ اما این امر در ساعت ۲۴ اتفاق می‌افتد و حیوان به اتاقک تاریک وارد می‌شود. بنابراین با قاطعیت نمی‌توان گفت که عدم ورود حیوان به اتاقک تاریک در ساعت ۱۲ به این



شکل ۳. نتایج حاصل از آزمون رفتاری شاتل باکس. این نتایج همچنان که در بالا گفته شد، نشان دهنده‌ی ورود با تأخیر حیوان به اتاقک تاریک می‌باشد که اثر **Lipopolysaccharide (LPS)** را در بروز اختلال در حافظه در آزمایش طراحی شده نشان می‌دهد. حیوانات در روز آموزش، نتایج مشابهی را در عدم ورود به اتاقک تاریک، به دنبال دریافت اولین شوک نشان دادند.

$P < 0/001$ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد

بر افزایش مستقیم تکثیر سلولی، عمل می‌کند. نسبت $Bax/Bcl-2$ و نتایج تشکیل هومودیمراهای $Bax-Bax$ که آپوپتوز را تحریک می‌کنند یا هترودیمراهای $Bax/Bcl-2$ که آپوپتوز را مهار می‌کنند، باعث یک مکانیسم تنظیمی داخل سلولی می‌شوند. در بیماری‌های نورودژنراتیو، افزایش بیان Bax با کاهش بقای سلول همراه است (۱۹). آپوپتوز، مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول است که به وسیله‌ی خانواده‌ی آنتی آپوپتوزهای $Bcl-2$ تنظیم می‌شود که پروتئین‌های خانواده‌ی $Bcl-2$ به وسیله‌ی پروتئین Bax مهار می‌شود و در نتیجه‌ی آن، منفذهایی در غشای میتوکندری شکل می‌گیرد که موجب آزاد شدن سیتوکروم C و فعال شدن کاسپازها می‌شود و در ادامه، آپوپتوز صورت می‌گیرد (۲۰).

LPS اندوتوکسین باکتریایی است که در بافت‌های محیطی از طریق تحریک سلول‌های شبه ماکروفاژی

بیماری آلزایمر یک بیماری پیش رونده و برگشت ناپذیر است که به آهستگی حافظه و مهارت‌های فکری را نابود می‌سازد و سرانجام حتی توانایی انجام ساده‌ترین فعالیت‌ها را نیز از فرد می‌گیرد. مهم‌ترین مشخصه‌ی این بیماری، انباشتگی پروتئین آمیلوئید بتا ($A\beta$ یا Amyloid-beta) در سلول‌های عصبی در مغز و تجمع پروتئین Tau در نورون‌ها است. در این بیماری، انتقال اطلاعات در سیناپس‌ها دچار اختلال می‌شود و تعداد سیناپس‌ها رو به زوال می‌رود. آپوپتوز نوعی از مرگ سلولی به صورت یکسری از مراحل ملکولی در یک سلول است که منجر به مرگ آن سلول می‌شود. این یک روش طبیعی بدن برای رها شدن از سلول‌های غیر ضروری یا غیر طبیعی است.

پروتئین‌های خانواده‌ی $Bcl-2$ مرحله‌ای را در مسیر حفاظت شده‌ی آپوپتوز تنظیم می‌کنند. $Bcl-2$ تنها انکوژنی است که از طریق مهار آپوپتوز، علاوه

دنبال این واقعه، اختلال در حافظه بروز نماید. همچنین در پژوهش حاضر به منظور تأیید نتایج به دست آمده برای افزایش سطح Caspase-3، آزمون سنجش فعالیت Caspase-3 با استفاده از کیت آن انجام شد که نتیجه‌ی به دست آمده مؤید فعال شدن این عامل آپوپتوزی می‌باشد. موش‌هایی که LPS دریافت کرده‌اند، در زمان کمتری نسبت به گروه شاهد به اتاقک تاریک شاتل باکس وارد شدند. به این صورت که در گروه شاهد و در گروه ساعت ۱۲، ورود به اتاقک تاریک شاتل باکس یا صورت نمی‌گیرد و یا این که در زمانی خیلی دیر رخ می‌دهد؛ اما در ساعت ۲۴ ورود موش‌ها به اتاقک تاریک سریع‌تر رخ داده است و می‌توان آن را نشانه‌ی بروز اختلال در حافظه دانست. این اختلال در ساعت ۴۸ بیشتر شد و موش‌ها در زمانی کمتر نسبت به سایر گروه‌ها به اتاقک تاریک وارد شدند.

بنابراین، نتیجه‌گیری می‌شود که با افزایش مدت زمان بعد از تزریق LPS، تعداد بیشتری از سلول‌های ناحیه‌ی هیپوکمپ که در حافظه نقش دارند، دچار مرگ سلولی می‌شوند و فرایند حافظه دچار اختلال می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در دانشگاه خوارزمی تهران و با حمایت مالی این دانشگاه انجام گرفته است. بدین وسیله از تمامی افرادی که در اجرای این مطالعه همکاری نمودند، قدردانی می‌گردد.

سبب تحریک سیستم ایمنی می‌شود (۲۱). یکی از چندین نتایج LPS روی مغز، فعال شدن JNK از طریق فسفریلاسیون آن به دنبال اتصال IL-1 β (Interleukin-1 beta) به گیرنده‌اش می‌باشد (۲۲). مطالعات نشان داده است که فعال شدن JNK با تغییرات تحلیلی در سلول‌های کورتکس اینتورینال (۲۳) و نیز هیپوکمپ (۲۴) همراه است. JNK موجب فعال شدن عامل رونویسی C-jun (۲۵) می‌شود که در نهایت، می‌تواند Caspase-3 و Caspase-8 را که عوامل مرتبط با استرس و مرگ سلولی هستند، فعال کند (۲۶). نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر به طور مشخصی افزایش سطح عوامل آپوپتوزی Caspase-3 و Bax و نیز کاهش سطح عامل ضد آپوپتوزی Bcl-2 را نشان می‌دهد. این‌ها عوامل تعیین کننده‌ی بقا یا مرگ سلولی هستند. آن چه مشخص است، این است که به دنبال تزریق درون صفاقی LPS، سطح عوامل آپوپتوزی در سلول‌های ناحیه‌ی هیپوکمپ افزایش می‌یابد. این تغییرات، شاید در ساعت‌های بعدی با سرعت کمتری پیش برود؛ زیرا آمادگی سایر سلول‌ها برای مقابله با بروز مرگ سلولی، بیشتر می‌شود؛ اما با قاطعیت نمی‌توان گفت که افزایش این آمادگی می‌تواند از بروز مرگ سلولی جلوگیری کند.

شدت افزایش سطح این عوامل آپوپتوزی در مطالعه‌ی حاضر به حدی است که می‌توان انتظار داشت مرگ سلولی در سطح وسیعی رخ دهد و به

References

1. Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. N Engl J Med 2010; 362(4): 329-44.
2. Mufson EJ, Counts SE, Perez SE, Ginsberg SD. Cholinergic system during the progression of Alzheimer's disease: therapeutic implications. Expert Rev Neurother 2008; 8(11): 1703-18.
3. Coleman P, Federoff H, Kurlan R. A focus on the synapse for neuroprotection in Alzheimer

- disease and other dementias. *Neurology* 2004; 63(7): 1155-62.
4. Squire LR. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 2004; 82(3): 171-7.
 5. Gold CA, Budson AE. Memory loss in Alzheimer's disease: implications for development of therapeutics. *Expert Rev Neurother* 2008; 8(12): 1879-91.
 6. Heneka MT, O'Banion MK. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neuroimmunol* 2007; 184(1-2): 69-91.
 7. Khan AA, Iadarola M, Yang HY, Dionne RA. Expression of COX-1 and COX-2 in a clinical model of acute inflammation. *J Pain* 2007; 8(4): 349-54.
 8. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007; 35(4): 495-516.
 9. Roth KA. Caspases, apoptosis, and Alzheimer disease: causation, correlation, and confusion. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; 60(9): 829-38.
 10. Mazumder S, Plesca D, Almasan A. Caspase-3 activation is a critical determinant of genotoxic stress-induced apoptosis. *Methods Mol Biol* 2008; 414: 13-21.
 11. Breitner JC, Gau BA, Welsh KA, Plassman BL, McDonald WM, Helms MJ, et al. Inverse association of anti-inflammatory treatments and Alzheimer's disease: initial results of a co-twin control study. *Neurology* 1994; 44(2): 227-32.
 12. Barry CE, Nolan Y, Clarke RM, Lynch A, Lynch MA. Activation of c-Jun-N-terminal kinase is critical in mediating lipopolysaccharide-induced changes in the rat hippocampus. *J Neurochem* 2005; 93(1): 221-31.
 13. Tanaka S, Ide M, Shibutani T, Ohtaki H, Numazawa S, Shioda S, et al. Lipopolysaccharide-induced microglial activation induces learning and memory deficits without neuronal cell death in rats. *J Neurosci Res* 2006; 83(4): 557-66.
 14. Choi DY, Lee JW, Lin G, Lee YK, Lee YH, Choi IS, et al. Obovatol attenuates LPS-induced memory impairments in mice via inhibition of NF-kappaB signaling pathway. *Neurochem Int* 2012; 60(1): 68-77.
 15. Semmler A, Okulla T, Sastre M, Dumitrescu-Ozimek L, Heneka MT. Systemic inflammation induces apoptosis with variable vulnerability of different brain regions. *J Chem Neuroanat* 2005; 30(2-3): 144-57.
 16. Yamada K, Komori Y, Tanaka T, Senzaki K, Nikai T, Sugihara H, et al. Brain dysfunction associated with an induction of nitric oxide synthase following an intracerebral injection of lipopolysaccharide in rats. *Neuroscience* 1999; 88(1): 281-94.
 17. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007; 87(1): 315-424.
 18. Cakala M, Malik AR, Strosznajder JB. Inhibitor of cyclooxygenase-2 protects against amyloid beta peptide-evoked memory impairment in mice. *Pharmacol Rep* 2007; 59(2): 164-72.
 19. Ola MS, Nawaz M, Ahsan H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis. *Mol Cell Biochem* 2011; 351(1-2): 41-58.
 20. Perrin BJ, Huttenlocher A. Calpain. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34(7): 722-5.
 21. Quan N, Sundar SK, Weiss JM. Induction of interleukin-1 in various brain regions after peripheral and central injections of lipopolysaccharide. *J Neuroimmunol* 1994; 49(1-2): 125-34.
 22. Loscher CE, Donnelly S, Mills KH, Lynch MA. Interleukin-1beta-dependent changes in the hippocampus following parenteral immunization with a whole cell pertussis vaccine. *J Neuroimmunol* 2000; 111(1-2): 68-76.
 23. Vereker E, Campbell V, Roche E, McEntee E, Lynch MA. Lipopolysaccharide inhibits long term potentiation in the rat dentate gyrus by activating caspase-1. *J Biol Chem* 2000; 275(34): 26252-8.
 24. Lonergan PE, Martin DS, Horrobin DF, Lynch MA. Neuroprotective actions of eicosapentaenoic acid on lipopolysaccharide-induced dysfunction in rat hippocampus. *J Neurochem* 2004; 91(1): 20-9.
 25. Gupta S, Barrett T, Whitmarsh AJ, Cavanagh J, Sluss HK, Derijard B, et al. Selective interaction of JNK protein kinase isoforms with transcription factors. *EMBO J* 1996; 15(11): 2760-70.
 26. Zimmermann KC, Bonzon C, Green DR. The machinery of programmed cell death. *Pharmacol Ther* 2001; 92(1): 57-70.

Effect of Intraperitoneal Injection of Lipopolysaccharide (LPS) on Apoptosis, Memory and Alzheimer's Disease Processes in the Hippocampus of Male Wistar Rats in a Time-Dependent Manner

Shahrbanoo Oryan PhD¹, Morteza Nazari-Serenjeh MSc², Masoud Bagherpoor-Zarchi MSc², Fariba Khodagholi PhD³, Mohammad Nabiuni PhD⁴, Kiana Shahzamani PhD⁵

Original Article

Abstract

Background: In this study, the effects of intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS) in causing apoptosis by increasing the amount of protein apoptotic B-cell lymphoma-2- associated X protein (Bax) and Caspase-3 and decreasing protein anti-apoptotic B-cell lymphoma-2 (bcl-2) in the hippocampus of rats and its effect on memory in a time-dependent manner at 12, 24, 48, 72 and 120 hours after injection were examined.

Methods: Male Wistar rats of 230 to 250 g for Western blotting, enzymatic test and shuttle box were used.

Findings: Increase in the protein content of apoptotic Bax and Caspase-3 and decrease in antiapoptotic bcl-2 protein in a time-dependent manner was observed in cases compared to the controls. The results of testing the enzyme Caspase-3 confirmed Western blotting results. Dysfunction caused by LPS in memory determined by shuttle box test. All the results were significant at the level of $P < 0.001$.

Conclusion: Results showed that LPS increased the incidence of apoptosis and neuronal cell death in the hippocampus region of the brain of male Wistar rats in a time-dependent manner and decrease animal's memory.

Keywords: Alzheimer's disease, Apoptosis, Shuttle box, Lipopolysaccharide

Citation: Oryan Sh, Nazari-Serenjeh M, Bagherpoor-Zarchi M, Khodagholi F, Nabiuni M, Shahzamani K. **Effect of Intraperitoneal Injection of Lipopolysaccharide (LPS) on Apoptosis, Memory and Alzheimer's Disease Processes in the Hippocampus of Male Wistar Rats in a Time-Dependent Manner.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(285): 650-9

1- Associate Professor, Department of Animal Physiology, School of Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran

2- Department of Animal Physiology, School of Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran

3- Associate Professor, Department of Cellular and Molecular Biology, School of Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran

4- Assistant Professor, Department of Cellular and Molecular Biology, School of Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran

5- Assistant Professor, Department of Biology, School of Science, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Corresponding Author: Morteza Nazari-Serenjeh MSc, Email: mortezanazariserenjeh@gmail.com

بررسی پلی مورفیسم تکرار CAC در ژن HOXA1 و ارتباط آن با سرطان پستان

سمیه نجفی درجه^۱، دکتر منوچهر توسلی^۲، دکتر سیمین همتی^۳، فروزان صفری^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: HOXA1 یک عامل رونویسی می‌باشد. این ژن در طی رشد و تکثیر طبیعی سلول‌های اپی‌تلیال پستان، یا بیان نمی‌شود یا بیان آن بسیار کم است؛ اما در سرطان پستان افزایش بیان پیدا می‌کند. تاکنون مطالعه‌ای در مورد ارتباط تعداد تکرارهای CAC (پلی هیستیدین) واقع در اگزون ۱ ژن HOXA1 و سرطان صورت نگرفته است. هدف این پژوهش، بررسی پلی مورفیسم CAC واقع در اگزون ۱ ژن HOXA1 در بین مبتلایان به سرطان پستان و افراد سالم و ارتباط آن با سرطان پستان می‌باشد.

روش‌ها: در این پژوهش، نمونه‌ی خون ۱۹۳ زن مبتلا به سرطان پستان و ۲۰۰ زن سالم جمع‌آوری و بررسی شد. پس از استخراج DNA ژنومی از خون محیطی و تکثیر توالی مورد نظر، تعداد تکرار و توالی CAC به وسیله‌ی الکتروفورز بر روی ژل پلی‌آکریل‌امید و تعیین توالی به دست آمد.

یافته‌ها: در این مطالعه، ۵ آلل متفاوت از تکرار CAC بین ۳ تا ۷ تکرار و ۵ ترکیب آلی (ژنوتیپ) مختلف در بین افراد شاهد و مورد مشاهده شد. بیشترین فراوانی آلی در میان افراد بیمار و سالم مربوط به آلل ۷ تکرار بود. هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین این پلی مورفیسم و خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده نشد. بررسی‌های آماری نشان داد که بین ژنوتیپ‌های هموزیگوت ۷ و گیرنده‌های استروژن و پروژسترون، ارتباط معنی‌داری وجود دارد.

نتیجه‌گیری: بین توالی تکراری CAC در اگزون ۱ ژن HOXA1 و خطر ابتلا به سرطان پستان ارتباط معنی‌داری وجود ندارد، اما بین ژنوتیپ‌های هموزیگوت ۷ و گیرنده‌های استروژن و پروژسترون ارتباط معنی‌داری وجود دارد.

واژگان کلیدی: HOXA1، سرطان پستان، تکرار CAC، پلی مورفیسم

ارجاع: سمیه نجفی درجه، توسلی منوچهر، همتی سیمین، صفری فروزان. بررسی پلی مورفیسم تکرار CAC در ژن HOXA1 و ارتباط

آن با سرطان پستان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۵): ۶۶۸-۶۶۰

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان و نیز مهم‌ترین عامل مرگ‌های سرطانی در بین زنان است (۱). تحقیقات نشان می‌دهد سرطان پستان یکی از فراوان‌ترین بدخیمی‌ها در میان زنان ایرانی می‌باشد؛ به صورتی که از هر ۱۰۰۰۰۰ زن ایرانی ۱۲۰ نفر به این سرطان

مبتلا می‌شوند (۲-۳).

سرطان پستان یک فرایند چند مرحله‌ای است و ژن‌های بسیاری شامل BRCA1/2، TP53، PIK3، PTEN، STK11 و CDH1 در بروز آن دخالت دارند (۴-۵). عوامل رونویسی یک نقش مرکزی در تکامل جنین دارند (۶). ژن‌های Hox (Hox genes) عوامل

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استادیار، گروه پرستودرمانی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

رونویسی را کد می‌کنند. این عوامل در تکامل، تمایز، تحرک، رگ‌زایی و آپوپتوز نقش دارند. بنابراین تغییر در بیان آن‌ها نقش مهمی در آنکوژنز یا مهار تومور دارد (۷).

در پستانداران، ۴ گروه از ژن‌های HOX بر روی ۴ کروموزوم مختلف وجود دارند و بیان این ژن‌ها در سرطان‌های مختلف، متفاوت می‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که بیان خارج از کنترل ژن HOX در سرطان پستان، مثانه، ملانوما، تخمدان و سلول‌های پوششی دهان دخالت دارند (۸-۱۵). ۱۷ مورد از ژن‌های HOX در بافت طبیعی پستان بیان می‌شوند که بیان مشابه آن‌ها در بافت طبیعی و سرطانی پستان نشان می‌دهد که آن‌ها در ارگانوژنز پستان دخالت دارند (۱۶). حداقل ۱۱ ژن HOX از جمله ژن HOXA1 در سرطان پستان دخالت دارند (۱۷). ژن HOXA1 در طی رشد و تکثیر طبیعی سلول‌های اپی‌تلیال پستان، بیان نمی‌شود یا بسیار کم بیان می‌شود؛ اما در سرطان پستان افزایش بیان پیدا می‌کند (۱۸-۱۹).

تحقیقات نشان می‌دهد پروتئین HOXA1 دارای توالی حفاظت شده‌ی متصل شونده به DNA است و از طریق تریپتوفان و متیونین حفاظت شده با PBX (Pre-B-cell-leukemia homeobox) میان‌کنش می‌دهد و به عنوان عامل رونویسی به DNA متصل می‌شود (۲۰). بیان ژن‌های HOX در سلول‌های طبیعی پستان به وسیله‌ی هورمون‌ها (مانند هورمون رشد انسانی)، ماتریکس خارج سلولی و عوامل ناشناخته‌ی دیگر کنترل می‌شود (۲۱، ۱۷). رشد تومور در سلول‌های اپی‌تلیال پستان با افزایش بیان هورمون رشد انسانی (hGH یا Human growth hormone) مرتبط می‌باشد و محصولات hGH سبب افزایش بیان و

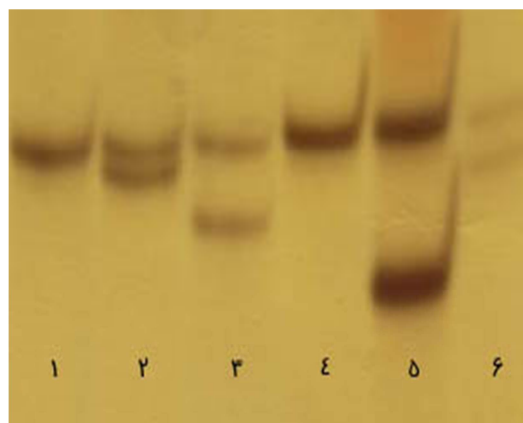
رونویسی HOXA1 می‌شوند (۲۵-۲۲).

علاوه بر این، افزایش بیان HOXA1 در سلول‌های سرطان پستان سبب راه‌اندازی مسیر MAPK (Mitogen-activated protein kinase) می‌شود و از این طریق، سبب افزایش بیان Bcl-2 (B cell lymphoma-۲)، یک عامل ضد آپوپتوز، می‌شود و در نتیجه، تعداد سلول‌ها افزایش می‌یابد. بیان HOXA1 سبب افزایش تکثیر مستقل سلول‌ها و سرطانی شدن آن‌ها و شکل‌گیری تومورهای بدخیم می‌شود. افزایش بیان HOXA1 نیز سبب مهار پاسخ سلول‌های سرطانی به داروهای ضد سرطان نظیر داونوروبیسین (Daunorubicin) (۲۶) و دوکسوروبیسین (Doxorubicin) (۲۷) می‌گردد.

در این مطالعه، پلی مورفیسم تکرار CAC در اگزون ۱ ژن HOXA1 و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان پستان در جمعیت اصفهان مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

نمونه‌ی خون تام ۱۹۳ زن بیمار مبتلا به سرطان پستان که تحت شیمی‌درمانی و رادیو درمانی قرار داشتند، با رضایت بیماران از بیمارستان سیدالشهدای (ع) اصفهان جمع‌آوری شد. همچنین نمونه‌ی خون تام ۲۰۰ زن سالم که جهت بررسی وضعیت سلامتی خود به بیمارستان مراجعه کرده بودند، جمع‌آوری شد. اطلاعات مربوط به سن، سابقه‌ی فامیلی ابتلا به سرطان پستان (در خویشاوندان درجه‌ی یک و دو)، متاستاز و وضعیت گیرنده‌ها از پرونده‌ی افراد مورد بررسی، استخراج شد. از نمونه‌ی خون افراد مورد مطالعه، DNA ژنومی به روش رسوب‌دهی نمکی استخراج گردید (۲۸) و ناحیه‌ی ژنی مورد نظر توسط پرایمرهای پیش‌رو



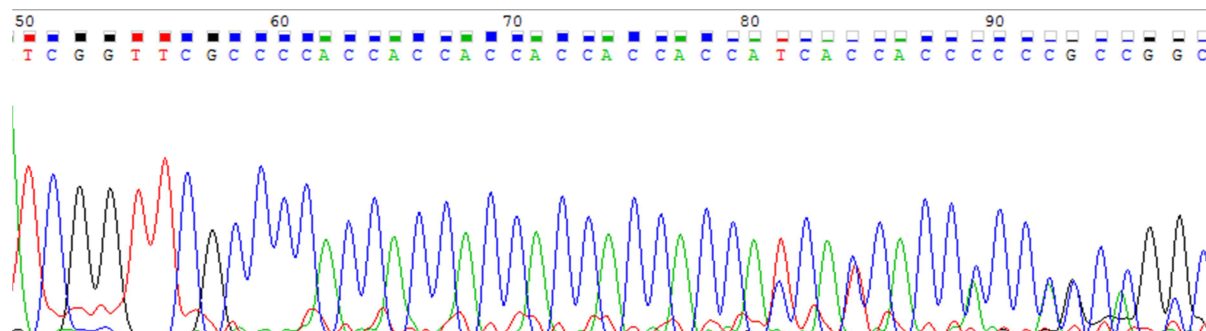
شکل ۱. تصویر ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد جهت بررسی پلی مورفیسم CAC در آگزون ۱ ژن HOXA1. اندازه‌های متفاوت آلل‌ها نشان دهنده اختلاف در تعداد تکرار CAC افراد مختلف می‌باشد. در نمونه‌ی شماره‌ی ۵، کوچک‌ترین (۳ تکرار) و بزرگ‌ترین (۷ تکرار) آلل قابل مشاهده می‌باشند. نمونه‌های شماره‌ی ۱ و ۴ هموزیگوت ۷/۷، شماره‌ی ۲ هتروزیگوت ۶/۷، شماره‌ی ۳ هتروزیگوت ۴/۷، شماره‌ی ۵ هتروزیگوت ۳/۷ و شماره‌ی ۶ هتروزیگوت ۵/۷ می‌باشند. نمونه‌ی شماره‌ی ۲ جهت تعیین توالی انتخاب شد.

پس از مشاهده‌ی پلی مورفیسم، نمونه‌ی هتروزیگوت شماره‌ی ۲ توسط کیت استخراج DNA از ژل آگارز شرکت فرمتاز خالص‌سازی شد. سپس جهت تعیین توالی به شرکت سیناکلون ارسال شد تا به عنوان نشانگر آللی مورد استفاده قرار گیرد (شکل ۲). به کمک این نشانگر، طول تکرار آلل‌های مورد و شاهد، تعیین و فراوانی آللی ژن HOXA1 محاسبه گردید. پس از آن، اطلاعات آماری توسط نرم‌افزار SISA انجام شد. در ابتدا فراوانی ترکیبات آللی و فراوانی آلل‌های ژن مورد نظر مشخص شد و سپس ارتباط این تکرارها با بروز سرطان به کمک آزمون χ^2 و (Odd ratio) توسط آزمون رگرسیون محاسبه شد. سطح معنی‌داری کوچک‌تر از $P < 0.05$ از لحاظ آماری مقبول فرض شد.

۵'-TTTCCAGTCGTGCGGGTCAG-۳' پیرو
 ۵'-AGGTTCCCGGAAGTCTGGTAGGT-۳' تکثیر گردید.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR یا Polymerase chain reaction) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۲۰۰-۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲۰۰ میکرو مولار (Deoxyribonucleotide) dNTPs، ۱۰۰ نانومولار از هر یک از پرایمرهای پیش‌رو و پیرو، ۲/۵ میکرولیتر از بافر ۱۰ X PCR، ۱/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$ ، ۱ مولار بتائین، ۲/۵ میکرولیتر از دی متیل سولفوکساید ۱۰ درصد و ۲ واحد آنزیم SmarTaq DNA polymerase (شرکت سیناژن تهران) در دستگاه ترموسایکلر شرکت اپندورف انجام شد.

پس از واسرشت شدن اولیه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۳ سیکل PCR در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه به منظور واسرشت شدن رشته‌ها، ۵۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه جهت اتصال پرایمرها و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه جهت گسترش پرایمرها انجام شد. یک سیکل انتهایی نیز جهت تکثیر توالی‌های ناقص به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. محصولات حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز توسط ژل آگارز ۱ درصد تأیید و جهت بررسی پلی مورفیسم ژن HOXA1 از الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد غیر واسرشت (Non-Denaturing PAGE یا Non-Denaturing polyacrylamide gel electrophoresis) استفاده شد. ژل با روش نیترا ت نقره رنگ‌آمیزی و نتایج توسط اسکنر ثبت شد (شکل ۱).



شکل ۲. آنالیز توالی یابی DNA برای نمونه‌ی هتروزیگوت ۲
تعداد تکرارهای CAC برای این نمونه ۶ و ۷ می‌باشد

بین افراد گروه‌های مورد و شاهد متعلق به آلل ۷، به ترتیب با فراوانی ۹۴/۵۶ و ۹۵ درصد بود. بنابراین این آلل با فراوانی ۹۴/۷۸ درصد رایج‌ترین آلل در میان کل افراد مورد مطالعه بود. کمیاب‌ترین آلل‌ها در بین کل افراد مورد مطالعه، مربوط به آلل‌های ۳ و ۵ با فراوانی ۰/۱۳ درصد بودند. آلل ۶ در بین افراد مورد ۱/۲۷ برابر افراد شاهد و آلل ۴ در افراد شاهد ۴ برابر افراد مورد بود؛ اما به دلیل این که $P < 0/05$ ، این یافته‌ها از لحاظ آماری مورد قبول واقع نشد (جداول ۱ و ۲).

یافته‌ها

با توجه به توانایی کم ژل آگارز در جداسازی قطعات DNA با اختلاف طول نزدیک به هم، برای اندازه‌گیری دقیق تعداد تکرارهای توالی CAC واقع در اگزون ۱ ژن HOXA1، بررسی‌های بعدی محصول PCR بر روی ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد انجام شد (شکل ۱). پراکنندگی تکرار آللی ژن HOXA1 در جمعیت اصفهان بین ۳ تا ۷ تکرار بود. بیشترین فراوانی آللی در

جدول ۱. فراوانی آلل‌های مختلف در بین افراد گروه‌های مورد، شاهد و کل افراد مورد آزمایش

شماره‌ی آلل	افراد مورد تعداد (درصد)	افراد شاهد تعداد (درصد)	کل افراد مورد بررسی تعداد (درصد)
۳	۱ (۰/۲۶)	۰	۱ (۰/۱۳)
۴	۱ (۰/۲۶)	۴ (۱/۰۰)	۵ (۰/۶۳)
۵	۰	۱ (۰/۲۵)	۱ (۰/۱۳)
۶	۱۹ (۴/۹۲)	۱۵ (۳/۷۵)	۳۴ (۴/۳۳)
۷	۳۶۵ (۹۴/۵۶)	۳۸۰ (۹۵/۰۰)	۷۴۵ (۹۴/۷۸)
جمع	۳۸۶ (۱۰۰)	۴۰۰ (۱۰۰)	۷۸۶ (۱۰۰)

جدول ۲. بررسی ارتباط بین آلل‌های مختلف و خطر ابتلا به سرطان پستان

آلل	OR	فاصله‌ی اطمینان	مقدار P
۴	۰/۲۵۷	۰/۰۲۹-۲/۳۱۱	۰/۱۹۱
۶	۱/۳۳۰	۰/۶۶۵-۲/۶۵۴	۰/۴۱۹
۷	۰/۹۱۵	۰/۴۸۸-۱/۷۱۶	۰/۷۸۱

OR: Odds ratio

متاستاز و وضعیت گیرنده‌ها بررسی شد (جدول ۵ و ۶). سپس این اطلاعات توسط آزمون رگرسیون بررسی شدند. نتایج این بررسی‌های آماری نشان داد که بین ژنوتیپ ۷/۷ و گیرنده‌های استروژن و پروژسترون ارتباط معنی‌داری وجود دارد.

جدول ۳. فراوانی انواع ترکیبات آلی مشاهده شده در بین افراد گروه‌های مورد و شاهد

ژنوتیپ	افراد مورد تعداد (درصد)	افراد شاهد تعداد (درصد)
۳/۷	۱ (۰/۵۲)	۰
۴/۷	۱ (۰/۵۲)	۴ (۲/۰۰)
۵/۷	۰	۱ (۰/۵۰)
۶/۷	۱۹ (۹/۸۴)	۱۵ (۷/۵۰)
۷/۷	۱۷۲ (۸۹/۱۲)	۱۸۰ (۹۰/۰۰)
کل	۱۹۳ (۱۰۰)	۲۰۰ (۱۰۰)

همچنین در افراد مورد بررسی، ۵ ترکیب آلی (ژنوتیپ) مختلف شناسایی شد که در میان آن‌ها ترکیب آلی ۷/۷ بیشترین فراوانی را در هر دو گروه شاهد (۹۰/۰۰ درصد) و مورد (۸۹/۱۲ درصد) به خود اختصاص داده بود. ترکیب آلی ۵/۷ فقط در افراد شاهد و ترکیب آلی ۳/۷ فقط در گروه مورد مشاهده شد. در جدول ۳، توزیع فراوانی هر ترکیب آلی در بین افراد گروه‌های مورد و شاهد آمده است. آزمون رگرسیون لجستیک نشان داد که طول توالی تکراری CAC نمی‌تواند به عنوان یک عامل مؤثر در ایجاد سرطان پستان ایفای نقش کند (جدول ۲ و ۴). در مرحله‌ی بعد، ارتباط طول تکرار CAC در ژن HOXA1 با عوامل سن، سابقه‌ی فامیلی ابتلا به سرطان پستان (در خویشاوندان درجه‌ی یک و دو)،

جدول ۴. بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف و خطر ابتلا به سرطان پستان

نوع ترکیب آلی	OR	فاصله‌ی اطمینان	مقدار P
۵/۷+۴/۷+۳/۷	۰/۴۰۸	۰/۰۷۸-۲/۱۳	۰/۲۷۳
۶/۷	۱/۳۴۷	۰/۶۶۴-۲/۷۳۴	۰/۴۰۸
۷/۷	۰/۹۱۰	۰/۴۷۶-۱/۷۳۸	۰/۷۷۵

OR: Odds ratio

جدول ۵. بررسی ارتباط بین ژنوتیپ ۷/۷ و گیرنده‌ی استروژن

ژنوتیپ	تعداد		OR (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد)	مقدار P
	ER-	ER+		
۷/۷	۲۷	۶۶	۴/۰۷۴ (۱/۳۴۷-۱۲/۳۲۲)	۰/۰۰۹
سایر ژنوتیپ‌ها	۱۰	۶	۴/۰۷۴ (۱/۳۴۷-۱۲/۳۲۲)	

ER: Estrogen receptor; OR: Odds ratio

جدول ۶. بررسی ارتباط بین ژنوتیپ ۷/۷ و گیرنده‌ی پروژسترون

ژنوتیپ	تعداد		OR (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد)	مقدار P
	PR-	PR+		
۷/۷	۳۱	۶۲	۳/۳۳۳ (۱/۱۰۹-۱۰/۰۱۵)	۰/۰۲۶
سایر ژنوتیپ‌ها	۱۰	۶		

PR: Progesterone receptor; OR: Odds ratio

بحث

ژن‌های HOX نه تنها در تکامل، تمایز، تحرک و رگ‌زایی دخالت دارند؛ بلکه در آپوپتوز هم نقش مهمی دارند. بنابراین، تغییرات در بیان آن‌ها می‌تواند هم در تومورزایی و هم در سرکوب تومور و در نتیجه، تشخیص و درمان تومور نقش داشته باشد. بیان بیش از حد HOXA1 سبب افزایش پروتئین‌های MEK1 (MAPK/ERK kinase) و GRB2 (Growth factor receptor-bound protein2) و افزایش فسفریلاسیون مسیر P44/42MAPK می‌شود. بنابراین راه‌اندازی این مسیر می‌تواند یکی از مکانیسم‌هایی باشد که HOXA1 سبب تغییر آنکوژنیک سلول‌های اپی‌تلیال پستان انسان می‌شود.

DNAهای ماهواره‌ای ریز یا STRها (Short tandem repeats) با قرار گرفتن در توالی افزایش دهنده‌ها و یا حتی خارج از توالی آن‌ها و شاید با تغییر ساختمان ایجاد شده، می‌توانند بر روی بیان ژن‌ها تأثیر بگذارند. STRها همچنین با قرار گرفتن در ایترون‌ها و تغییر ساختمان ایجاد شده، می‌توانند در سرعت جدا شدن ایترون‌ها و در نتیجه بر بیان ژن‌ها تأثیر بگذارند.

تاکنون مطالعه‌ای بر روی پلی مورفیسم این میکروستلایت ژن HOXA1 و ارتباط آن با سرطان انجام نشده است. در این پژوهش، الگوی پراکندگی و فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف میکروستلایت اگزون 1 ژن HOXA1 و ارتباط آن با سرطان پستان در منطقه‌ی اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعات نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین پلی مورفیسم CAC در ژن HOXA1 و خطر ابتلا به سرطان پستان وجود ندارد.

Paraguison و همکاران نشان دادند که HOXA1

شامل 10 تکرار هیستیدین می‌باشد، اما افراد هتروزیگوت برای واریانت‌های 7، 9، 11 و 12 تکرار نیز در بین جمعیت ژاپن مشاهده شد. HOXA1 در اثر Splicing فرعی، دو ایزوفرم A و B را تولید می‌نماید. Paraguison و همکاران به منظور نشان دادن تأثیر طول توالی تکراری هیستیدین، واریانت‌های متفاوت HOXA1 را در لاین سلولی نوروبلاستوما انسان و لاین سلولی شبه فیروپلاستی مشتق شده از بافت کلیه‌ی میمون COS-7 [CV-1 (simian) in Origin, and carrying the SV40 genetic material] بیان کردند. نتایج مطالعه‌ی آن‌ها نشان داد که افزایش واریانت ایزوفرم A این ژن که شامل هیستیدین 11 و 12 تکرار می‌باشند، سبب درجه‌ی بیشتر و سریع‌تر تجمع هسته‌ای این پروتئین و در نتیجه، افزایش مرگ سلولی در این سلول‌ها در مقایسه با واریانت‌های 7 و 10 تکرار می‌باشد. آن‌ها همچنین نشان دادند که ترکیب اصلاح‌کننده‌ی هیستیدین به نام DEPC (Diethylpyrocarbonate) سبب Ubiquitin کردن و مهار این تجمع می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهد پروتئین HOXA1 با پلی هیستیدین وسیع، سبب تجمع نامناسب می‌شود و دارای اثر سمی بر سلول می‌باشد (29).

Paraguison و همکاران نشان دادند که افزایش

تکرارهای پلی هیستیدین نه تنها سبب افزایش تجمع داخل هسته‌ای می‌شوند، همچنین باعث تجمع سیتوپلاسمی در مراحل ابتدایی بیان می‌شوند. آن‌ها همچنین نشان دادند که راپامایسین که یک محرک اتوفازی می‌باشد، سبب کاهش تجمع پروتئین‌ها و

و پروژستین سبب افزایش بیان HOXA1 می شود (۱۸).

به طور خلاصه، نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیانگر این بود که بین توالی تکراری CAC در ژن HOXA1 و افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان ارتباط معنی داری وجود نداشت. بنابراین، اگرچه مطالعات قبلی نشان می داد که افزایش تکرارهای هیستیدین سبب افزایش تجمع داخل هسته ای و سرعت دادن به مرگ سلولی می شود و پروتئین هایی که در آن ها توالی تکراری هیستیدین حذف شده است، منجر به تجمع داخل هسته ای نمی شوند، در این پژوهش ارتباطی مشاهده نشد. بررسی های آماری نشان داد که بین ژنوتیپ ۷/۷ و گیرنده های استروژن و پروژسترون ارتباط معنی داری وجود دارد.

تشکر و قدردانی

از حمایت مالی مدیریت پژوهشی دانشگاه اصفهان جهت انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می شود.

مرگ سلولی می شود. آن ها در این مطالعه، اثر واریانت های متفاوت HOXA1 و عامل مشترک PBX1 (PBX1 cofactor) را مورد بررسی قرار دادند. تحقیقات آن ها نشان می داد که افزایش واریانت های HOXA1 سبب کاهش میان کنش آن با عامل مشترک PBX1 می شود (۳۰).

با این وجود، نتایج این پژوهش ارتباط معنی داری بین تعداد تکرارهای هیستیدین و خطر ابتلا به سرطان پستان را نشان نداد؛ اما ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ هموزیگوت بزرگ ترین تکرار و گیرنده های استروژن ($OR = 4/0$) و پروژسترون ($OR = 3/3$) مشاهده شد.

تحقیقات قبلی نشان می دهد که هیستون دمتیلاز KDM3A (از عوامل مشترک گیرنده ای استروژن) از طریق اتصال به منطقه ی پروموتوری ژن HOXA1 و دمتیله کردن H3 در لیزین ۹، سبب فعال کردن رونویسی HOXA1 می شود (۳۱). از سوی دیگر، تحقیقات نشان می دهد که HOXA1 از اهداف پایین دست پروژستین (نوعی پروژسترون ساختگی) است

References

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA: A Cancer Journal for Clinicians 2011; 61(2): 69-90.
- Yavari P, Mosavizadeh M, Sadrol-Hefazi B, Mehrabi Y. Reproductive characteristics and the risk of breast cancer--a case-control study in Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2005; 6(3): 370-5.
- Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. Breast J 2007; 13(4): 383-91.
- Campeau PM, Foulkes WD, Tischkowitz MD. Hereditary breast cancer: new genetic developments, new therapeutic avenues. Hum Genet 2008; 124(1): 31-42.
- Palacios J, Robles-Frias MJ, Castilla MA, Lopez-Garcia MA, Benitez J. The molecular pathology of hereditary breast cancer. Pathobiology 2008; 75(2): 85-94.
- Svingen T, Tonissen KF. Altered HOX gene expression in human skin and breast cancer cells. Cancer Biol Ther 2003; 2(5): 518-23.
- Samuel S, Naora H. Homeobox gene expression in cancer: insights from developmental regulation and deregulation. Eur J Cancer 2005; 41(16): 2428-37.
- Pilato B, Pinto R, De SS, Lambo R, Paradiso A, Tommasi S. HOX gene methylation status analysis in patients with hereditary breast cancer. J Hum Genet 2013; 58(1): 51-3.
- Lewis MT. Homeobox genes in mammary gland development and neoplasia. Breast Cancer Res 2000; 2(3): 158-69.
- Kelly ZL, Michael A, Butler-Manuel S, Pandha HS, Morgan RG. HOX genes in ovarian cancer. J Ovarian Res 2011; 4: 16.
- Bitu CC, Destro MF, Carrera M, da Silva SD, Graner E, Kowalski LP, et al. HOXA1 is

- overexpressed in oral squamous cell carcinomas and its expression is correlated with poor prognosis. *BMC Cancer* 2012; 12: 146.
12. Makiyama K, Hamada J, Takada M, Murakawa K, Takahashi Y, Tada M, et al. Aberrant expression of HOX genes in human invasive breast carcinoma. *Oncol Rep* 2005; 13(4): 673-9.
 13. Shah N, Sukumar S. The Hox genes and their roles in oncogenesis. *Nat Rev Cancer* 2010; 10(5): 361-71.
 14. Wardwell-Ozgo J, Dogruluk T, Gifford A, Zhang Y, Heffernan TP, van DR, et al. HOXA1 drives melanoma tumor growth and metastasis and elicits an invasion gene expression signature that prognosticates clinical outcome. *Oncogene* 2014; 33(8): 1017-26.
 15. Marra L, Cantile M, Scognamiglio G, Perdoni S, La ME, Cerrone M, et al. Deregulation of HOX B13 expression in urinary bladder cancer progression. *Curr Med Chem* 2013; 20(6): 833-9.
 16. Cantile M, Pettinato G, Procino A, Feliciello I, Cindolo L, Cillo C. In vivo expression of the whole HOX gene network in human breast cancer. *Eur J Cancer* 2003; 39(2): 257-64.
 17. Chen H, Sukumar S. Role of homeobox genes in normal mammary gland development and breast tumorigenesis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2003; 8(2): 159-75.
 18. Chariot A, Castronovo V. Detection of HOXA1 expression in human breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 222(2): 292-7.
 19. Briegel KJ. Embryonic transcription factors in human breast cancer. *IUBMB Life* 2006; 58(3): 123-32.
 20. Delval S, Taminiou A, Lamy J, Lallemand C, Gilles C, Noë A, et al. The Pbx Interaction Motif of Hoxa1 Is Essential for Its Oncogenic Activity. *PLoS ONE* 2011; 6(9): 1.
 21. Srebrow A, Friedmann Y, Ravanpay A, Daniel CW, Bissell MJ. Expression of Hoxa-1 and Hoxb-7 is regulated by extracellular matrix-dependent signals in mammary epithelial cells. *J Cell Biochem* 1998; 69(4): 377-91.
 22. Perry JK, Mohankumar KM, Emerald BS, Mertani HC, Lobie PE. The contribution of growth hormone to mammary neoplasia. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2008; 13(1): 131-45.
 23. Ren Z, Cai Q, Shu XO, Cai H, Cheng JR, Wen WQ, et al. Genetic polymorphisms in the human growth hormone-1 gene (GH1) and the risk of breast carcinoma. *Cancer* 2004; 101(2): 251-7.
 24. Zhu T, Starling-Emerald B, Zhang X, Lee KO, Gluckman PD, Mertani HC, et al. Oncogenic transformation of human mammary epithelial cells by autocrine human growth hormone. *Cancer Res* 2005; 65(1): 317-24.
 25. Pandey V, Perry JK, Mohankumar KM, Kong XJ, Liu SM, Wu ZS, et al. Autocrine human growth hormone stimulates oncogenicity of endometrial carcinoma cells. *Endocrinology* 2008; 149(8): 3909-19.
 26. Cheng W, Liu J, Yoshida H, Rosen D, Naora H. Lineage infidelity of epithelial ovarian cancers is controlled by HOX genes that specify regional identity in the reproductive tract. *Nat Med* 2005; 11(5): 531-7.
 27. Zhang X, Zhu T, Chen Y, Mertani HC, Lee KO, Lobie PE. Human growth hormone-regulated HOXA1 is a human mammary epithelial oncogene. *J Biol Chem* 2003; 278(9): 7580-90.
 28. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16(3): 1215.
 29. Paraguison RC, Higaki K, Sakamoto Y, Hashimoto O, Miyake N, Matsumoto H, et al. Polyhistidine tract expansions in HOXA1 result in intranuclear aggregation and increased cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 336(4): 1033-9.
 30. Paraguison RC, Higaki K, Yamamoto K, Matsumoto H, Sasaki T, Kato N, et al. Enhanced autophagic cell death in expanded polyhistidine variants of HOXA1 reduces PBX1-coupled transcriptional activity and inhibits neuronal differentiation. *J Neurosci Res* 2007; 85(3): 479-87.
 31. Cho HS, Toyokawa G, Daigo Y, Hayami S, Masuda K, Ikawa N, et al. The JmjC domain-containing histone demethylase KDM3A is a positive regulator of the G1/S transition in cancer cells via transcriptional regulation of the HOXA1 gene. *Int J Cancer* 2012; 131(3): E179-E189.

The Relationship of CAC Polymorphism in HOXA1 Gene and Breast Cancer

Somayeh Najafi-Dorche¹, Manoochehr Tavassoli PhD², Simin Hemati MD³, Forouzan Safari⁴

Original Article

Abstract

Background: HOXA1 is a transcription factor. In the human mammary gland, the expression of the HOXA1 gene is very low or absent during normal growth and differentiation, but it is expressed at high levels in breast cancer lesions. To date, there has been no study on the relationship between CAC repeat (polyhistidine) in the first exon of HOXA1 gene and the cancer risk. The purpose of this study was to investigate polymorphism of CAC in the first exon of HOXA1 gene among patients with breast cancer and healthy individuals to clear the relationship of CAC polymorphism in HOXA1 Gene and the risk of breast cancer.

Methods: Peripheral blood samples were collected from 193 women with breast cancer and 200 healthy women. After DNA extraction from peripheral blood samples by salting-out method and amplification of desired sequence by polymerase chain reaction (PCR), the number of CAC repeat was determined by polyacrylamide gel electrophoresis and direct sequencing.

Findings: Five different length of CAC repeat in the range of 3-7 and 5 allele combinations (genotypes) were observed among patients and controls. The most frequent allele in both patients and controls was the 7-CAC repeat. No significant association was observed between this allele and breast cancer risk. Statistical analyses showed significant association between homozygote 7 and estrogen and progesterone receptors.

Conclusion: Our findings demonstrate that there is no significant association between CAC repeat in exon 1 of HOXA1 gene and breast cancer risk. However, there is a significant association between homozygote 7 genotype and estrogen and progesterone receptors.

Keywords: HOXA1, Breast cancer, CAC repeat, Polymorphism

Citation: Najafi-Dorche S, Tavassoli M, Hemati S, Safari F. **The Relationship of CAC Polymorphism in HOXA1 Gene and Breast Cancer.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(285): 660-8

1- MSc Student, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Department of Radiotherapy, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4. Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Manoochehr Tavassoli PhD, Email: manoochehr@biol.ui.ac.ir

مطالعه‌ی لوکوس DFNB۳ وابسته به ناشنوایی غیر سندرمیک اتوزومال مغلوب در جمعیتی از ناشنوایان ایرانی با روش آنالیز پیوستگی ژنتیکی

سمیه رئیسی^۱، دکتر محمد حسین صنعتی^۲، دکتر محمد امین طباطبائی فر^۳، دکتر حمیدرضا پورجعفری^۴، دکتر زرین مینوچهر^۵، افسانه شاورزی^۶، میترا عطایی^۷، محبوبه کثیری^۸، دکتر مرتضی هاشم‌زاده چالشتی^۹

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ناشنوایی یک اختلال شایع می‌باشد که به طور معمول، هتروژنی ژنتیکی را در جمعیت‌های انسانی نشان می‌دهد. بروز ناشنوایی مادرزادی به میزان ۱ در هر ۵۰۰ تولد محاسبه شده است که حدود ۷۰ درصد این موارد به عوامل ژنتیکی نسبت داده می‌شوند. نقص ژنتیکی ناشنوایی به دو نوع سندرمیک و غیر سندرمیک دسته‌بندی می‌شود و در میان ناشنوایی‌های غیر سندرمیک نوع اتوزومال مغلوب (ARNSHL) یا (Autosomal, recessive, non-syndromic hearing loss) برای حدود ۷۵-۸۰ درصد موارد محاسبه می‌شود. این نوع از ناشنوایی بسیار هتروژن می‌باشد و بیش از ۱۰۰ لوکوس را شامل می‌شود. برای ناشنوایی مغلوب، شایع‌ترین ژن‌های مورد بررسی در سراسر جهان شامل GJB۲، SLC۲۶A۴، MYO۱۵A، OTOF و CDH۲۳ می‌باشند. بنابراین هدف این مطالعه، تعیین نقش موتاسیون‌های ژن MYO۱۵A (DFNB۳) در خانواده‌های ایرانی به وسیله‌ی آنالیز پیوستگی می‌باشد.

روش‌ها: در این مطالعه، برای بررسی فراوانی لوکوس DFNB۳ در ناشنوایی، آنالیز پیوستگی در ۳۰ خانواده‌ی ایرانی با بیش از سه فرد ناشنوا و منفی برای ژن GJB۲ انجام شد. شجره‌های با موتاسیون منفی برای ژن GJB۲ برای پیوستگی به لوکوس DFNB۳ با استفاده از نشانگرهای STR (Short tandem repeat) مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: موتاسیون ۳۵delG در ۵ خانواده از ۳۰ خانواده‌ی مورد بررسی به وسیله‌ی تعیین توالی ناحیه‌ی کد کننده‌ی ژن GJB۲ شناسایی شد. در میان بقیه‌ی خانواده‌ها، یک خانواده به لوکوس DFNB۳ پیوستگی نشان داد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این مطالعه و سایر مطالعات، لوکوس DFNB۳ در جمعیت ایرانی سومین عامل ناشنوایی بعد از DFNB۱ (GJB۲) و DFNB۴ (SLC۲۶A۴) می‌باشد.

واژگان کلیدی: DFNB۳، آنالیز پیوستگی، ناشنوایی غیر سندرمیک اتوزومال مغلوب، ایرانی

ارجاع: رئیسی سیمیه، صنعتی محمد حسین، طباطبائی فر محمد امین، پورجعفری حمیدرضا، مینوچهر زرین، شاورزی افسانه، عطایی میترا، کثیری محبوبه، مرتضی هاشم‌زاده چالشتی. **مطالعه‌ی لوکوس DFNB۳ وابسته به ناشنوایی غیر سندرمیک اتوزومال مغلوب در جمعیتی از**

ناشنوایان ایرانی با روش آنالیز پیوستگی ژنتیکی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۵): ۶۷۷-۶۶۹

- ۱- دانشجوی دکتری، بخش بیوتکنولوژی پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران ایران
- ۲- دانشیار، بخش بیوتکنولوژی پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران
- ۳- استادیار، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
- ۴- استاد، گروه پزشکی مولکولی و ژنتیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
- ۵- استادیار، بخش ژنتیک مولکولی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران
- ۶- کارشناس آزمایشگاه، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
- ۷- کارشناس ارشد، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، بخش بیوتکنولوژی پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران
- ۸- پرستار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
- ۹- استاد، گروه ژنتیک، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

Email: mchalesh@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مرتضی هاشم‌زاده چالشتی

مقدمه

ناشنوایی یک اختلال حسی-عصبی است که طبق ارزیابی‌های انجام شده، ۷۰ میلیون نفر در سرتاسر جهان از آن رنج می‌برند. این مشکل بیشترین اختلال موجود در هنگام تولد است که با میانگین ۱ در ۵۰۰ نوزاد رخ می‌دهد (۱). ناشنوایی یک اختلال بسیار هتروژن می‌باشد و می‌تواند به دلیل عوامل ژنتیکی، محیطی یا هر دو رخ دهد (۲). بیشتر از ۵۰ درصد از موارد ناشنوایی ناشی از عوامل ژنتیکی است که از این مقدار، ۷۰ درصد آن‌ها از نوع غیر سندرمیک و ۳۰ درصد باقی‌مانده ناشنوایی‌های سندرمیک می‌باشد (۳). طبق ارزیابی‌های انجام شده تا کنون ۴۶ ژن برای ناشنوایی غیر سندرمیک شناسایی شده است (۴).

مطالعات نشان داده‌اند که به غیر از GJB۲ که جهش در آن در برخی جمعیت‌ها سهم قابل توجهی در بروز ناشنوایی غیر سندرمی اتوزومی مغلوب دارد، جهش در هر کدام از دیگر ژن‌های مرتبط با ناشنوایی، اغلب سهم کمتری در بروز این بیماری دارد. در واقع، هتروژنیتی بالا در مورد ناشنوایی، معضل بزرگی در جهت شناسایی علت ژنتیکی این بیماری در خانواده‌ها و بنابراین مشاوره‌ی ژنتیک مربوط به این بیماری ایجاد کرده است؛ به طوری که با وجود شناسایی این بیماری از سال‌ها قبل، هنوز ابهامات زیادی در مورد ژن‌های دخیل در این بیماری وجود دارد (۵). با توجه به هتروژنیتی بالا در مورد این بیماری، محققان مطالعه‌ی خانواده‌های بزرگ را در جمعیت‌هایی مثل جمعیت‌های خاورمیانه که فراوانی ازدواج خویشاوندی در آن‌ها بالا می‌باشد، پیشنهاد کرده‌اند (۶).

کشور ایران با توجه به ویژگی‌های جمعیتی آن، یکی از کشورهای است که می‌تواند برای این مطالعات مناسب باشد. مطالعات در ایران نشان داده‌اند که سهم جهش‌های ژن GJB۲ در بروز ناشنوایی در جمعیت‌های مختلف ایرانی متفاوت و از حدود ۲۷-۳۸ درصد در جمعیت ساکن در شمال ایران تا ۴-۰ درصد در جمعیت‌های جنوب شرقی ایران متفاوت می‌باشد. تاکنون جهش در سایر ژن‌های مرتبط با ناشنوایی نیز تنها در خانواده‌های محدودی از جمعیت ایرانی شناسایی شده است و به نظر می‌آید که جهت تعیین سهم دقیق هر کدام از این ژن‌ها در بروز ناشنوایی در جمعیت ایرانی، مطالعات بسیار گسترده‌تری مورد نیاز باشد (۷-۹).

در این میان، ژن SLC۲۶A۴ واقع در لوکوس DFNB۴ در جایگاه دوم در میان ژن‌های یافت شده در ناشنوایی قرار می‌گیرد. بعد از ژن‌های GJB۲ و SLC۲۶A۴ موتاسیون در ژن MYO۱۵A فراوان‌ترین دلیل ناشنوایی غیر سندرمی اتوزومال مغلوب در سرتاسر جهان می‌باشد (۴). ۲۴ موتاسیون در ژن MYO۱۵A شناسایی شده است و این موتاسیون‌ها توسط آنالیز پیوستگی در خانواده‌های خویشاوند یافت شده‌اند (۱۱-۱۰، ۴). MYO۱۵A یک میوزین غیر معمول (Unconventional) می‌باشد و نقشی در تشکیل Stereocilia دارد (۱۲). میوزین‌ها پروتئین‌های موتور مولکولی هستند که حرکت فیلامنت‌های اکتین را توسط هیدرولیز ATP (Adenosine triphosphate) انجام می‌دهند و انقباض عضلانی، عبور و مرور سلولی، حرکت سلولی، سیتوکینز و انتقال سیگنال را تسهیل می‌کنند. میوزین XVa در میان میوزین‌های غیر معمول منحصر به فرد

می‌باشد. شرایط واکنش برای تکثیر ژن شامل $2/5 \mu\text{l}$ بافر PCR (Polymerase chain reaction) (X 10)، $2 \mu\text{l}$ MgCl_2 (50 mM)، $0/5 \mu\text{l}$ از مخلوط (10 mM) dNTP (Deoxynucleotide triphosphates)، $0/2 \mu\text{l}$ از هر کدام پرایمرهای فوروارد (F) و ریورس (R) (50 pmol)، $1 \mu\text{l}$ از DNA ژنومیک ($\sim 100 \text{ ng}$) و در نهایت، $0/5 \text{ U}$ آنزیم Taq پلیمرز ($5 \text{ U}/\mu\text{l}$) بود که با ddH_2O (Double-distilled water) به حجم $25 \mu\text{l}$ رسانده شد. تکثیر DNA با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (ASTEC, PC118-Japan) انجام شد. برنامه‌ی حرارتی برای واکنش شامل واسرشت‌سازی اولیه‌ی 95°C به مدت 5 دقیقه، 31 سیکل شامل 94°C واسرشت کردن به مدت 40 ثانیه، 59°C دمای اتصال پرایمرها به مدت 40 ثانیه و 72°C برای تکثیر رشته‌ها به مدت 40 ثانیه بود و با یک سیکل 72°C به مدت 7 دقیقه برای تکثیر نهایی خاتمه یافت. سپس محصولات PCR بر روی ژل پلی‌اکریل آمید 8 درصد با جریان 45 mA به مدت $1/5$ ساعت الکتروفورز شدند و باندهای DNA توسط رنگ‌آمیزی نیترات نقره مشاهده گردیدند و در این جا وجود باندهای با اندازه‌ی 809 جفت باز تأیید شد. سپس توالی‌یابی محصولات PCR انجام شد تا وجود هر نوع تغییر در این ژن مشخص شود.

محاسبه‌ی S-Link، آنالیز پیوستگی و بررسی

ژنوتایپ‌ها

برای محاسبه‌ی S-link و امتیاز LOD (Logarithm of the odds) از نرم‌افزار ژنتیکی Easy linkage plus نسخه‌ی 5/05 استفاده گردید (17). برای محاسبه‌ی S-Link از FastSlink نسخه‌ی 2/51 و برای محاسبه‌ی نمره‌ی LOD (LOD score)

می‌باشد؛ چون دارای یک دمین N ترمینال بلند (کد شده توسط آگزون 2) می‌باشد و اسپلیسینگ متفاوت آن دو ایزوفرم 1 و 2 را ایجاد می‌کند و موتاسیون در این دمین پروتئینی سبب اختلال ناشنوایی وابسته به DFNB۳ می‌شود (14-13).

روش‌ها

نمونه‌برداری و استخراج DNA ژنومیک

در این مطالعه‌ی توصیفی-آزمایشگاهی، پس از تکمیل پرسش‌نامه و ارزیابی‌های بالینی، تعداد 30 خانواده که دارای حداقل 2 فرد ناشنوا از نوع غیر سندرمی اتوزمال مغلوب می‌باشند، از دو استان همدان و کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری گردیدند. تمامی موارد ناشنوایی سندرمیک و با عوامل محیطی مانند ضربه به سر، مننژیت، هپاتیت و داروهای اتوتوکسیک از مطالعه حذف شدند. پس از اخذ رضایت‌نامه از افراد بیمار و خانواده‌های آنان، به میزان 5 cc خون محیطی در لوله‌های حاوی EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) 0/5 مولار از کلیه‌ی افراد در دسترس خانواده گرفته شد. سپس DNA ژنومیک به روش معمول فنل-کلروفرم از نمونه‌های خون استخراج گردید و میزان کیفیت DNA با روش اسپکتوفتومتری (USA, 2100 UNICO) مورد بررسی قرار گرفت (16-15).

بررسی ژن کانکسین 26

از هر شجره، حداقل یک بیمار برای توالی‌یابی ژن GJB۲ انتخاب شد. پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن کانکسین 26 (GJB۲) شامل 3' CTC CCT GTT CTG TCC TAG CT و 5' F و 3' CTC ATC CCT CTC ATG CTG TC 5' R

برنامه‌ی حرارتی برای تکثیر نشانگرها به صورت زیر بود: ۹۵ °C برای واسرشت‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه، ۸ سیکل Touch down شامل ۹۴ °C به مدت ۳۰ ثانیه جهت واسرشت کردن رشته‌های DNA، دمای اتصال پرایمرها از ۶۲ تا ۵۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه و ۹۴ °C شامل ۳۰ ثانیه جهت واسرشت کردن رشته‌های DNA، اتصال پرایمرها ۵۴ °C به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه که با ۵ دقیقه سنتز نهایی در ۷۲ °C پایان پذیرفت. در هر واکنش PCR، ۰/۵ μl از هر یک از پرایمرها (۱۰ PM)، ۰/۵ μl dNTP mix (۱۰ mM)، ۱ μl از MgCl₂ (۵۰ mM)، ۰/۱ μl از آنزیم Taq پلیمرز (۵ unit/μl) و ۲ μl از DNA ژنومیک استفاده شد که با آب مقطر به حجم نهایی ۲۵ μl رسانده می‌شد. بعد از تکثیر قطعات مورد نظر با واکنش PCR، نمونه‌های مورد نظر برای هر خانواده به صورت جداگانه بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۱۲-۸ درصد با جریان ۳۵-۴۰ mA به مدت ۳ ساعت الکتروفورز شد و سپس ژل مورد نظر با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد و باندهای مربوط به نشانگرها مشاهده گردید.

پارامتری دو نقطه‌ای و چند نقطه‌ای به ترتیب از ۱/۶ Superlink نسخه‌ی ۱/۶ و Genehunter نسخه‌ی ۲/۹۱ استفاده شد. برای نرم‌افزار الگوی وراثتی مغلوب اتوزومی، نفوذ کامل و فراوانی آللی یک هزارم فرض شد. برای رسم هاپلوتاایپ از نرم‌افزار HaploPainter نسخه‌ی ۰/۲۹/۵ استفاده شد (۱۸). نمونه‌های منفی برای جهش‌های ژن کانکسین ۲۶ برای تجزیه و تحلیل پیوستگی انتخاب شدند. جهت بررسی لوکوس مورد نظر، از شش نشانگر مولکولی مختلف استفاده شد و در صورتی که برای هر یک از خانواده‌های مورد مطالعه نشانگری اطلاع دهنده نبود (Uninformative)، از نشانگر دیگری در منطقه‌ی لوکوس مورد نظر استفاده می‌شد. در جدول ۱، نشانگرهای مورد استفاده و ویژگی آن‌ها به صورت خلاصه آمده است. معیارهای انتخاب این نشانگرها شامل هتروزیگوسیتی بالا برای نشانگر، نزدیک‌ترین جایگاه نوکلئوتیدی به ژن مورد بررسی و اندازه‌ی طول محصول کمتر می‌باشد. انتخاب نشانگرهای مولکولی با کمک پایگاه NCBI map viewer انجام شد. پرایمرهای نشانگرها از پایگاه NCBI UniSTS گرفته شدند و برای تکثیر آن‌ها از برنامه‌ی Touch down استفاده شد.

جدول ۱، نشانگرهای مورد استفاده و ویژگی آن‌ها

نام نشانگر	پرایمر F (Forward)	پرایمر R (Reverse)	اندازه‌ی محصول (bp)	هتروزیگوسیتی
D1۷S۹۲۱	GGCCACCATAATCATGTCA GACAAT	GGCCACCATAATCATGTCA GACAAT	۱۶۹-۱۸۵	۰/۷۲
D1۷S۱۸۴۳	AATTCAAAGGCTAAAAGCA AAC	GAGAATCACCTGAACCCG	۱۵۹-۲۰۳	۰/۷۰
D1۷S۹۵۳	ACTATCCGCCAATACA	AAGGGCTTGCTTTGAC	۱۱۹-۱۳۱	۰/۷۶
D1۷S۱۸۵۷	TGCCTAAACTGCTTTCAGGT	TGCACAGGCCAATTCCTTAC	۱۷۷-۱۸۷	۰/۶۲
D1۷S۷۴۰	TACATTTAATGCAGGATGCC	CTCTTTGTGCTTGGCAGGT	۱۰۳-۱۵۱	۰/۷۱
D1۷S۲۱۹۶	CCAACATCTAGAATTAATCA GAATC	ATATTTCAATATTGTAACCA	۱۳۹-۱۶۳	۰/۸۱

یافته‌ها

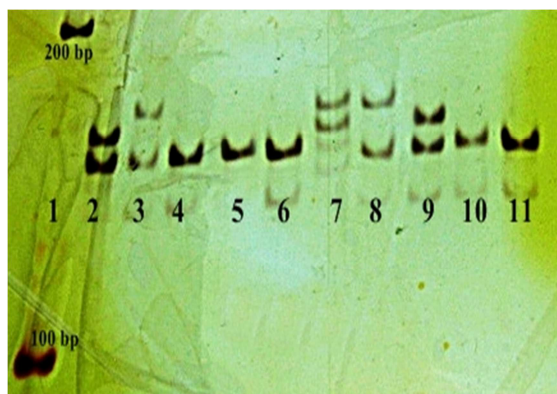
اکثر افراد مورد مطالعه، ناشنوایی دو طرفه‌ی حسی-عصبی شدید تا عمیق را نشان دادند. در ۷۰ درصد خانواده‌های مورد بررسی، ازدواج‌های خویشاوندی دیده می‌شد و با توجه به اطلاعات مربوط به شجره‌نامه، نوع ناشنوایی غیر سندرمیک و اتوزومال مغلوب قابل تأیید بود.

تعیین توالی DNA از ناحیه‌ی کد کننده‌ی ژن GJB2 سبب شناسایی موتاسیون ۳۵delG در ۵ خانواده از ۳۰ خانواده‌ی مورد بررسی شد. موتاسیون شناسایی شده برای افراد به صورت هموزیگوت بود و این خانواده‌ها از آنالیز پیوستگی کنار گذاشته شدند. البته برای اطمینان از نقش لوکوس DFNB1 به عنوان عامل ناشنوایی در خانواده‌ها، بقیه‌ی خانواده‌ها برای پیوستگی به این لوکوس، توسط سه نشانگر Informative مورد بررسی قرار گرفتند. با این وجود آنالیز پیوستگی، خانواده‌ای را که پیوسته به لوکوس DFNB1 باشد، آشکار نکرد.

برای بررسی پیوستگی به سایر لوکوس‌ها، ابتدا ارزش SLINK برای خانواده‌های باقی مانده محاسبه شد. ۱۴ خانواده دارای ارزش SLINK برابر و بزرگ‌تر از ۳ بودند و ۵ خانواده SLINK کمتر از ۲ داشتند و باقی مانده‌ی خانواده‌ها، دارای SLINK ۲ تا ۳ بودند.

بررسی خانواده‌های منفی به GJB2 برای پیوستگی ژنتیکی به لوکوس DFNB3 توسط ۶ نشانگر STR انجام شد (شکل ۱) و از میان ۲۵ خانواده‌ی باقی مانده، با بررسی هاپلوتایپ، یک خانواده به این لوکوس پیوستگی نشان داد و خانواده‌ی پیوسته به لوکوس مورد نظر، الگوی کامل لینک را نشان داد (شکل ۲).

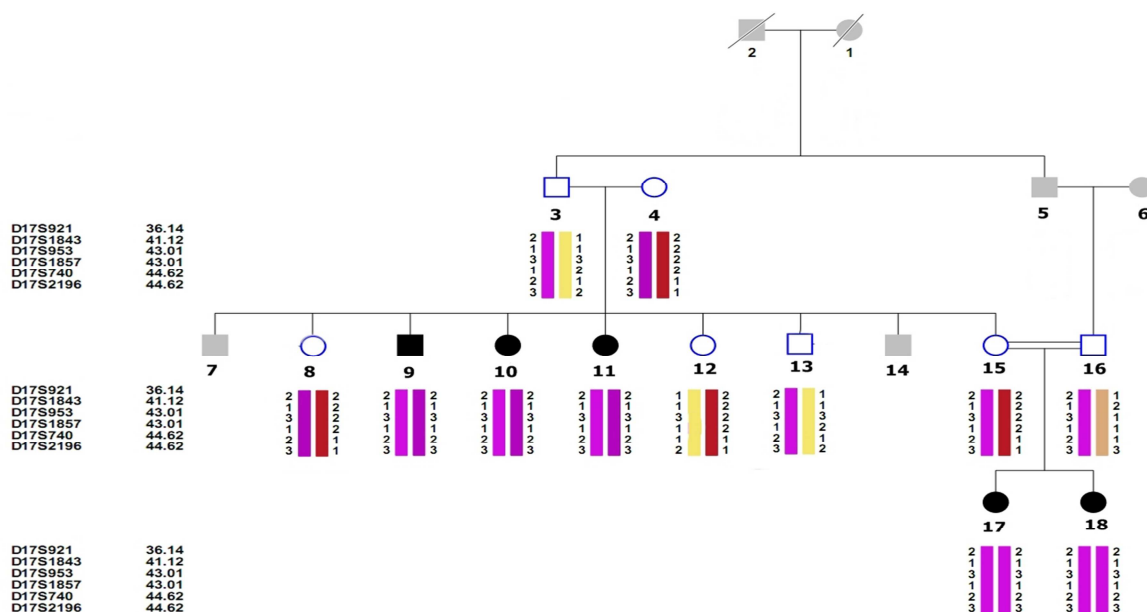
بررسی اودیوگرام مربوط به خانواده، نوع ناشنوایی عمیق را در تمامی افراد ناشنوا نشان می‌داد. SLINK محاسبه شده برای این خانواده برابر با ۳/۱۵ بود که پیوستگی به لوکوس را تأیید کرد.



شکل ۱. ژل پلی اکریل آمید مربوط به یکی از نشانگرهای مولکولی DFNB3- شماره‌های ۲، ۳، ۸ و ۹ والدین هتروزیگوت، شماره‌های ۴، ۵، ۶، ۱۰ و ۱۱ افراد ناشنوا به صورت هموزیگوت و فرد شماره‌ی ۷ فرزند سالم

بحث

در این مطالعه، به بررسی ۳۰ خانواده با حداقل ۲ ناشنوا از استان‌های همدان و کهگیلویه و بویراحمد پرداخته شد. مطالعه‌ی پیوستگی و بررسی هاپلوتایپ نشانگرهای مولکولی STR در منطقه‌ی لوکوس DFNB3 برای خانواده‌های منفی برای موتاسیون‌های ژن کانکسین ۲۶ انجام شد. با توجه به این که ناشنوایی ناشی از جهش‌های ژن کانکسین ۲۶، علت ۱۸/۲۹ درصد ناشنوایی فامیلی شناخته شده است و با توجه به به شدت هتروژن بودن عارضه‌ی ناشنوایی و تنوع جمعیتی در ایران و همچنین میزان بالای ازدواج‌های درون قومی در کشور، بررسی سایر لوکوس‌های درگیر در ناشنوایی برای جمعیت‌های مختلف ایران ضروری می‌باشد (۷).



شکل ۲. شجره‌نامه و هاپلوتایپ خانوادگی پیوسته به لوکوس DFNB3

ترتیب نشانگرها بر اساس نقشه‌ی مارشفیلد (Marshfield genetic maps) می‌باشد.

Stereocilia سلول مویی گوش داخلی ایفا می‌کند و همچنین برای سازمان‌دهی اکتین در سلول‌های مویی ضروری می‌باشد (۲۰).

در مطالعات مختلف مشخص شد که موتاسیون در قسمت‌های مختلف این ژن می‌تواند سبب ایجاد ناشنوایی غیر سندرمی اتوزومی مغلوب شود. موتاسیون‌های ایجاد کننده‌ی ناشنوایی در لوکوس DFNB3 برای اولین بار در ساکنینی از روستایی در اندونزی شناسایی شدند. میزان فراوانی موتاسیون با مطالعات بیشتر حدود ۹ درصد تخمین زده شد. بعد از آن، موتاسیون‌های زیادی در مناطق مختلفی در هند، پاکستان، ایران، ترکیه، اندونزی و برزیل گزارش شده است (۲۱-۲۲).

اکثر موتاسیون‌های یافت شده در این ژن، توسط روش آنالیز پیوستگی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در مطالعات انجام شده توسط صادقی و همکاران بر روی ۴۰ خانواده‌ی خویشاوند دارای فرزند ناشنوا از

بنابراین، با بررسی خانواده‌هایی که نسبت به این ژن منفی می‌باشند و بررسی سایر ژن‌های درگیر در ناشنوایی، می‌توان دیدگاه دقیق‌تری نسبت به شیوع سایر ژن‌ها به دست بیآوریم. در این بررسی، از ۳۰ خانواده در آنالیز پیوستگی ۱ خانواده (~ ۴ درصد) به لوکوس DFNB3 پیوستگی نشان دادند. DFNB3 به عنوان سومین لوکوس برای ناشنوایی وراثتی مغلوب در جمعیت‌های مختلف شناسایی شده است و بیشتر موتاسیون‌های ایجاد شده در ژن ناشنوایی شدید تا عمیق را ایجاد می‌کند (۱۹).

با توجه به بررسی‌های انجام شده در این مطالعه، یک خانواده با پیوستگی ژنتیکی به لوکوس DFNB3 شناسایی شد. ژن موجود در لوکوس DFNB3 به نام MYO15A خوانده می‌شود (۱۴)، که با ۶۶ آگزون کد کننده، یک میوزین غیر رسمی را کد می‌کند (Myosin XVa) که در Cochlea بیان می‌شود. این پروتئین نقش‌های مهمی در تمایز و طویل‌سازی

می‌باشد. هر چند، علت ناشنوایی برای حدود ۸۰ درصد خانواده‌های باقی‌مانده نامشخص می‌باشد و نیازمند مطالعات بعدی است. اما مطالعاتی از این دست می‌تواند مقدمه‌ای بر مطالعات بر روی جمعیت‌های دیگر و همچنین سایر لوکوس‌ها بر روی همین جمعیت و سایر جمعیت‌ها باشد تا بتواند در امر تشخیص بیماری و مشاوره‌ی دقیق‌تر خانواده‌ی بیماران کمک کننده باشد.

تشکر و قدردانی

از ناشنوایان و خانواده‌های محترمشان به دلیل همکاری صمیمانه‌ای که در این مطالعه داشتند و همچنین از کلیه‌ی کارکنان مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فن‌آوری به خاطر محبت‌هایشان در انجام مطالعه قدردانی می‌شود. این مطالعه برگرفته از پایان‌نامه‌ی دانشجویی نویسنده‌ی اول می‌باشد.

استان‌های قم و مرکزی، دو خانواده به لوکوس DFNB۳ پیوستگی نشان دادند (۲۳). در مطالعه‌ی دیگری که توسط فتاحی و همکاران بر روی این لوکوس انجام شد، تعداد ۸ خانواده‌ی پیوسته به لوکوس مورد شناسایی قرار گرفتند (۲۲). در بررسی‌های مختلف بر روی جمعیت‌های ایرانی نشان داده شده است که موتاسیون در ژن‌های GJB۲ و SLC۲۶A۴ به ترتیب در اولویت‌های اول و دوم ایجاد کننده‌ی ناشنوایی می‌باشند. با توجه به مطالعات قبل، تاکنون حدود ۱۰ موتاسیون مختلف در ژن MYO۱۵A مشخص شده است. بنابراین، با توجه به مطالعات اخیر می‌توان نقش لوکوس DFNB۳ را بعد از دو ژن ذکر شده به عنوان عامل ناشنوایی در نظر گرفت و چنین مطالعاتی می‌تواند در فهم شیوع ژن‌هایی مانند MYO۱۵A نقش به‌سزایی داشته باشد و در تصمیم‌گیری برای مراکز مشاوره‌ای و بالینی مؤثر باشد. در مطالعه‌ی حاضر، در مجموع علت ناشنوایی برای ۲۰ درصد از خانواده‌های مورد بررسی مشخص شد که مربوط به ژن‌های GJB۲ و MYO۱۵A

References

1. Morton CC, Nance WE. Newborn hearing screening--a silent revolution. *N Engl J Med* 2006; 354(20): 2151-64.
2. Collin RW, Kalay E, Oostrik J, Caylan R, Wollnik B, Arslan S, et al. Involvement of DFNB59 mutations in autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment. *Hum Mutat* 2007; 28(7): 718-23.
3. Van CG, Willems PJ, Smith RJ. Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. *Am J Hum Genet* 1997; 60(4): 758-64.
4. Hilgert N, Smith RJ, Van CG. Forty-six genes causing nonsyndromic hearing impairment: which ones should be analyzed in DNA diagnostics? *Mutat Res* 2009; 681(2-3): 189-96.
5. Kenneson A, Van Naarden BK, Boyle C. GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: a HuGE review. *Genet Med* 2002; 4(4): 258-74.
6. Strachan T, Read A. *human molecular genetics*. New York, NY: Garland Science; 2011.
7. Hashemzadeh Chaleshtori M, Farhud D, Patton M. Congratulation to Margaret Chan familial and sporadic Gjb2-related deafness in Iran: review of gene mutations. *Iran J Public Health* 2007; 36(1): 1-14.
8. Mahdieh N, Rabbani B, Shirkavand A, Bagherian H, Movahed ZS, Fouladi P, et al. Impact of consanguineous marriages in GJB2-related hearing loss in the Iranian population: a report of a novel variant. *Genet Test Mol Biomarkers* 2011; 15(7-8): 489-93.
9. Najmabadi H, Nishimura C, Kahrizi K, Riazalhosseini Y, Malekpour M, Daneshi A, et

- al. GJB2 mutations: passage through Iran. *Am J Med Genet A* 2005; 133A(2): 132-7.
10. Sininger Y, Starr A. Auditory neuropathy: a new perspective on hearing disorders. Stamford, CT: Cengage Learning; 2001.
 11. Smith RJH, Shearer AE, Hildebrand MS, van Camp G. Deafness and hereditary hearing loss overview. Gene review sat Gene Tests: Medical genetics information resource. Seattle, WA: University of Washington; 1999. 2008.
 12. Anderson DW, Probst FJ, Belyantseva IA, Fridell RA, Beyer L, Martin DM, et al. The motor and tail regions of myosin XV are critical for normal structure and function of auditory and vestibular hair cells. *Hum Mol Genet* 2000; 9(12): 1729-38.
 13. Belyantseva IA, Boger ET, Friedman TB. Myosin XVa localizes to the tips of inner ear sensory cell stereocilia and is essential for staircase formation of the hair bundle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(24): 13958-63.
 14. Liang Y, Wang A, Belyantseva IA, Anderson DW, Probst FJ, Barber TD, et al. Characterization of the human and mouse unconventional myosin XV genes responsible for hereditary deafness DFNB3 and shaker 2. *Genomics* 1999; 61(3): 243-58.
 15. Grimberg J, Nawoschik S, Belluscio L, McKee R, Turck A, Eisenberg A. A simple and efficient non-organic procedure for the isolation of genomic DNA from blood. *Nucleic Acids Res* 1989; 17(20): 8390.
 16. Kleihues P, Schauble B, zur HA, Esteve J, Ohgaki H. Tumors associated with p53 germline mutations: a synopsis of 91 families. *Am J Pathol* 1997; 150(1): 1-13.
 17. Lindner TH, Hoffmann K. easyLINKAGE: a PERL script for easy and automated two-/multi-point linkage analyses. *Bioinformatics* 2005; 21(3): 405-7.
 18. Thiele H, Nurnberg P. HaploPainter: a tool for drawing pedigrees with complex haplotypes. *Bioinformatics* 2005; 21(8): 1730-2.
 19. Liburd N, Ghosh M, Riazuddin S, Naz S, Khan S, Ahmed Z, et al. Novel mutations of MYO15A associated with profound deafness in consanguineous families and moderately severe hearing loss in a patient with Smith-Magenis syndrome. *Hum Genet* 2001; 109(5): 535-41.
 20. Berg JS, Powell BC, Cheney RE. A millennial myosin census. *Mol Biol Cell* 2001; 12(4): 780-94.
 21. Cengiz FB, Duman D, Sirmaci A, Tokgoz-Yilmaz S, Erbek S, Ozturkmen-Akay H, et al. Recurrent and private MYO15A mutations are associated with deafness in the Turkish population. *Genet Test Mol Biomarkers* 2010; 14(4): 543-50.
 22. Fattahi Z, Shearer AE, Babanejad M, Bazazzadegan N, Almadani SN, Nikzat N, et al. Screening for MYO15A gene mutations in autosomal recessive nonsyndromic, GJB2 negative Iranian deaf population. *Am J Med Genet A* 2012; 158A(8): 1857-64.
 23. Sadeghi A, Sanati MH, Alasti F, Hashemzadeh Chaleshtori M, Mahmoudian S, Ataei M. Contribution of GJB2 Mutations and Four Common DFNB Loci in Autosomal Recessive Non-Syndromic Hearing Impairment in Markazi and Qom Provinces of Iran. *Iran J Biotech* 2009; 7(2 SP 108-11).

Study of the Association of DFNB3 Locus with Autosomal Recessive Non-Syndromic Hearing Loss in Iranian Deaf Population Using Genetic Linkage Analysis

Somayeh Reisi¹, Mohammad Hossein Sanati PhD², Mohammad Amin Tabatabaiefar PhD³, Hamid Reza Pourjafari PhD⁴, Zarrin Minuchehr PhD⁵, Afsaneh Shavarzi⁶, Mitra Ataie MSc⁷, Mahbobeh Kasiri⁶, Morteza Hashemzadeh-Chaleshtori PhD⁸

Original Article

Abstract

Background: Hearing loss is a common sensory disorder that typically illustrates genetic heterogeneity in human populations. The incidence of congenital hearing loss is estimated at 1 in 500 births of which approximately 70% of cases are attributed to genetic factors. Genetic hearing impairment can be classified as either syndromic or non-syndromic and among non-syndromic hearing loss autosomal recessive (ALNSHL) accounts for approximately 75-80% of cases. This type of hearing loss is extremely heterogeneous and includes over 100 loci. For recessive deafness, most frequent genes are GJB2, SLC26A4, MYO15A, OTOF, and CDH23 in worldwide. This study aimed to determine the role of MYO15A (DFNB3) gene mutations in Iranian deaf population using linkage analysis.

Methods: To investigate the frequency of DFNB3 gene mutation, linkage analysis was performed in 30 Iranian families with over three deaf child and negative GJB2. The negative mutations pedigrees for these gene mutations were then tested for the linkage to DFNB3 (*MYO15A*) locus, using short tandem repeat (STR) markers.

Findings: Mutation 35delG was identified in 5 families out of 30 by sequencing the coding region of GJB2 gene. One family showed linkage to DFNB3 locus.

Conclusion: Based on the results of this study, DFNB3 locus is the third cause of deafness after DFNB1 (GJB2) and DFNB4 (SLC26A4).

Keywords: DFNB3, Linkage Analysis, Autosomal recessive non-syndromic hearing loss, Iran

Citation: Reisi S, Sanati MH, Tabatabaiefar MA, Pourjafari HR, Minuchehr Z, Shavarzi A, et al. **Study of the Association of DFNB3 Locus with Autosomal Recessive Non-Syndromic Hearing Loss in Iranian Deaf Population Using Genetic Linkage Analysis.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(285): 669-77

1- PhD Student, Department of Medical Genetics, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran
2- Associate Professor, Department of Medical Genetics, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

4- Professor, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

5- Assistant Professor, Department of Molecular Genetics, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran

6- Cellular and Molecular Research Center, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

7- Department of Medical Genetics, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran

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

Corresponding Author: Morteza Hashemzadeh-Chaleshtori PhD, Email: mchalesh@yahoo.com

بررسی مقایسه‌ای تأثیر پروپولاکسی تزریق وریدی دگزامتازون و پتیدین بر لرز بعد از عمل سزارین سکشن الکتیو تحت بی‌حسی اسپینال

دکتر میترا جبل عاملی^۱، آرمینا رادمنش^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: لرز بعد از عمل از عوارض مهم بی‌حسی اسپینال است. لرز بعد از عمل با دستگاه‌های مانتورینگ بیمار ایجاد تداخل می‌کند، در بیمار باعث ناراحتی می‌شود و مصرف اکسیژن و تولید دی‌اکسید کربن را بالا می‌برد. هدف این مطالعه، بررسی مقایسه‌ای تأثیر تزریق وریدی دگزامتازون و پتیدین بر پیشگیری از لرز بعد از عمل سزارین سکشن الکتیو تحت بی‌حسی اسپینال بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی بالینی آینده‌نگر دو سو کور، ۹۹ زن باردار که در کلاس I و II (American Society of Anesthesiologists) قرار داشتند و نیز شکم اول و کاندید سزارین سکشن الکتیو تحت بی‌حسی اسپینال بودند، به شکل تصادفی در یکی از سه گروه ۳۳ نفره‌ی زیر بر اساس نوع داروی پیشگیری از لرز وارد شدند: گروه D: ۰/۱۵ mg/kg دگزامتازون + نرمال سالین تا ۴ cc، گروه P: ۰/۵۰ mg/kg پتیدین + نرمال سالین تا ۴ cc، گروه C (گروه شاهد): نرمال سالین تا ۴ cc. بعد از کلامپ بند ناف و در عرض ۱۵-۱۰ ثانیه، داروها به شکل وریدی تزریق شدند و درجه‌ی حرارت تیمپانیک و آکزیلاری، علایم حیاتی، بروز و شدت لرز، تعداد و میزان دریافت پتیدین جهت درمان لرز، نمره‌ی درد، سطح حسی و عوارض دارویی (افزایش یا کاهش فشار خون، افزایش یا کاهش ضربان قلب، خواب‌آلودگی، تهوع و استفراغ) در زمان‌های متعدد قبل و حین عمل و سپس هر ۱۰ دقیقه در ریکاوری تا ۱ ساعت ثبت شدند.

یافته‌ها: میزان بروز و شدت لرز بعد از عمل در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی پتیدین و دگزامتازون، در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود که میاتگین نمره‌ی لرز به ترتیب ۰/۰۳، ۰/۱۵ و ۰/۲۷ و اختلاف بین آن‌ها معنی‌دار بود ($P = ۰/۰۰۵$). همچنین میزان و تعداد دفعات دریافت پتیدین جهت درمان لرز بعد از عمل در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی پتیدین و دگزامتازون ($P = ۰/۰۰۶$)، در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود و تفاوت‌ها معنی‌دار بودند؛ اما از نظر علایم حیاتی، درجه‌ی حرارت مرکزی و محیطی، سطح حسی و عوارض جانبی در هیچ‌زمانی در سه گروه تفاوت‌ها معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵۰$).

نتیجه‌گیری: تک دوز دگزامتازون وریدی با دوز ۰/۱۵ mg/kg به عنوان پروپولاکسی بروز و شدت لرز بعد از عمل سزارین الکتیو تحت بی‌حسی اسپینال نیاز به دریافت داروی ضد لرز را کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: لرز، پتیدین، دگزامتازون، بی‌حسی اسپینال، سزارین سکشن

ارجاع: رادمنش آرمینا، جبل عاملی میترا. بررسی مقایسه‌ای تأثیر پروپولاکسی تزریق وریدی دگزامتازون و پتیدین بر لرز بعد از عمل سزارین سکشن الکتیو تحت بی‌حسی اسپینال. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۵): ۶۷۸-۶۸۹

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای مرغه‌ای به شماره‌ی ۳۹۰۲۲۱ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

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

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

Email: arminaradmanesh@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: آرمینا رادمنش

مقدمه

لرز، حرکات لرزشی ریتمیک در اندام فوقانی، گردن و فک، در بی‌حسی نخاعی شایع است و بروز آن تا ۵۶/۷ درصد از بیماران را درگیر می‌کند (۱-۲).

افزایش مصرف اکسیژن، افزایش تولید دی‌اکسید کربن و تداخل با مانیتورینگ فشار خون و سیستم قلبی و همچنین احساس ناراحتی بیمار، از مهم‌ترین عوارض لرز هستند (۳) که این پیامدها به خصوص برای مادرانی که به تازگی تحت سزارین قرار گرفته‌اند، نگران‌کننده است (۴). در انسان، درجه‌ی حرارت مرکزی به طور معمول در محدوده‌ی ۳۶/۵-۳۷/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد می‌باشد (۵-۶). به نظر می‌رسد لرز بعد از عمل در پاسخ به کاهش دمای بدن در حین عمل و افزایش گرادیان درجه‌ی حرارت مرکزی و محیطی رخ می‌دهد (۷).

دگزامتازون می‌تواند گرادیان درجه‌ی حرارت مرکزی و محیطی را به واسطه‌ی اثر ضد التهابی و همچنین مهار آزاد شدن سایتوکین‌های تب‌زا و منقبض‌کننده‌ی عروق کاهش دهد و نیز باعث کاهش پاسخ التهابی به دنبال جراحی و بهبود جریان خون محیطی شود (۸-۹).

طبق مطالعات گزارش شده در بیماران تحت جراحی قلب باز، در کنار کاهش بروز لرز بعد از عمل، دگزامتازون باعث تسهیل اکستوبیشن تراشه‌ای اولیه، کاهش بروز تب بعد از عمل اولیه و نیز کاهش بروز حمله‌ی جدید فیبریلاسیون دهلیزی شده است (۱۰-۱۱)؛ اما در زنان تحت سزارین سکشن، به ندرت مورد بررسی قرار گرفته است.

اگر چه پتیدین در مطالعات به عنوان مؤثرترین دارو در درمان و پیشگیری از لرز بعد از عمل شناخته

شده است، اما سایر داروها نیز مانند اندانسترون، هیدروکورتیزون، ترامادول هیدرو کلراید و نالوفن به این منظور به کار رفته‌اند (۱۲-۱۳). عوارض پتیدین وریدی مانند تهوع، استفراغ، خارش، هیپوتشن، برونکواسپاسم، برادی کاردی و دپرسیون تنفسی بر اساس گزارش‌ها، وابسته به دوز می‌باشند (۱۴-۱۵).

به علت تغییرات فیزیولوژیک متفاوت در بارداری، اولین هدف مطالعه‌ی حاضر مقایسه‌ی تأثیر پروفیلاکتیک دگزامتازون و پتیدین بر لرز بعد از عمل در زنان تحت سزارین سکشن الکتیو تحت بی‌حسی نخاعی و مقایسه‌ی یافته‌ها با گروه شاهد و دومین هدف، بررسی عوارض جانبی داروها بود.

روش‌ها

این مطالعه یک کارآزمایی بالینی - تصادفی دو سو کور با کنترل دارونما (Randomized double-blinded placebo-controlled trial) بود که بر روی ۹۹ زن باردار دارای کلاس I و ASA II (American Society of Anesthesiologists)، با سن ۱۸-۳۵ سال، اولین بارداری، حاملگی ترم (سن حاملگی ۳۶-۴۰ هفته)، حاملگی تک قلو و قد بیشتر از ۱۵۰ و کمتر از ۱۸۰ سانتی‌متر که کاندید سزارین الکتیو تحت بی‌حسی اسپینال بودند، انجام شد.

مطالعه‌ی حاضر در شورای پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی اخلاق دانشگاه مورد تصویب قرار گرفت و از کلیه‌ی شرکت‌کنندگان در مطالعه رضایت آگاهانه اخذ شد.

معیارهای خروج از مطالعه شامل: حاملگی پرخطر یا حاملگی القا شده، حاملگی متعدد، چاقی ($BMI > 38 \text{ Kg/m}^2$) (Body mass index)،

Mid-clavicular Bilateral pin-prick test در خط انجام شد و زمانی که سطح بلوک حسی به T₄ رسید، عمل آغاز شد.

تکنیک عمل در تمام بیماران یکسان بود و تمام بیماران در طول عمل توسط یک لایه پارچه‌ی درپ جراحی روی نواحی سینه و پاها و یک لایه شان پوشیده شدند. دمای اتاق عمل نیز در حد ۲۳ درجه نگه داشته شد.

سپس بیماران به صورت تصادفی و به روش آسان در یکی از سه گروه ۳۳ نفره‌ی زیر، بر اساس نوع داروی پیشگیری از لرز، قرار گرفتند:

گروه D: ۰/۱۵ mg/kg دگزامتازون + نرمال سالین تا ۴ cc

گروه P: ۰/۵۰ mg/kg پتیدین + نرمال سالین تا ۴ cc

گروه C (گروه شاهد): نرمال سالین تا ۴ cc.

داروها از نظر شکل یکسان‌سازی شدند و برای اطمینان از دو سو کور بودن مطالعه (هم مادرها و هم متخصصین بیهوشی)، داروها با شماره، راندومایز و بیماران برچسب‌گذاری شدند. بیماران و پرسنل در جمع‌آوری اطلاعات، اطلاعی از نوع گروه بیماران نداشتند.

بعد از کلامپ بند ناف و در عرض ۱۵-۱۰ ثانیه، داروها به شکل وریدی تزریق شدند و بعد از عمل، تمام بدن توسط یک لایه پتوی نخی پوشیده شد و بیمار به ریکاوری انتقال یافت. دمای ریکاوری برای تمام بیماران یکسان بود و در حد ۲۳ درجه نگه داشته شد و از هیچ وسیله‌ی گرمازا به طور جداگانه برای بیماران استفاده نشد. همه‌ی بیماران مراقبت‌های پرستاری معمول بعد از عمل را

بیماری‌های تیروئید، دیابت ملیتوس نوع ۱ و ۲، ناپایداری سیستم اتونوم، مصرف مواد یا داروهای مخدر یا گلوکوکورتیکوئیدها، ابتلا به بیماری‌های مزمن یا هر گونه بیماری کنترل نشده، فشار خون بالا و بیماری‌های قلبی - عروقی، وضعیت انعقادی غیر طبیعی، تب بیش از ۳۸ درجه، عفونت قارچی و ویروسی سیستمیک، ممنوعیت بی‌حسی اسپینال، وقوع خونریزی شدید حین عمل جراحی یا اختلال همودینامیک شدید و نیاز به تجویز فراورده‌های خونی بودند.

همه‌ی بیماران ۸ ساعت قبل از عمل NPO (Nil per os) نگه داشته شدند.

در این مدت، مایع درمانی طبق قانون ۱، ۲ و ۴ از مایع ۳/۱ و ۳/۲ انجام شد. به مادران نحوه‌ی ارزیابی شدت درد، تهوع و لرز آموزش داده شد. قبل از شروع بی‌حسی، ۱۵ cc/kg رینگر لاکتات ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد ظرف ۳۰ دقیقه با سرعت ۲ cc/kg/h به همه‌ی بیماران تزریق شد و مادر و جنین تحت مانیتورینگ معمول (پالس اکسی‌متری، کنترل اتوماتیک فشار خون، ۲ لید الکتروکاردیوگرام) قرار گرفتند.

۵ l/min اکسیژن از طریق ماسک صورت تا پایان زایمان برای مادر گذاشته شد. بی‌حسی اسپینال در سطح L_۴-L_۳ با نیدل اسپینال شماره‌ی ۲۵ و در وضعیت نشسته انجام شد.

پس از خروج مایع مغزی- نخاعی شفاف و روان، ۲/۵ ml بویواکاین ۰/۵ درصد ظرف ۱۰ ثانیه جهت بی‌حسی تزریق شد. سپس مادر بلافاصله به پهلو چپ چرخانده شد و سر بیمار با تغییر وضعیت تخت، ۲۰-۱۵ درجه بالاتر از سطح افق قرار گرفت و هیچ گونه داروی ضد درد به بیمار تزریق نشد. تعیین سطح بلوک حسی به کمک

دریافت کردند.

در همه‌ی بیماران، میزان پایه‌ی پارامترها شامل فشار خون سیستولی و دیاستولی، سرعت تنفس، ضربان قلب و نمره‌ی لرز، نمره‌ی تهوع و استفراغ، نمره‌ی درد و نمره‌ی خواب آلودگی ثبت شد.

نمره‌ی لرز بر اساس معیار (Crassly and Mahajan) عبارت از ۱: نبود لرز، ۲: پیلوارکشن یا وازوکانستریکشن محیطی یا هر دو بدون فعالیت عضلانی، ۳: فعالیت عضلانی در یکی از گروه‌های عضلانی، ۴: وجود انقباض و فعالیت عضلانی در بیش از یک گروه عضلات و ۵: فعالیت شدید عضلات در همه‌ی قسمت‌های بدن بود (۱۶).

نمره‌ی درد از صفر تا ده به ترتیب بدون درد تا بدترین حالتی که فرد تا کنون تجربه کرده است، نمره‌ی تهوع از صفر تا ده به ترتیب بدون درد تا بدترین حالتی که فرد تا کنون تجربه کرده است، نمره‌ی خواب آلودگی از ۱: کاملاً بیدار و هوشیار، ۲: خواب آلوده، ۳: چشمان بسته که با صدا کردن بیدار می‌شود، ۴: چشمان بسته که با تحریک فیزیکی بیدار می‌شود و ۵: چشمان بسته که با تحریک فیزیکی هم بیدار نمی‌شود، می‌باشد (۱۷).

سپس بلافاصله قبل از انجام بی‌حسی (روی تخت عمل)، بلافاصله بعد از انجام بی‌حسی، ۵ دقیقه بعد از انجام بی‌حسی، قبل و بعد از تجویز دارو، دوباره پارامترها ثبت شدند. همچنین در بدو ورود به ریکاوری و بعد از ورود به ریکاوری، هر ۱۰ دقیقه تا یک ساعت بیماران از نظر وجود استفراغ، لرز بعد از عمل، عوارض دارویی، نمره‌ی درد، نمره‌ی تهوع، نمرات فشار خون سیستولی و دیاستولی، ضربان قلب، (Respiratory rate) RR, Sedation score،

BP (Blood pressure)، HR (Heart rate) تحت نظر قرار گرفتند. همچنین طول مدت بی‌حسی و طول مدت عمل تمام بیماران ثبت شد.

هیپوتنشن (افت فشار سیستولی به زیر ۱۰۰ mmHg یا ۲۵ درصد کاهش در فشار سیستولی نسبت به فشار پایه‌ی بیمار) با شیفت مادر به پهلو چپ، لود رینگر لاکتات وریدی و ۵ mg افدرین وریدی درمان شد.

افت تعداد ضربان قلب به زیر ۵۵ ضربه در دقیقه با تجویز ۰/۰۱ mg به ازای هر کیلوگرم وزن اتروپین وریدی درمان شد. لرز با نمره‌ی ۳ یا ۴ یا لرزی که بیش از ۱۵ دقیقه طول کشید، با ۲۵ mg پتیدین وریدی، تهوع با نمره‌ی بیشتر از ۳ و نیز استفراغ با ۱۰ mg متوکلوپیرامید وریدی، درد با Visual analog scale (VAS) بیشتر از ۳ با تجویز ۵۰ µg فنتانیل وریدی، درمان شد. تمام داروهای دریافتی و تعداد دفعات و میزانشان ثبت گردید.

داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) آنالیز شدند. از آزمون ANOVA (Analysis of variance) جهت مقایسه‌ی میانگین داده‌های کمی بین سه گروه، از آزمون χ^2 جهت مقایسه‌ی متغیرهای کیفی - اسمی بین سه گروه و از آزمون Kruskal-Wallis جهت مقایسه‌ی داده‌های رتبه‌ای بین سه گروه استفاده شد. $P < ۰/۰۵۰$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

۹۹ زن باردار وارد مطالعه شدند. بین همه‌ی زنان باردار از نظر سن، سن حاملگی، قد، وزن، طول مدت بی‌حسی و طول مدت عمل در سه گروه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > ۰/۰۵۰$) (جدول ۱).

جدول ۱. مشخصات بیماران تحت عمل جراحی سزارین در سه گروه بیماران ($n = 33$ برای هر گروه)

مقدار P	گروه شاهد	گروه پتیدین	گروه دگزامتازون	
	میانگین \pm انحراف معیار	میانگین \pm انحراف معیار	میانگین \pm انحراف معیار	
۰/۳۷	۳۸/۵۰ \pm ۰/۰۱	۳۸/۶۰ \pm ۰/۸۰	۳۸/۸۰ \pm ۰/۷۰	سن حاملگی (هفته)
۰/۵۶	۲۸/۵۰ \pm ۲/۴۰	۲۷/۸۰ \pm ۴/۳۰	۲۸/۲۰ \pm ۳/۱۰	سن (سال)
۰/۶۱	۸۰/۰۰ \pm ۳/۳۰	۸۲/۰۰ \pm ۲/۴۰	۸۱/۰۰ \pm ۳/۱۰	وزن (کیلوگرم)
۰/۷۶	۱۶۳/۰۰ \pm ۳/۴۰	۱۶۴/۰۰ \pm ۳/۱۰	۱۶۳/۰۰ \pm ۳/۱۰	قد (سانتی‌متر)
۰/۱۴	۵۱/۶۰ \pm ۱۱/۷۰	۴۷/۵۰ \pm ۱۰/۳۰	۴۶/۷۰ \pm ۷/۷۰	طول مدت عمل (دقیقه)
۰/۹۳	۱۰۶/۹۰ \pm ۲۳/۰۰	۱۰۵/۲۰ \pm ۳۰/۷۰	۱۰۷/۹۰ \pm ۳۰/۴۰	طول مدت بی‌حسی (دقیقه)

تفاوت‌ها بین سه گروه معنی‌دار نبود ($P > 0/05$).

بی‌حسی، ۵ دقیقه بعد از انجام بی‌حسی، قبل و بعد از تجویز دارو، سپس در بدو ورود به ریکاوری و بعد از ورود به ریکاوری هر ۱۰ دقیقه تا یک ساعت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$) (جدول ۲ و ۳).

بین سه گروه مورد مطالعه، از نظر فشار خون سیستولی و دیاستولی، سرعت تنفس، ضربان قلب، درجه‌ی حرارت آگزیلاری و تیمپانیک در زمان‌های مختلف (میزان پایه در بخش، بلافاصله قبل از انجام بی‌حسی (روی تخت عمل)، بلافاصله بعد از انجام

جدول ۲. علایم حیاتی در سه گروه بیماران ($n = 33$ برای هر گروه)

زمان	گروه دگزامتازون			گروه پتیدین			گروه شاهد		
	HR	RR	SBP	HR	RR	SBP	HR	RR	SBP
Tb	۸۸/۴ \pm ۱۳/۵	۱۵/۷۵ \pm ۱/۵	۱۰۹/۰ \pm ۱۰/۰	۸۶/۸ \pm ۸/۰۶	۱۵/۳ \pm ۱/۳	۱۰۹/۲ \pm ۹/۳	۸۹/۵ \pm ۱۳/۵	۱۵/۹ \pm ۱/۵	۱۰۹/۴ \pm ۱۴/۵
T1	۱۰۴/۴ \pm ۱۲/۵	۱۷/۵ \pm ۰/۰۱	۱۳۴/۳ \pm ۱۰/۴	۱۰۵/۲ \pm ۱۶/۲	۱۷/۲ \pm ۱/۰	۱۳۲/۷ \pm ۱۱/۵	۱۰۵/۳ \pm ۱۹/۰	۱۷/۸ \pm ۱/۰	۱۳۵/۴ \pm ۱۴/۰
T2	۱۰۱/۰ \pm ۱۸/۵	۱۷/۶ \pm ۰/۰۱	۱۲۲/۰ \pm ۱۷/۶	۹۹/۰ \pm ۱۸/۶	۱۷/۳ \pm ۱/۰	۱۲۰/۰ \pm ۱۴/۸	۱۰۱/۰ \pm ۱۷/۸	۱۸/۰ \pm ۱/۰	۱۲۷/۵ \pm ۱۷/۰
T3	۹۸/۰ \pm ۲۲/۶	۱۷/۵ \pm ۱/۲	۱۰۴/۰ \pm ۱۹/۰	۱۰۲/۰ \pm ۲۲/۸	۱۷/۲ \pm ۱/۱	۱۰۷/۰ \pm ۱/۳	۹۷/۰ \pm ۲۷/۹	۱۷/۷ \pm ۱/۱	۱۰۹/۱ \pm ۲۲/۰
T4	۹۶/۰ \pm ۱۹/۴	۱۷/۲ \pm ۱/۲	۱۱۱/۶ \pm ۱۵/۹	۱۰۰/۰ \pm ۲۲/۷	۱۷/۱ \pm ۱/۱	۱۱۲/۰ \pm ۱۳/۶	۹۷/۰ \pm ۲۰/۰	۱۷/۴ \pm ۱/۳	۱۱۳/۰ \pm ۱۴/۵
T5	۹۸/۰ \pm ۱۷/۴	۱۷/۱ \pm ۱/۳	۱۰۹/۰ \pm ۱۳/۶	۱۰۲/۰ \pm ۱۶/۴	۱۶/۷ \pm ۰/۹	۱۱۳/۰ \pm ۱۴/۰	۹۸/۰ \pm ۱۹/۱	۱۷/۴ \pm ۱/۳	۱۱۰/۶ \pm ۳۱/۱
T0	۸۷/۰ \pm ۱۶/۰	۱۶/۶ \pm ۱/۴	۱۱۱/۹ \pm ۱۵/۵	۸۵/۰ \pm ۱۴/۶	۱۶/۲ \pm ۰/۸	۱۰۹/۷ \pm ۱۲/۷	۸۶/۱ \pm ۱۳/۸	۱۱۶/۶ \pm ۱۱/۹	۱۶/۸ \pm ۱/۱
T10	۱۴/۰ \pm ۱۷/۳	۱۶/۵ \pm ۱/۳	۱۱۳/۰ \pm ۱۴/۹	۸۲/۰ \pm ۱۵/۰	۱۶/۲ \pm ۰/۸	۱۱۱/۰ \pm ۱۱/۳	۸۴/۱ \pm ۱۲/۸	۱۱۵/۲ \pm ۱۱/۶	۱۶/۳ \pm ۰/۹
T20	۸۲/۷ \pm ۱۵/۵	۱۶/۵ \pm ۱/۳	۱۱۲/۰ \pm ۱۶/۴	۸۰/۶ \pm ۱۵/۵	۱۶/۳ \pm ۰/۹	۱۱۱/۸ \pm ۱۱/۲	۸۳/۶ \pm ۱۲/۹	۱۱۴/۷ \pm ۱۲/۰	۱۶/۵ \pm ۰/۹
T30	۸۱/۰ \pm ۱۶/۹	۱۶/۵ \pm ۱/۳	۱۱۶/۱ \pm ۱۳/۰	۷۹/۳ \pm ۱۴/۸	۱۶/۴ \pm ۰/۸	۱۱۳/۷ \pm ۱۰/۶	۸۲/۲ \pm ۱۲/۳	۱۱۷/۱ \pm ۱۲/۶	۱۶/۴ \pm ۰/۸
T40	۸۰/۴ \pm ۱۶/۴	۱۶/۴ \pm ۱/۲	۱۱۷/۱ \pm ۱۳/۱	۸۰/۰ \pm ۱۵/۸	۱۶/۳ \pm ۰/۸	۱۱۷/۰ \pm ۱۳/۵	۸۳/۳ \pm ۱۲/۲	۱۱۸/۲ \pm ۱۱/۱	۱۶/۴ \pm ۰/۸
T50	۷۸/۷ \pm ۱۵/۷	۱۶/۳ \pm ۱/۰	۱۱۷/۰ \pm ۱۴/۸	۷۹/۲ \pm ۱۴/۷	۱۶/۴ \pm ۱/۰	۱۱۹/۲ \pm ۱۱/۵	۸۱/۳ \pm ۱۲/۷	۱۱۹/۲ \pm ۱۰/۵	۱۶/۵ \pm ۰/۹
T60	۷۸/۲ \pm ۱۶/۳	۱۶/۲ \pm ۱/۰	۱۱۸/۳ \pm ۱۴/۱	۸۰/۶ \pm ۱۵/۰	۱۶/۳ \pm ۰/۹	۱۱۸/۲ \pm ۱۱/۰	۸۳/۱ \pm ۱۴/۹	۱۱۹/۴ \pm ۱۰/۷	۱۶/۴ \pm ۰/۸

HR: Heart rate; RR: Respiratory rate; SBP: Systolic blood pressure

داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شده‌اند؛ در هیچ زمان بین سه گروه تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($P > 0/05$).

قبل و حین عمل، Tb: میزان پایه در بخش؛ T1: بلافاصله قبل از انجام بی‌حسی (روی تخت عمل)؛ T2: بلافاصله بعد از انجام بی‌حسی؛ T3: ۵ دقیقه بعد از انجام بی‌حسی؛ T4: قبل از تجویز دارو؛ T5: بعد از تجویز دارو در ریکاوری، T0: در بدو ورود به ریکاوری؛ T10: ۱۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T20: ۲۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T30: ۳۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T40: ۴۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T50: ۵۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T60: ۶۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری

جدول ۳. درجه‌ی حرارت مرکزی و محیطی در سه گروه بیماران ($n = 33$ برای هر گروه)

زمان	گروه دگزامتازون		گروه پتیدین		گروه شاهد	
	آگزیلاری	تیمپانیک	آگزیلاری	تیمپانیک	آگزیلاری	تیمپانیک
Tb	۳۶/۱ ± ۰/۸	۳۶/۸ ± ۰/۳	۳۶/۷ ± ۰/۳	۳۶/۰ ± ۳۰/۶	۳۶/۸ ± ۰/۲	۳۶/۲ ± ۰/۵
T۱	۳۵/۶ ± ۱/۰	۳۶/۴ ± ۰/۵	۳۶/۵ ± ۰/۴	۳۶/۰ ± ۰/۷	۳۶/۶ ± ۰/۴	۳۵/۸ ± ۰/۸
T۲	۳۵/۹ ± ۰/۹	۳۶/۴ ± ۰/۵	۳۶/۵ ± ۰/۴	۳۶/۰ ± ۰/۸	۳۶/۶ ± ۰/۴	۳۶/۰ ± ۰/۸
T۳	۳۵/۸ ± ۰/۸	۳۶/۳ ± ۰/۵	۳۶/۴ ± ۰/۴	۳۵/۹ ± ۰/۸	۳۶/۵ ± ۰/۴	۳۵/۹ ± ۰/۸
T۴	۳۵/۷ ± ۰/۹	۳۶/۳ ± ۰/۵	۳۶/۳ ± ۰/۴	۳۵/۸ ± ۰/۸	۳۶/۳ ± ۰/۴	۳۵/۸ ± ۰/۸
T۵	۳۵/۷ ± ۰/۹	۳۶/۳ ± ۰/۴	۳۶/۲ ± ۰/۳	۳۶/۰ ± ۰/۷	۳۶/۳ ± ۰/۴	۳۵/۷ ± ۰/۷
T۰	۳۵/۰ ± ۰/۷	۳۵/۹ ± ۰/۶	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۲ ± ۰/۶	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۱ ± ۰/۷
T۱۰	۳۵/۱ ± ۰/۷	۳۵/۸ ± ۰/۶	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۱ ± ۰/۶	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۱ ± ۰/۷
T۲۰	۳۵/۲ ± ۰/۶	۳۵/۹ ± ۰/۸	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۱ ± ۰/۶	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۲ ± ۰/۶
T۳۰	۳۵/۲ ± ۰/۶	۳۵/۹ ± ۰/۶	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۱ ± ۰/۶	۳۵/۷ ± ۰/۴	۳۵/۲ ± ۰/۶
T۴۰	۳۵/۳ ± ۰/۶	۳۵/۸ ± ۰/۶	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۲ ± ۰/۶	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۲ ± ۰/۷
T۵۰	۳۵/۲ ± ۰/۷	۳۵/۷ ± ۰/۵	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۲ ± ۰/۷	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۳ ± ۰/۶
T۶۰	۳۵/۲ ± ۰/۷	۳۵/۸ ± ۰/۶	۳۵/۸ ± ۰/۵	۳۵/۳ ± ۰/۷	۳۵/۹ ± ۰/۶	۳۵/۲ ± ۰/۶

داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شده‌اند؛ در هیچ زمان بین سه گروه تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($P > ۰/۰۵۰$). قبل و حین عمل، Tb: میزان پایه در بخش؛ T۱: بلافاصله قبل از انجام بی‌حسی (روی تخت عمل)؛ T۲: بلافاصله بعد از انجام بی‌حسی؛ T۳: ۵ دقیقه بعد از انجام بی‌حسی؛ T۴: قبل از تجویز دارو؛ T۵: بعد از تجویز دارو در ریکاوری، T۰: در بدو ورود به ریکاوری؛ T۱۰: ۱۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۲۰: ۲۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۳۰: ۳۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۴۰: ۴۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۵۰: ۵۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۶۰: ۶۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری

در بین سه گروه از نظر میزان خواب آلودگی و نمره‌ی درد در زمان‌های متعدد در سه گروه سطح بلوک حسی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد مقایسه شد و تفاوت‌ها در هیچ زمانی معنی‌دار نبودند ($P > ۰/۰۵۰$). (جدول ۴).

جدول ۴. نمره‌ی درد در سه گروه بیماران در ریکاوری ($n = 33$ برای هر گروه)

زمان	گروه دگزامتازون	گروه پتیدین	گروه شاهد	مقدار P
T۰	۱/۲۵ ± ۰/۷۵	۱/۰۰ ± ۰	۱/۱۵ ± ۰/۵۰	۰/۱۵
T۱۰	۱/۱۵ ± ۰/۶۲	۱/۰۰ ± ۰	۱/۱۸ ± ۰/۷۲	۰/۳۴
T۲۰	۱/۳۱ ± ۰/۶۴	۱/۰۸ ± ۰/۲۸	۱/۱۸ ± ۰/۴۷	۰/۱۷
T۳۰	۱/۳۷ ± ۰/۸۳	۱/۲۰ ± ۰/۵۳	۱/۲۷ ± ۰/۷۲	۰/۶۲
T۴۰	۱/۲۱ ± ۰/۶۰	۱/۳۵ ± ۰/۸۴	۱/۲۷ ± ۰/۵۲	۰/۷۱
T۵۰	۱/۲۵ ± ۰/۶۷	۱/۳۵ ± ۰/۸۴	۱/۵۱ ± ۰/۸۳	۰/۳۹
T۶۰	۱/۱۲ ± ۰/۴۲	۱/۱۴ ± ۰/۴۴	۱/۳۰ ± ۰/۶۳	۰/۳۸

داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شده‌اند؛ در هیچ زمان بین سه گروه تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($P > ۰/۰۵۰$). T۰: در بدو ورود به ریکاوری؛ T۱۰: ۱۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۲۰: ۲۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۳۰: ۳۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۴۰: ۴۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۵۰: ۵۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۶۰: ۶۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری

جدول ۵. نمره‌ی لرز در سه گروه بیماران ($n = 33$ برای هر گروه)

زمان	گروه دگزامتازون	گروه پتیدین	گروه شاهد	مقدار P
Tb	0.17 ± 0.03	0 ± 0	0 ± 0	۰/۳۶
T۱	0.24 ± 0.06	0 ± 0	0 ± 0	۰/۱۳
T۲	0.24 ± 0.06	0 ± 0	0 ± 0	۰/۱۳
T۳	0.24 ± 0.06	0 ± 0	0 ± 0	۰/۱۳
T۴	0.17 ± 0.03	0 ± 0	0 ± 0	۰/۳۶
T۵	0.17 ± 0.03	0 ± 0	0 ± 0	۰/۳۶
T۰	0.77 ± 0.28	0 ± 0	0.93 ± 0.45	۰/۰۳*
T۱۰	0.30 ± 0.09	0 ± 0	0.72 ± 0.30	۰/۰۲*
T۲۰	0.64 ± 0.18	0 ± 0	0.72 ± 0.30	۰/۰۴*
T۳۰	0.42 ± 0.12	0.28 ± 0.08	0.33 ± 0.12	۰/۸۹
T۴۰	0.21 ± 0.17	0.23 ± 0.05	0.59 ± 0.31	۰/۱۳
T۵۰	0.92 ± 0.18	0.23 ± 0.05	0.58 ± 0.28	۰/۳۷
T۶۰	0 ± 0	0.17 ± 0.02	0.56 ± 0.15	۰/۱۶

داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شده‌اند؛ در سه زمان اول ریکاوری بین سه گروه تفاوت‌ها معنی‌دار بودند ($P < 0.05$).

قبل و حین عمل، Tb: میزان پایه در بخش؛ T۱: بلافاصله قبل از انجام بی‌حسی (روی تخت عمل)؛ T۲: بلافاصله بعد از انجام بی‌حسی؛ T۳: ۵ دقیقه بعد از انجام بی‌حسی؛ T۴: قبل از تجویز دارو؛ T۵: بعد از تجویز دارو در ریکاوری، T۰: در بدو ورود به ریکاوری؛ T۱۰: ۱۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۲۰: ۲۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۳۰: ۳۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۴۰: ۴۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۵۰: ۵۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری؛ T۶۰: ۶۰ دقیقه بعد از ورود به ریکاوری

کمتر بود و تفاوت‌ها معنی‌دار بودند ($P = 0.006$).

در سه گروه از نظر عوارض جانبی داروها (افت فشار خون، افت ضربان قلب، دیرسیون تنفسی، تهوع و استفراغ) تفاوت‌ها معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

بحث

این مطالعه جهت مقایسه‌ی تأثیر پروپولاکسیک دگزامتازون و پتیدین وریدی در پیشگیری از لرز بعد از عمل سزارین سکشن الکتیو تحت بی‌حسی اسپینال انجام شد که طبق نتایج حاصل از این بررسی، میزان بروز و شدت لرز بعد از عمل در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی پتیدین و دگزامتازون، در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود. میانگین نمره‌ی لرز به ترتیب ۰/۰۳، ۰/۱۵ و ۰/۲۷ محاسبه شد.

میانگین نمره‌ی لرز در همه‌ی زمان‌ها [میزان پایه در بخش، بلافاصله قبل از انجام بی‌حسی (روی تخت عمل)، بلافاصله بعد از انجام بی‌حسی، ۵ دقیقه بعد از انجام بی‌حسی، قبل و بعد از تجویز دارو، سپس در بدو ورود به ریکاوری و بعد از ورود به ریکاوری هر ۱۰ دقیقه تا یک ساعت] بین سه گروه مقایسه شد و نتایج در جدول ۵ آمده است.

میزان بروز و شدت لرز بعد از عمل در گروه دریافت‌کننده‌ی پتیدین و دگزامتازون، در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود که میانگین نمره‌ی لرز به ترتیب ۰/۰۳، ۰/۲۷ و ۰/۱۵ محاسبه شد و تفاوت بین گروه‌ها معنی‌دار بود ($P = 0.005$). میزان و تعداد دفعات دریافت پتیدین جهت کنترل لرز در گروه دریافت‌کننده‌ی پتیدین و دگزامتازون، در مقایسه با گروه شاهد

همچنین میزان و تعداد دفعات دریافت پتیدین جهت درمان لرز بعد از عمل در گروه دریافت کننده‌ی پتیدین و دگزامتازون، در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود و تفاوت‌ها معنی‌دار بودند.

لرز بعد از عمل که وضعیتی آزار دهنده است، منجر به افزایش مصرف اکسیژن (۶۰۰-۱۰۰ درصد)، افزایش برون‌ده قلبی، افزایش تولید دی‌اکسید کربن، افزایش کاتکول آمین‌های در گردش، افزایش فشار داخل جمجمه، افزایش فشار داخل چشم و تداخل با مانیتورینگ فشار خون و قلبی می‌شود (۱۸، ۳) که باعث ناراحتی مریض و تأخیر در ترخیص مریض از بیمارستان می‌شود. بنابراین پیشگیری از آن باید در نظر گرفته شود. لرز بعد از عمل در بی‌حسی اسپینال می‌تواند در نتیجه‌ی کاهش دمای مرکزی بدن به علت بلوک سیستم سمپاتیک و به دنبال آن گشاد شدن عروق محیطی و از دست دادن حرارت از راه پوست یا به علت سرد بودن دمای اتاق عمل یا ریکاوری یا تجویز مایعات وریدی با سرعت زیاد باشد. همچنین اگر دمای محلول بی‌حسی نخاعی سرد باشد، باعث تحریک ساختارهای ترموسنسیتو در طناب نخاعی می‌شود (۱۹).

ز راه‌های فیزیکی پیشگیری از لرز بعد از عمل، می‌توان به استفاده از سیستم‌های گرم کننده‌ی هوا، گرم کننده‌های تابشی، حفظ درجه‌ی حرارت اتاق عمل و ریکاوری در حد ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، استفاده از درپ دو لایه حین عمل و پتوی اضافه در ریکاوری، کاهش سرعت تجویز مایعات وریدی و تجویز اکسیژن به شکل گرم و مرطوب اشاره کرد. هر چند، مهم‌ترین راه پیشگیری از لرز بعد از عمل، استفاده از روش‌های دارویی است. دامنه‌ی وسیعی از داروها مانند پتیدین و

سایر مخدرها (فتانیل، آلفتانیل و سوفتانیل)، دوگزاپرام، کلونیدین، کتانسین و دگزامتازون، بر اساس گزارش‌ها در پیشگیری و کاهش لرز بعد از عمل مؤثر بوده‌اند. پتیدین در طول عمل و بعد از عمل جهت پیشگیری و درمان لرز بعد از عمل به کار رفته است. نیمه‌ی عمر پتیدین وریدی ۴-۶ ساعت است و می‌توان از تک دوز آن در پیشگیری از لرز بعد از عمل های کوتاه و متوسط استفاده کرد. اگر چه تجویز مخدرها قبل از عمل می‌تواند ایجاد خواب آلودگی، تهوع، استفراغ، خارش و عوارض تنفسی و همودینامیک کند و منجر به تأخیر در ترخیص بیمار از ریکاوری شود. در یک تحقیق مشابه، تجویز پروپولاکتیک پتیدین با دوز کم، نقش مهمی در پیشگیری از لرز بعد از عمل نداشته است (۲۰).

مخدرها از طریق اثر بر گیرنده‌های μ و K اوپیوئیدی باعث افزایش آستانه‌ی لرز می‌شوند. گیرنده‌ی K اوپیوئیدی نسبت به گیرنده‌ی μ نقش مهم‌تری در مقابله با لرز دارد. پتیدین بیشتر بر گیرنده‌ی K اثر آگونیستی دارد و بهتر از دوز مشابه از آگونیست‌های گیرنده‌ی μ مانند مورفین، فتانیل، آلفتانیل و سوفتانیل، لرز را مهار می‌کند. بنابراین اثر ضد لرز ویژه‌ی پتیدین مرتبط با اثر آن بر گیرنده‌ی K اوپیوئیدی می‌باشد (۲۱، ۱۵).

مکانیسم احتمالی دیگر در ایجاد لرز بعد از عمل تب و لرز ثانویه به پاسخ التهابی طی عمل و آزاد شدن مدیاتورهای التهابی تب‌زا و منقبض کننده‌ی عروق است. دگزامتازون در بسیاری از بررسی‌ها، گرادیان درجه‌ی حرارت محیطی و مرکزی را کاهش می‌دهد و پاسخ التهابی را بهبود می‌بخشد و تب و لرز بعد از عمل را کاهش می‌دهد (۲۲، ۱۱). تجویز قبل از عمل

کننده‌ی دمای بدن، باعث ایجاد لرز می‌شود. در تحقیقات مشابه در بیماران تحت جراحی قلب باز، به جز کاهش تحمل گلوکز و اسیدوز متابولیک مختص، عارضه‌ی مهم دیگری در ارتباط با دگزامتازون گزارش نشده است (۱۱).

اگر چه استفاده‌ی پروفیلاکتیک از دگزامتازون و پتیدین در کاهش بروز و شدت لرز بعد از عمل و کاهش نیاز به دریافت داروهای ضد لرز مؤثر بودند، اما در این تحقیق پتیدین در پیشگیری از لرز بعد از عمل سزارین سکشن الکتیو تحت بی‌حسی اسپینال از دگزامتازون مؤثرتر بود. اما از نظر علایم حیاتی، درجه‌ی حرارت مرکزی و محیطی، سطح حسی و عوارض جانبی در هیچ زمانی در سه گروه تفاوت‌ها معنی‌دار نبود.

بنابراین می‌توان دگزامتازون را به عنوان یک جایگزین برای پیشگیری از لرز بعد از سزارین سکشن الکتیو تحت بی‌حسی اسپینال، به خصوص در مواردی که ممنوعیتی جهت تجویز پتیدین وجود دارد، تجویز نمود. این تحقیق نشان داد تک دوز دگزامتازون وریدی به میزان $0/15 \text{ mg/kg}$ به عنوان پروفیلاکسی بروز و شدت لرز بعد از عمل سزارین الکتیو تحت بی‌حسی اسپینال است و نیاز به دریافت داروی ضد لرز را کاهش می‌دهد. مطالعات بیشتر با حجم نمونه‌ی بیشتر و دوزهای بالاتر دگزامتازون توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم توسعه، پژوهش و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جهت مساعدت و حمایت مالی در انجام این پایان‌نامه تشکر و قدردانی می‌گردد.

دگزامتازون همچنین می‌تواند تورم و درد بعد از عمل را کاهش دهد و جریان خون محیطی بعد از اعمال جراحی مختلف را با واسطه‌ی اثر مهارش بر تولید مدیاتورهای التهابی بهبود بخشد (۲۳-۲۴). نیمه‌ی عمر دگزامتازون وریدی در پلاسما ۳-۴/۵ ساعت است.

دگزامتازون در بررسی‌ها بدون ارتباط با سایر عوامل نظیر سن، جنس، نوع عمل و طول مدت عمل، لرز را مهار کرده است (۲۵-۲۶). با این وجود در سایر مطالعات، تفاوتی بین درجه‌ی حرارت محیطی، مرکزی و گرادیان درجه‌ی حرارت محیطی و مرکزی بین کسانی که دچار لرز شدند و کسانی که لرزی بروز ندادند، به دست نیامده است. همچنین لرز در بین کسانی که در طول عمل نرموترمیک بودند یا کسانی که گرم نگه داشته شده‌اند نیز بروز کرده است (۲۸-۲۷، ۱۰).

در مطالعه‌ی دیگر، ۸۰ درصد کسانی که دچار لرز بعد از عمل شدند، انقباض عروقی نیز داشتند که تأیید می‌کند، لرز با واسطه‌ی مدیاتورها و اثر آن‌ها بر ساختارهای تنظیم درجه‌ی حرارت بدن، بروز می‌کند (۲۹). در این مطالعه نیز تفاوتی بین درجه‌ی حرارت محیطی، مرکزی و گرادیان درجه‌ی حرارت محیطی و مرکزی بین کسانی که دچار لرز شدند و کسانی که لرزی بروز ندادند، در هیچ زمانی ثبت نشد. اگر چه به نظر می‌رسد لرز با از دست دادن دما مرتبط باشد. این بررسی نشان داد مهار لرز با دگزامتازون بدون ارتباط با دما می‌باشد که نقش مدیاتورهای التهابی را در بروز لرز تأیید می‌کند. فعال شدن مدیاتورهای التهابی و آزاد شدن سایتوکین‌های تب‌زا و منقبض کننده‌ی عروق طی سزارین سکشن، باعث انقباض عروق محیطی، بروز تب و با اثر آن‌ها بر مرکز تنظیم

References

- Gonzalez de Zarate AJ, Giron MR. Postanesthetic shivering. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 1985; 32(1): 30-6. [In Spanish].
- Chen JC, Hsu SW, Hu LH, Hong YJ, Tsai PS, Lin TC, et al. Intrathecal meperidine attenuates shivering induced by spinal anesthesia. *Ma Zui Xue Za Zhi* 1993; 31(1): 19-24. [In Chinese].
- Tsai YC, Chu KS. A comparison of tramadol, amitriptyline, and meperidine for postepidural anesthetic shivering in parturients. *Anesth Analg* 2001; 93(5): 1288-92.
- Roy JD, Girard M, Drolet P. Intrathecal meperidine decreases shivering during cesarean delivery under spinal anesthesia. *Anesth Analg* 2004; 98(1): 230-4, table.
- Guyton AC. Body temperature, temperature regulation and fever. In: Guyton AC, Hall JE, editors. *Textbook of medical physiology*. 9th ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders; 1996. p. 911-22.
- Buggy DJ, Crossley AW. Thermoregulation, mild perioperative hypothermia and postanesthetic shivering. *Br J Anaesth* 2000; 84(5): 615-28.
- Spaniol SE, Bond EF, Brengelmann GL, Savage M, Pozos RS. Shivering following cardiac surgery: predictive factors, consequences, and characteristics. *Am J Crit Care* 1994; 3(5): 356-67.
- Crossley AWA: Peri-operative shivering. *Anesthesia* 1992;47(3): 193-5.
- Entezariasl M, Isazadehfar K. Dexamethasone for prevention of postoperative shivering: A randomized double-blind comparison with pethidine. *Int J Prev Med* 2013; 4(7): 818-24.
- Yared JP, Starr NJ, Torres FK, Bashour CA, Bourdakos G, Piedmonte M, et al. Effects of single dose, postinduction dexamethasone on recovery after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2000; 69(5): 1420-4.
- Yared JP, Starr NJ, Hoffmann-Hogg L, Bashour CA, Insler SR, O'Connor M, et al. Dexamethasone decreases the incidence of shivering after cardiac surgery: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Anesth Analg* 1998; 87(4): 795-9.
- Kelsaka E, Baris S, Karakaya D, Sarihasan B. Comparison of ondansetron and meperidine for prevention of shivering in patients undergoing spinal anesthesia. *Reg Anesth Pain Med* 2006; 31(1): 40-5.
- Haque MF, Rashid MH, Rahaman MS, Islam MR. Comparison between tramadol hydrochloride & nalbuphine hydrochloride in the treatment of per-operative shivering after spinal anaesthesia. *Mymensingh Med J* 2011; 20(2): 201-5.
- Tauzin-Fin P, Maurette P, Vincon G, Hecquet D, Houdek MC, Bonnet F. Clinical and pharmacokinetic aspects of the combination of meperidine and prilocaine for spinal anaesthesia. *Can J Anaesth* 1992; 39(7): 655-60.
- Arti H, Mehdinasab SA. The comparison effects of intra-articular injection of different opioids on postoperative pain relieve after arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction: A randomized clinical trial study. *J Res Med Sci* 2011; 16(9): 1176-82.
- Crossley AW, Mahajan RP. The intensity of postoperative shivering is unrelated to axillary temperature. *Anaesthesia* 1994; 49(3): 205-7.
- Wilson E, David A, MacKenzie N, Grant IS. Sedation during spinal anaesthesia: comparison of propofol and midazolam. *Br J Anaesth* 1990; 64(1): 48-52.
- Alfonsi P. Postanaesthetic shivering. Epidemiology, pathophysiology and approaches to prevention and management. *Minerva Anesthesiol* 2003; 69(5): 438-42.
- Chan AM, Ng KF, Tong EW, Jan GS. Control of shivering under regional anesthesia in obstetric patients with tramadol. *Can J Anaesth* 1999; 46(3): 253-8.
- Bhukal I, Solanki SL, Kumar S, Jain A. Pre-induction low dose pethidine does not decrease incidence of postoperative shivering in laparoscopic gynecological surgeries. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2011; 27(3): 349-53.
- Alfonsi P, Hongnat JM, Lebrault C, Chauvin M. The effects of pethidine, fentanyl and lignocaine on postanesthetic shivering. *Anaesthesia* 1995; 50(3): 214-7.
- Murphy GS, Sherwani SS, Szokol JW, Avram MJ, Greenberg SB, Patel KM, et al. Small-dose dexamethasone improves quality of recovery scores after elective cardiac surgery: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2011; 25(6): 950-60.
- De Oliveira GSJ, Almeida MD, Benzon HT, McCarthy RJ. Perioperative single dose systemic dexamethasone for postoperative pain: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Anesthesiology* 2011; 115(3): 575-88.
- Bisgaard T, Klarskov B, Kehlet H, Rosenberg J. Preoperative dexamethasone improves surgical outcome after laparoscopic cholecystectomy: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Ann Surg* 2003; 238(5): 651-60.

25. Horn EP, Standl T, Sessler DI, von KG, Buchs C, Schulte am EJ. Physostigmine prevents postanesthetic shivering as does meperidine or clonidine. *Anesthesiology* 1998; 88(1): 108-13.
26. Sessler DI, Rubinstein EH, Moayeri A. Physiologic responses to mild perianesthetic hypothermia in humans. *Anesthesiology* 1991; 75(4): 594-610.
27. Crossley AW. Peri-operative shivering. *Anaesthesia* 1992; 47(3): 193-5.
28. Holdcroft A, Hall GM. Heat loss during anaesthesia. *Br J Anaesth* 1978; 50(2): 157-64.
29. Holm EP, Sessler DI, Standl T, am Esch JS. Shivering following normothermic desflurane or isoflurane anesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 1997; 111: 321-2.

Comparing the Efficacy of Prophylactic Intravenous Dexamethasone and Pethidine on Postoperative Shivering in Elective Cesarean Section Under Spinal Anaesthesia

Mitra Jabalameli MD¹, Armina Radmanesh²

Original Article

Abstract

Background: Postoperative shivering is an important complication following spinal anaesthesia. It interferes with monitoring devices distressing to the patient and increases oxygen consumption. The aim of this study was to compare the effectiveness of pethidine and dexamethasone in the prevention of postoperative shivering after spinal anaesthesia for caesarean section.

Methods: In this prospective, randomized, double-blind study, 99 obstetric patients with ASA I–II (American Society of Anesthesiologists) undergoing elective caesarean section under spinal anaesthesia were randomly allocated to one of three equal groups: Group D received 0.15 mg/kg dexamethasone, Group P received 0.5 mg/kg pethidine and Group C (control) received normal saline. The drugs were given intravenously immediately after delivery of the infant with recording of axillary and core temperature and vital signs in several time intraoperative and every 10 minutes in recovery room. The incidence and intensity of shivering, number of patients received pethidine, sensory level, pain (in visual analogue scale), and side effects (hypotension, hypertension, tachycardia, bradycardia, sedation, nausea and vomiting) were also recorded.

Findings: Incidence and intensity of shivering were reduced in groups P and D compared to group C ($P < 0.05$). The means of shivering score were 0.03, 0.15 and 0.27 in groups P, D and C, respectively. Receiving pethidine to control shivering after the surgery was significantly lower in groups P and D compared to group C ($P < 0.05$). There were no significant differences in vital signs, axillary and core temperature, sensory level and side effects among all groups.

Conclusion: The prophylactic use of 0.15 mg/kg dexamethasone is effective for shivering prophylaxis in women undergoing caesarean section under spinal anaesthesia.

Keywords: Shivering, Spinal anaesthesia, Dexamethasone, Pethidine, Caesarean section

Citation: Jabalameli M, Radmanesh A. Comparing the Efficacy of Prophylactic Intravenous Dexamethasone and Pethidine on Postoperative Shivering in Elective Cesarean Section Under Spinal Anaesthesia. J Isfahan Med Sch 2014; 32(285): 678-89

* This paper is derived from a medical doctorate thesis No. 390221 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- Associate Professor, Department of Anesthesiology and Critical Care, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

Corresponding Author: Armina Radmanesh, Email: arminaradmanesh@yahoo.com

آرتیفکت‌ها و سایر اشکال مشابه عناصر قارچی در آزمایشگاه قارچ‌شناسی پزشکی

دکتر اصغر سپه‌وند^۱، دکتر رسول محمدی^۲، عاطفه میر دریکوند^۳، سهیلا سلیمان‌نژاد^۴، دکتر رضا روزبهانی^۵

مقاله مروری

چکیده

هدف از این مطالعه مروری، شناسایی آرتیفکت‌ها (اجسام مصنوعی) و افتراق آن‌ها از عناصر قارچی با استفاده از روش‌های کاربردی و ساده در آزمایشگاه قارچ‌شناسی پزشکی و در نهایت تشخیص درست سلول‌های قارچی و به دنبال آن درمان و پیشگیری مناسب عفونت‌های قارچی (Mycoses) می‌باشد. آرتیفکت‌ها جزء جدایی ناپذیر فرایند تشخیص هستند و به طور پنهان و آشکار، از خطاهای رایج در آزمایشگاه می‌باشند. عمده‌ترین اشکال مشابه سلول‌های قارچی عبارت از موزاییک فونگوس، قطرات روغن و چربی‌ها، گلبول‌های قرمز و سفید، الیاف، باکتری‌ها، انگل‌ها و اجزای مختلف در مقاطع بافتی می‌باشند. این اشکال در بخش قارچ‌شناسی کمتر از سایر بخش‌های آزمایشگاه طبی مورد توجه قرار می‌گیرند و پیامد آن‌ها، گزارش نتایج مثبت کاذب، درمان‌های بیهوده و سردرگمی بیمار می‌باشد. شناسایی و معرفی مکرر این اشکال برای پرسنل آزمایشگاه‌ها، به ویژه افراد تازه‌کار، می‌تواند عامل مهمی در تشخیص درست عناصر قارچی، بیماری‌ها، کاهش هزینه‌ی درمان و ثبت معتبر شیوع مایکوزیس در جامعه باشد که هدف از مطالعه‌ی حاضر نیز، بیان نکات تشخیصی کلیدی در این زمینه و نیل به اهداف پیش‌گفته می‌باشد.

واژگان کلیدی: آرتیفکت، آزمایش مستقیم، هیستوپاتولوژی، قارچ‌شناسی پزشکی

ارجاع: سپه‌وند اصغر، محمدی رسول، میر دریکوند عاطفه، سلیمان‌نژاد سهیلا، روزبهانی رضا. آرتیفکت‌ها و سایر اشکال مشابه عناصر قارچی در آزمایشگاه قارچ‌شناسی پزشکی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۵): ۷۰۱-۶۹۰

مقدمه

با وجود پیشرفت‌های سریع و گوناگون قارچ‌شناسی پزشکی در زمینه‌های تشخیصی از جمله آزمایش مستقیم، کشت و روش‌های مولکولی، هنوز هم هیدروکسید پتاسیم (KOH یا Potassium hydroxide) به عنوان اولین، رایج‌ترین و مهم‌ترین ماده‌ی شیمیایی در بررسی نمونه‌های بالینی در آزمایشگاه‌های قارچ‌شناسی پزشکی کشور مطرح می‌باشد.

استفاده از هیدروکسید پتاسیم، همانند رنگ‌آمیزی گرم در باکتری‌شناسی، به عنوان پایه‌ای ثابت و راهبردی در تشخیص عناصر قارچی کاربرد دارد. هیدروکسید پتاسیم با هضم (حل کردن) نمونه‌های بالینی، باعث شفاف شدن آن‌ها می‌شود. اگر چه دیواره‌ی سلول‌های قارچی به علت داشتن کیتین مقاوم به این هضم می‌باشد، اما سرانجام آن‌ها نیز تخریب می‌شوند. این محلول بازی قوی،

۱- استادیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲- استادیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

۴- کارشناس علوم آزمایشگاهی، بیمارستان شهدای عشایر، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

۵- استادیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

پریتون، مایع مفصل)، آگزوداها، بیوپسی، خلط، دیگر نمونه‌های دستگاه تنفسی تحتانی، نمونه‌های بافتی خرد شده و تراشه‌های زخم می‌باشند و در موارد مشکوک به تینه‌آ ورسیکالر، درماتوفیتوزیس، کاندیدیازیس و تمامی بیماری‌های قارچی احشایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۰).

آرتیفکت‌ها

آرتیفکت‌ها در مطالعات میکروسکوپی، جزئیات ساختاری پدید آمده ناشی از پردازش نمونه هستند و بنابراین تصویر واقعی و درست نمونه نمی‌باشند (۱۱). تعداد زیادی آرتیفکت وجود دارد که مشابه قارچ‌ها هستند و در زیر میکروسکوپ ممکن است با عوامل قارچی اشتباه شوند. بنابراین باید مواظبت نمود که عناصر رؤیت شده، در حقیقت عناصر قارچی باشند. آرتیفکت‌ها به طور معمول، دارای دیواره‌های سلولی یا دیواره‌های عرضی مشخصی نیستند.

همچنین هیچ گونه آثاری از جوانه زدن یا ساختمان‌های داخل سلولی از جمله هسته یا گنجیدگی‌های سیتوپلاسمی در آن‌ها وجود ندارد (۱۲-۱۳).

استفاده از میکروسکوپ نوری در انجام آزمون‌های میکروسکوپی، نیاز به دقت، تجربه و حوصله دارد؛ زیرا نور خیلی زیاد میکروسکوپ با محو نمودن تصویر قارچ‌ها، منجر به نتایج کاذب می‌شود. بنابراین می‌توان با کم کردن نور میکروسکوپ، از این پدیده جلوگیری نمود. به کار بردن نور کافی، تنظیم مرتب عدسی‌ها، دیافراگم‌ها و کندانسور که منجر به ایجاد کنتراست مناسب (در شدت و یا رنگ) می‌شود، دارای اهمیت کاربردی است.

سلول‌های اپی‌تلیال، گلبول‌های سفید و قرمز، موکوس و دیگر مواد پروتئینی را هضم یا لیز می‌کنند و بسیاری از پیگمان‌ها را سفید و سیمان اتصال دهنده‌ی سلول‌های کراتینیزه را حل می‌نماید. این فرایند، شرایط یافتن سلول‌های قارچی را در ترشحات و بافت‌های کراتین‌دار فراهم می‌نماید. غلظت زیاد کیتین در عناصر قارچی، عامل مقاومت به دنا تورا سیون هیدروکسید پتاسیم می‌باشد. کیتین یک مولکول غول‌آسای پلی ساکاریدی، متشکل از مولکول‌های کوچک‌تر زنجیره‌های قندی است. در زبان یونانی به معنی پوشش (Tunic) است و دارای نقش‌های ساختاری و دفاعی در قارچ‌ها می‌باشد. ساختارهای قارچی مانند هایفی، مخمرهای بزرگ (بلاستومایسس)، اسفروول‌ها و اسپورانژیا (ساختمان کیسه‌مانند محتوی اسپورانژیواسپور) می‌تواند با استفاده از این روش (KOH) شناسایی شوند. آزمایش مستقیم میکروسکوپی نمونه‌ها با KOH، برای تصمیم‌گیری در زمینه‌ی درمان، تعیین این که ارگانیزم رشد کرده در محیط کشت، یک آلوده کننده یا یک پاتوژن است و کمک به آزمایشگاه در انتخاب مناسب‌ترین شرایط انجام کشت و بازیافت ارگانیزم‌های رؤیت شده در اسمیر مستقیم، بسیار کمک کننده است (۱).

اگر چه این روش سریع، ساده و ارزان است، اما دارای حساسیت مطلوب نیست؛ به ویژه هنگامی که میزان هایفی در نمونه‌ها کم باشد. حساسیت این روش در محدوده‌ی ۹۲-۳۲ درصد گزارش شده است (۹-۲). نمونه‌های مورد بررسی با پتاس شامل تمام اشکال بالینی مانند نمونه‌های مو، ناخن، تراشه‌های پوست، مایعات (ادرار، مایع نخاع، پلور،

اشکال مشابه عناصر قارچی

۱- موزاییک فونگوس (Mosaic fungus)

هنگامی که پوسته‌های ناشی از کچلی‌ها به ویژه پا (بین انگشتان و کف پا) و یا دست با استفاده از محلول هیدروکسید پتاسیم (پتاس) شفاف گردند، اشکالی کاذب، شبیه میسلیوم‌های قارچی دیده می‌شود. این اشکال رشته مانند منشعب، مجزا و نامنظم که از الگوی دیواره‌های سلولی اپی‌تلیال‌ها پیروی می‌کنند، اولین بار توسط Weidman در سال ۱۹۲۷ توصیف و به نام موزاییک فونگوس نام‌گذاری شدند. وی پیشنهاد کرد که اگر این اشکال قارچ باشند، در یک وضعیت دژنره شده‌اند. دیگر محققین آن‌ها را به عنوان قارچ‌های بیماری‌زا در نظر گرفتند که توسط واکنش‌های ایمنی بدن به شکل ناقص تخریب شده‌اند. برخی دیگر آن‌ها را به عنوان ترکیب هوا و پتاس در بین سلول‌ها و یا به عنوان تجمع بقایای ساختمانی بین سلولی در نظر گرفتند (۱۴).

یافته‌های Getz و همکاران، موزاییک فونگوس را به عنوان محصولی از اکسیداسیون چربی‌ها در اپیدرمیس معرفی کردند و آن را مرتبط با عفونت‌های درماتوفیتوزیس نمی‌دانستند. موزاییک فونگوس، در آزمایش‌های معمول تراشه‌های پوست به ویژه قسمت قدامی پاشنه‌ی پا، برای یافتن قارچ‌های پاتوژن سطحی، به کرات یافت می‌شود. این عناصر ممکن است به تنهایی، یا همراه با میسلیوم‌های منظم، آرترواسپورها یا با هردو، دیده شوند. اشکال ذکر شده در محلول پتاس ۱۰ درصد گرم شده، بلافاصله بعد از مونته کردن، از بین می‌روند. در نمونه‌های گرم نشده، تغییرات ساختمانی موزاییک مشاهده نمی‌شود؛ در حالی که میسلیوم‌های منظم، در نمونه‌های گرم شده

یا نشده تغییر نمی‌یابند (۱۵).

بهترین نمونه‌ها، با پتاس سرد حاصل می‌شوند؛ اما بعد از حرارت دادن، ساختارهای کریستالی به وجود می‌آیند. اگر پوسته‌های خشک، برای حل کردن کلسترول، در گزیلول خیسانده شوند، سپس اجازه دهیم تا گزیلول تبخیر شود، فضاهایی که از قبل با کریستال‌ها پر شده‌اند، با هوا پر می‌شوند. بنابراین، در فضای بین سلول‌های پوششی خشک، قالب (جای خالی) کریستال‌ها دیده می‌شود. اشکال موزاییک شامل کریستال‌های کلسترولی لوزی شکل پهن و گاهی اوقات با یک زوایه‌ی فرو رفته می‌باشند. این اشکال در آب نامحلولند، به آرامی در تماس طولانی با پتاس غلیظ ناپدید می‌شوند؛ اما در گزیلول و دیگر حلال‌های چربی محلولند. چربی‌ها در حلال‌های آلی مثل استون، الکل (اتانول ۹۵ درصد)، کلروفرم و بنزن محلولند. در مجموع، موزاییک فونگوس، شبکه‌ای متشکل از رسوب کریستال‌های کلسترول هستند و با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ دارای مشخصات افتراقی زیر، با هایف‌های واقعی قارچی به ویژه درماتوفیت‌ها می‌باشد:

۱. قرار گرفتن در فضای بین سلول‌های اپی‌تلیال و نه در داخل سلول‌ها (هایف واقعی قارچ‌ها، دیواره‌ی سلول‌ها را قطع می‌کند).

۲. تغییرات ناگهانی و شدید در قطر رشته‌ها

۳. زوایای مقعر و فرو رفته در عرض

۴. باریک شدن و نامعین بودن انتهاها

هایف‌های حقیقی، فاقد تغییرات ناگهانی در قطر و زوایای مقعر در عرض هستند و در طول خود دارای پهنای یکنواخت می‌باشند.

۵. شفاف، فاقد ارگانل‌های داخلی و دیواره‌های

عرضی هستند. هایف واقعی درماتوفیت‌ها، دارای

بی‌تجربگی فرد نمونه‌گیر، منجر به خونریزی سطحی در این نواحی می‌شود و در لام تهیه شده، گلبول‌های قرمز از نظر اندازه، شکل و انعکاس دیواره، شبیه سلول‌های مخمری دیده می‌شوند. در این موارد، وجود جوانه‌ها (Budding cells) گاهی سودوهایف و به ندرت ژرم تیوب (لوله‌ی زایا) در اشکال مخمری و نیز استفاده از رنگ‌آمیزی گرم (مخمرها، گرم مثبت) و رنگ‌های هماتولوژی مانند گیمسا و رایت کمک کننده می‌باشند (۱۷).

در بررسی میکروسکوپی ته‌نشین (رسوب) ادرار نیز، سلول‌های مخمری صاف، بی‌رنگ و اغلب بیضی شکل با دیواره‌ی انعکاسی دوگانه و اغلب جوانه‌ار بوده‌اند. ممکن است با اریتروسیت‌ها که به شکل دیسک‌های مقعرالطرفین، با مورفولوژی متنوع دارای برآمدگی‌ها یا تکه‌های سلولی (Dismorphic)، با اندازه‌های متنوع (به طور معمول ۷ میکرون)، اشتباه شوند؛ اما سلول‌های مخمری، بر خلاف اریتروسیت‌ها، در اسید و قلیا غیر محلولند و با ائوزین رنگ نمی‌گیرند. نوارهای ادراری (Dipstick/reagent strip) نیز در تأیید حضور اریتروسیت‌ها در ادرار کمک کننده هستند (۱۸-۱۷).

در این موارد نیز حضور جوانه‌ها در سلول‌های مخمری و گاهی سودوهایف در گونه‌های کاندیدا، در تشخیص افتراقی کمک کننده خواهد بود. به علاوه، می‌توان دو نمونه از رسوب ادرار، تهیه کرد. با افزودن چند قطره از محلول اسیدی شمارش گلبول سفید (اسید استیک ۲ درصد یا اسید هیدروکلریک ۱ درصد) به رسوب ادرار یکی از نمونه‌ها، بعد از ۳-۵ دقیقه، اریتروسیت‌ها را لیز کرد و سلول‌های مخمری باقی‌مانده را مشاهده نمود. گاهی اوقات، افتراق بین

ارگانل‌ها، هسته‌ها، قطرات چربی و دیواره‌های عرضی می‌باشند. از آن جایی که موزاییک فونگوس، در اصل از کریستال‌های کلسترول تشکیل شده‌اند، پیشنهاد می‌گردد این ساختار با نام جدید کلسترول موزاییک نام‌گذاری شوند (۱۶، ۱۴).

۲- قطرات روغن و چربی‌ها

اگر قطرات روغن به علت استفاده از کرم‌ها و نرم کننده‌ها حضور داشته باشند، تفسیر نمونه‌ی مرطوب مستقیم، به ویژه به علت شباهت گلبول‌های روغن و وزیکول‌های چربی با سلول‌های مخمری و کونیدی‌ها مشکل است. در این موارد، رنگ‌آمیزی گرم می‌تواند کمک کننده باشد. عناصر قارچی، به ویژه اشکال مخمری، گرم مثبت هستند (کامل یا نسبی) و هایفی کپک‌ها، به رنگ‌های گرم مثبت، متغیر یا منفی، رنگ می‌گیرند. قطرات روغن با رنگ پیش‌گفته، رنگ نمی‌پذیرند. قطرات روغن حاصل از نرم کننده‌های کاترها و یا مواد چربی کرم‌های واژینال (کرم‌های واژینال با پایه‌ی پارافین در درمان عفونت کاندیدیایی)، در نمونه‌های ادراری، در مقایسه با مخمرها، تغییرات بیشتری در اندازه دارند و به شدت رفراکتیل (ادراری انعکاس) می‌باشند (۱۷).

در هنگام نمونه‌برداری از موها، گلبول‌های چربی آزاد شده از غدد چربی کناری فولیکول‌ها، با قرار گرفتن بر روی ساقه‌ی موهای سالم، تصویری شبیه کونیدی‌ها، ایجاد می‌نماید. این پدیده می‌تواند منجر به گزارش کاذب عفونت‌های اکتوتریکس و یا اندوتریکس در موهای سالم گردد.

۳- گلبول‌های قرمز (اریتروسیت‌ها)

گاهی در تهیه‌ی نمونه‌های پوست و ناخن و تراشه‌های پوستی از گوش، تیز بودن اسکالپل و

شفاف و بی‌رنگ نیز این آرتیفکت‌ها را ایجاد می‌نماید. الیاف ذکر شده به صورت رشته‌های پهن، دراز یا کوتاه با حاشیه‌ی تیره دیده می‌شوند (۲۲). در مجموع، الیاف کتان نخ‌های بخیه یا البسه، عریض و نواری شکل، فاقد دیواره‌های سلولی و ارگانل‌های داخل سیتوپلاسمی (توخالی) و دارای تاخوردگی‌های زیاد می‌باشند. خصوصیات بیان شده برای افتراق از هایفی قارچ‌ها کفایت می‌کند.

۵- باکتری‌ها

در سطح محیط‌های کشت باکتریولوژی از جمله بلاد آگار (Blood agar) کلنی اغلب مخمرها، مورفولوژی ماکروسکوپی همانند استافیلوکوک‌ها به ویژه استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی را نشان می‌دهند (سفید، گرم، خمیر مانند، برآمده و کدر). مخمرها، همانند استافیلوکوک‌ها، دارای آنزیم کاتالاز می‌باشند. بنابراین عدم تهیه‌ی رنگ گرم یا نمونه‌ی مرطوب از جانب میکروبیولوژیست بی‌احتیاط، منجر به گزارش اشتباه کلنی مخمری به عنوان کلنی باکتریایی می‌گردد (۲۴-۲۳، ۱۷).

در اسمیرهای تهیه شده از کلنی‌های پیش‌گفته و نیز نمونه‌های بالینی و با روش رنگ‌آمیزی گرم، تصویر میکروسکوپی سلول‌های مخمری، گرم مثبت (آبی-سیاه تیره یا بنفش، ارغوانی تا سیاه) و شبیه کوکسی‌های گرم مثبت (به ویژه استافیلوکوک‌ها)، دارای آرایش خوشه انگوری یا کندویی می‌باشند (۲۳). همچنین مخمرها در رنگ‌آمیزی گرم، شبیه گونه‌های میکروکوکاسه نیز می‌باشند. این گونه‌ها کوکسی‌هایی گرم مثبت، کاتالاز مثبت و کواگولاز منفی هستند و در محیط و به صورت فلور طبیعی در روی پوست، مخاط و اوروفارنکس یافت می‌شوند.

سلول‌های مخمری کریپتوکوکوس نئوفورمنس از لکوسیت‌ها در لام تهیه شده از مرکب چین، مشکل است (۱۹).

در این موارد، مخمرهای کریپتوکوکال می‌توانند به وسیله‌ی حضور دیواره‌ی سلولی شفاف با انکسار نوری و نیز مشخصه‌ی جوانه‌ها از لئوسیت‌ها و آرتیفکت‌ها افتراق داده شوند. به علاوه، هاله‌ی اطراف لئوسیت‌ها که قابل اشتباه با کپسول مخمر ذکر شده می‌باشد، به طور مرتب کاهش می‌یابد و در مدت زمان ۱۰-۵ دقیقه محو می‌گردد (۲۰).

۴- الیاف

در تهیه‌ی اسلایدها، از سواب‌های پنبه‌ای (Cotton swab) به علت شباهت به هایف‌ها، نباید استفاده نمود. الیاف سواب‌های مورد استفاده در هنگام جمع‌آوری و انتقال نمونه‌های بالینی، به ویژه در ضایعات دهانی، واژینال و گوش، در آزمایش مستقیم، با عناصر هایفال قارچی، قابل اشتباه می‌باشند (۱۷).

نخ‌های بخیه (Suture thread/Suture material) از مواد مختلفی مانند رشته‌های کلاژن طبیعی از روده‌ی گاو (مونوفیلانمنت)، رشته‌های کرومیک مونوفیلانمنت، پلی‌استر و پلی‌دی‌اکسانون (Polydioxanone) مونوفیلانمنت تشکیل شده‌اند. نخ‌های بخیه به ویژه آن‌هایی که از فیبرهای گیاهی (Plant fiber) ساخته می‌شوند، از جمله نخ‌هایی که از جنس رشته‌های کتان می‌باشند، شباهت‌های زیادی به رشته‌های هایفی دارند.

این رشته‌های کتانی پهن (Flat) و در حالت تاخوردگی شبیه نوار (Ribbon like) هستند و قابلیت پولاریزه شدن دارند (۲۱). رشته‌های کتان متعلق به البسه‌ی بیمار در هنگام نمونه‌گیری، به ویژه الیاف

میکروکوکاسه از استافیلوکوک‌ها بزرگ‌ترند و اغلب به فرم چهارتایی (تتراد) می‌باشند (۲۲).

احتمال می‌رود این شباهت‌ها علت میزان بیشتر «ان-استیل گلوکز آمین» در پپتید و گلیکان دیواره‌ی سلولی باکتری‌های گرم مثبت (تا حدود ۴۰ لایه) باشد که مانع نفوذ محلول بی‌رنگ کننده (الکل-استون) به داخل باکتری و عدم حل شدن مولکول ویوله و ید می‌شود و در نتیجه، رنگ سافرانین (صورتی) وارد باکتری نمی‌شود و باکتری‌ها همان رنگ اول یعنی کریستال ویوله‌ی بنفش (گرم مثبت) را به خود می‌گیرند (۲۷-۲۵). ترکیب اصلی دیواره‌ی سلولی اغلب قارچ‌ها، پلی ساکارید کیتین است که آن نیز پلیمر خطی «ان-استیل گلوکز آمین» با پیوندهای وسیع هیدروژنی است (۲۸). نکته‌ی قابل توجه آن که قارچ‌ها، برخلاف باکتری‌ها فاقد پپتید و گلیکان دیواره‌ی سلولی می‌باشند. مخمرها، ۲-۳ برابر کوکسی‌های گرم مثبت هستند و به طور معمول، اگر عامل یک عفونت باشند، دارای جوانه و سودوهایف (میسلیوم کاذب) هستند. رنگ گرم برای یافتن قارچ‌ها مناسب نیست. برخلاف این که اغلب قارچ‌ها با این رنگ قابل تشخیص هستند، برخی مانند گونه‌های کریپتوکوکوس به شکل ضعیفی رنگ می‌گیرند. به علاوه، قطعات هایفی ممکن است رنگ نگرفته باشند و دیدن آن‌ها مشکل باشد (۱۹). هایفی قارچ‌ها، ۲-۳ برابر پهن‌تر از باسیل‌های گرم مثبت است، اغلب به خوبی داخل آن‌ها رنگ نگرفته (احتباس ناجور رنگ کریستال ویوله) و این امر، موجب ظاهر گرانولی در آن‌ها می‌گردد. به علاوه از نظر ماکروسکوپی، سودوهایفی مخمرها به صورت بیرون آمدگی یا زائیده‌های رشته‌ای پر مانند

(Feathery filamentous) در اطراف کلنی، به ویژه کلنی‌های کهنه، دیده شده است که در اصطلاح به عنوان «پاها» (Feet) شناخته می‌شوند (۲۹، ۲۳، ۱۷). در تهیه‌ی لام با مرکب هندی، که برای مشاهده‌ی کپسول، به ویژه برای مخمر کریپتوکوکوس نئوفورمنس در رسوب مایع مغزی-نخاعی به کار می‌رود، باکتری‌های واجد کپسول مانند کلبسیلا پنومونیه، ممکن است با مخمرها اشتباه گرفته شوند. اما باکتری‌ها یک چهارم اندازه‌ی مخمرها را دارند و جوانه‌ای نیز ندارند (۳۰-۲۹).

۶- انگل‌ها

میکروسپوریدیا (Microsporidia)، از گروه پروتوزوا، انگل‌های داخل سلولی اجباری (انتروسیت‌های روده)، با تصویر منحصر به فرد تولید اسپورهایی واجد یک مجموعه‌ی بیرون زده‌ی لوله‌ای شکل (Tubular extrusion) یا لوله‌ی قطبی (Polar tube) با دیواره‌ی سلولی کیتینی و با بیش از ۷۰۰ گونه می‌باشند. از روش‌های یافتن اسپوره‌ی آن‌ها در مدفوع و اثبات میکروسپوریدیوزیس، استفاده از میکروسکوپ نوری و رنگ‌های اصلاح شده‌ی تری کروم (Weber-Green, Ryan-Blue) است که به عنوان آزمون اختصاصی مورد قبول می‌باشند. اسپوره‌ی میکروسپوریدیا، در نمونه‌ی مدفوع تهیه شده با رنگ Weber دارای مشخصات زیر می‌باشند:

۱. اندازه‌ی $1/5-2/5 \times 2/5-4/0 \mu m$

۲. شکل بیضی تا لوله‌ای (میله‌ای)

۳. رنگ صورتی - قرمز / نارنجی تا صورتی - زرد

۴. دیواره‌ی عرضی متقاطع صورتی رنگ نازک.

وسط سلول اسپور برخی سلول‌های مخمری موجود در مدفوع نیز به رنگ صورتی و قرمز کم رنگ دیده

می‌شود و با اسپورهای پیش‌گفته قابل اشتباه است. کوچک بودن اندازه‌ی اسپور میکروسپوری‌دیا ($4-1 \mu\text{m}$ ، رؤیت با لنز $100\times$) و مختصات قبلی بیان شده برای مخمرها (داشتن جوانه و گاهی سودوهایف)، در این افتراق کمک‌کننده می‌باشند (۳۰).

احتمال می‌رود اسپورهای میکروسپوری‌دیا، با اشکال مخمیری استوانه‌ای و کشیده از جمله مخمرهای شیزوساکارومایسس (Schizosaccharomyces) به علت اندازه‌ی به نسبت کوچک این مخمرها ($17-7 \mu\text{m} \times 3-2$)، داشتن دیواره‌ی عرضی و تبدیل سلول به دو بخش و نیز فقدان جوانه، قابل اشتباه باشند (۳۱، ۲۴، ۱۱).

به علت وجود کیتین در دیواره‌ی اسپور میکروسپوری‌دیا، با به کار بردن رنگ‌های دارای قدرت اتصال به پلی‌ساکارید کیتین از جمله 2MR Calcoflour white، با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت در طول موج‌های $395-415$ نانومتر، اسپورها دارای هاله‌ی بیضی، آبی-سفید یا فیروزه‌ای (Bluish-white, Turquoise) می‌باشند. این روش برای غربالگری سریع و حساس اسپورها در نمونه‌ی مدفوع و دیگر نمونه‌های بالینی به کار می‌رود. از طرفی، به علت حضور غنی کیتین در دیواره‌ی سلولی قارچ‌ها، اشکال مختلف قارچی موجود در مدفوع، به ویژه سلول‌های مخمیری، هایفی و سودوهایفی نیز ایجاد فلورسنت‌های سبز سیبی درخشان (Brilliant apple green)، سبز-زرد درخشان (Brilliant yellow-green) و آبی-سفید (Ghostly blue-white) می‌نمایند. بسیاری از آزمایشگاه‌ها، برای نمونه‌های بالینی، از رنگ‌های اصلاح شده‌ی تری کروم و نیز روش کالکوفلوروایت

استفاده می‌کنند. حساسیت هر دو روش به نسبت خوب است. علاوه بر شناسایی اسپورهای میکروسپوری‌دیا در مقاطع بافتی (در داخل انتروسیت‌های روده) با رنگ‌های PAS (Periodic acid-schiff)، (Hematoxylin & Eosin) H&E، GMS (Gomori methenamin silver)، اسید فاست و گیمسا، میکروسکوپ الکترونی هم به عنوان استاندارد طلایی (Gold standard) در تشخیص آزمایشگاهی به کار می‌رود.

شناسایی اسپورها با یک لوله‌ی قطبی، مشخصه‌ی تمام جنس‌های میکروسپوری‌دیا می‌باشد (۳۲). به طور معمول، سلول‌های مخمیری و دیگر عناصر قارچی موجود در مدفوع، بر حسب اندازه و شکل می‌توانند با تخم انواع کرم‌ها و کیست پروتوزوا (به ویژه اندوکیماکس نانا)، اشتباه شوند. در نمونه‌های مرطوب تغلیظ یافته و رنگ شده با یدین (ید)، به علت شباهت سلول‌های مخمیری با کیست ژیا‌ردیا، امکان تشخیص اشتباه وجود دارد (۳۳، ۳۰، ۱۷).

کونیدی قارچ‌ها و اسپور قارچ‌های خوراکی مورل (Morel mushroom)، قابل اشتباه با تخم کرم‌ها به ویژه تخم کرم‌های قلاب‌دار می‌باشند. در نمونه‌های مرطوب تغلیظ یافته، اسپورهای قارچی به ویژه انواع آسکواسپور در آسکومیست‌ها جنس‌های چاتومیوم (Chaetomium)، آچاتومیوم (Achaetomium)، آرنیوم (Arnium) و لازیودیپلودیا (Lasiodiplodia) به علت شباهت‌های مورفولوژیکی و اولیه با کیست پروتوزوآهایی مانند ژیا‌ردیا، کیلوماستیس و انواع انتامبا قابل اشتباه می‌باشند. مشخصات کلیدی کیست‌های ژیا‌ردیا (اندازه، داشتن ۴ هسته، فلاژل‌های طولی، سیتوپلاسم با خاصیت انکسار در محل

سرم، سلول‌های پاراکراتوتیک و غیره می‌باشند (۳۵-۳۸). با به کار بردن طیفی از رنگ‌های اختصاصی قارچ‌ها مانند PAS, GMS و به ویژه ترکیب رنگ‌های GMS (بهترین رنگ اختصاصی قارچ‌ها در بافت) و H&E، می‌توان علاوه بر شناسایی این آرتیفکت‌ها، همزمان عناصر قارچی و پاسخ بافتی به تهاجم آن‌ها را مشاهده نمود.

اجسام کلسیفیه، که ظاهر آن‌ها شبیه سلول‌های مخمری است، به وسیله‌ی اسید کرومیک به کار رفته در رنگ GMS حل می‌شوند و رنگ نمی‌شوند (۳۹-۴۲).

عروق خونی به ویژه عروق منشعب، با اندازه‌های همسان، تهی و توخالی و نیز الیاف کتان، تصویر هایفی زایگومايست‌ها را که دارای هایف‌های نوار مانند با انشعابات نامنظم، بدون دیواره‌ی عرضی و با دیواره‌های نازک، اغلب توخالی (خالی از سیتوپلاسم) و گاهی پیچ خورده و فشرده می‌باشند، تقلید می‌نمایند. با به کار بردن رنگ H&E، هایفی زایگومايست‌ها بازوفیلیک و به آسانی شناسایی می‌شوند.

رنگ مفید دیگر، کرسیل فست ویوله (Cresyl fast violet) است. هایف‌های زایگومايست، با این روش به رنگ قرمز آجری در می‌آید. شکل مخمری قارچ دو شکلی هیستوپلاسم کپسولاتوم، ممکن است با لیشمانیا دونوانی و توکسوپلاسم (Toxoplasma gondii) اشتباه شود، اما هر دو مورد با رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی قارچ‌ها رنگ نمی‌گیرند (۴۳، ۱۲).

به علاوه، توکسوپلاسم (اشکال تاکی‌زوئیت) با اندازه‌ی تقریبی $3 \times 6 \mu\text{m}$ شکل کمان مانند (Bow-shaped / Pyriform) و هسته‌ی مرکزی تیره رنگ، از هیستوپلاسم با قطر $2-4 \mu\text{m}$ بزرگ‌تر است.

دیواره‌ی عرضی، کیلوماستیکس (اندازه، شکل لیمویی با زایده‌ی پستانی)، اندولیماکس نانا (اندازه و داشتن ۴ هسته)، برای تمیز دادن از عناصر قارچی کاربرد می‌خواهند بود.

همچنین آسکواسپورهای نئوکاسموسپورا وازاینفکتا (*Neocosmospora vasinfecta*) به طرز عجاب‌آوری از نظر شکل (دندان‌دار بودن، برجستگی‌های پستانی شکل و ضخیم بودن دیواره‌ی خارجی) و رنگ (قهوه‌ای بودن) با تخم آسکاریس شباهت دارند و تشخیص را مشکل می‌سازند. کوچک‌تر بودن اندازه‌ی آسکواسپور قارچ ذکر شده (حدود ۱/۴ تخم آسکاریس)، شاخص مناسبی برای افتراق می‌باشد.

اسپور قارچ‌های خوراکی، در مدفوع گیاهخواران بسیار شایع است. اگر چه اندازه و شکل آن‌ها مشخص است، اما محتویات آن‌ها یکنواخت و غیر قابل شناسایی می‌باشد. در این موارد، بقایای هایفی متصل به یک انتهای هر اسپور، وجود دارد و اگر هایفی به طور کامل بشکند و جدا شود، یک تورفتگی خمیده در محل اتصال آشکار می‌شود. ظاهر این اشکال، شاید شبیه تخم کرم تریکوریس تریکیورا (*Trichuris trichiura*) باشد (۳۴، ۱۷).

آرتیفکت‌ها در هیستوپاتولوژی قارچ‌ها

مقاطع بافتی شامل اجزای مختلفی است که پس از رنگ‌آمیزی به قارچ‌ها شباهت پیدا می‌کنند. این اشکال شامل اجسام راسل (*Russel bodies*)، خرده‌ها و بقایای گسیخته شده‌ی هسته‌ی سلول، اجسام نشاسته‌ای، اجسام گچی (کلسیفیه)، رتیکولین و الیاف کش‌دار و ارتجاعی، عروق خونی کوچک، بقایای

مقاطع بافتی رنگ شده با H&E، با کوکسیدیوتیدس و گونه‌های پروتوتکا اشتباه شوند (۴۵). در نمونه‌های پاتولوژی و سیتوپاتولوژی، آرایش تصادفی، فقدان ساختارهای داخلی، فقدان جوانه یا سودوهایف، عدم وجود انشعابات و دیواره‌های عرضی، فقدان واکنش التهابی بافت و قابلیت پولاریزه از کلیدهای افتراقی اشکال قارچی با دیگر ساختارها و آرتیفکت‌ها می‌باشند (۴۶-۵۰).

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر در راستای شناسایی و آشکار نمودن اهمیت بخشی پنهان در آزمایشگاه قارچ‌شناسی پزشکی، تحت عنوان «آرتیفکت‌های قارچی» ارائه شد. عدم آموزش کافی و متمرکز در این زمینه در واحدهای آموزشی دانشگاهی و عدم تجربه‌ی کافی دانش‌آموختگان رشته‌های مربوط به هنگام ورود به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی، موجب تشخیص‌های نادرست عفونت‌های قارچی و به دنبال آن تجویز داروهای ناکارآمد، گران قیمت و پر عوارض توسط پزشک می‌شود. از این رو، آموزش جامع و مطالعه‌ی عمیق این گونه مباحث و نیز برگزاری کارگاه‌های آموزشی برای دانشجویان به ویژه دانشجویان رشته‌ی علوم آزمایشگاهی پیشنهاد می‌گردد.

اشکال آماستیگوت لیشمانیا، ارگانسیم‌هایی بیضی، بسیار کوچک ($2-4 \mu\text{m}$) و مخمر مانند، درون سیتوپلاسم هیستوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌باشند که این تصویر افتراق آن‌ها را از سلول‌های مخمری درون ماکروفاژهای با قطر $2-4 \mu\text{m}$ ، هیستوپلاسم کپسولاتوم مشکل می‌سازد. وجود یک کیتوپلاست میله‌ای شکل کوچک متصل به هسته در اشکال آماستیگوت، کلید افتراقی آن‌ها است. اگر چه با رنگ GMS اشکال مخمری هیستوپلاسم کپسولاتوم، به صورت خوشه‌های مخمری سیاه رنگ، احاطه شده با یک فضای روشن با ظاهر کپسول مانند (کپسول کاذب یا Pseudoencapsulated) نمایان می‌شوند (۱). وجود کیتوپلاست‌ها که با H&E به طور مشخص رنگ می‌گیرند، علاوه بر افتراق هیستوپلاسموزیس از لیشمانیازیس و بیماری شاگاس (Chagas)، برای تشخیص پنوموسیستیس (*Pneumocystis jirovecii*) از لیشمانیا نیز کاربردی می‌باشند. یافتن دیواره‌ی عرضی (Tranverse septum) در پنی سیلیوم مارنفتی (*Penicillium marneffei*) عامل کلیدی افتراق از پروتوزوآهای داخل سلولی لیشمانیا و توکسوپلاسم گوندی است (۴۴).

گونه‌های کلورلا (*Chlorella spp*) که نوعی جلبک سبزند، ممکن است به علت تخریب کلروفیل آن‌ها در طی فرایندهای فیکساسیون و جایگزینی در

References

1. Brandt ME, Lockhart S, Warnock DW. Laboratory aspects of medical mycology. In: Kauffman CA, Pappas PG, Sobel JD, Dismukes WE, editors. Essentials of clinical mycology. 2nd ed. New York, NY: Springer; 2011. p. 6.
2. Yadav S, Saxena AK, Capoor MR, Ramesh V. Comparison of direct microscopic methods using potassium hydroxide, periodic acid Schiff, and calcofluor white with culture in the diagnosis of onychomycosis. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2013; 79(2): 242-3.
3. Weinberg JM, Koestenblatt EK, Tutrone WD, Tishler HR, Najarian L. Comparison of diagnostic methods in the evaluation of

- onychomycosis. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49(2): 193-7.
4. Panasiti V, Borroni RG, Devirgiliis V, Rossi M, Fabbriozio L, Masciangelo R, et al. Comparison of diagnostic methods in the diagnosis of dermatomycoses and onychomycoses. *Mycoses* 2006; 49(1): 26-9.
 5. Haghani I, Fathi M, Abedian S, Shokouhi T, Yazdani J. Comparison of diagnostic methods in the evaluation of onychomycosis. *Cell J Yakhteh* 2011; 12(Suppl 1): 29-30.
 6. Lawry MA, Haneke E, Strobeck K, Martin S, Zimmer B, Romano PS. Methods for diagnosing onychomycosis: a comparative study and review of the literature. *Arch Dermatol* 2000; 136(9): 1112-6.
 7. Baran R, Hay R, Haneke E, Tosti E. Onychomycosis: the current approach to diagnosis and therapy. 2nd ed. London, UK: Informa Healthcare; 2006. p. 23.
 8. Shenoy MM, Teerthanath S, Karnaker VK, Girisha BS, Krishna Prasad MS, Pinto J. Comparison of potassium hydroxide mount and mycological culture with histopathologic examination using periodic acid-Schiff staining of the nail clippings in the diagnosis of onychomycosis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2008; 74(3): 226-9.
 9. Kurade SM, Amladi SA, Miskeen AK. Skin scraping and a potassium hydroxide mount. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2006; 72(3): 238-41.
 10. Rippon JW. Medical mycology: the pathogenic Fungi and the pathogenic Actinomycetes. 3rd ed. Philadelphia, PA: Saunders; 1988. p. 10.
 11. Truscott W. Impact of microscopic foreign debris on post-surgical complications. *Surg Technol Int* 2004; 12: 34-46.
 12. Evans EG, Richardson MD. Medical mycology: a practical approach. Oxford, UK: Oxford University Press; 1989.
 13. Yazdanparast SA. Medical mycology: introduction to medical mycology superficial mycoses and saprophytic fungi. 1st ed. Tehran, Iran: Jahad Daneshgahi Publication; 2007. p. 65. [In Persian].
 14. Davidson AM, Gregory PH. The so-called mosaic fungus as an intercellular deposit of cholesterol crystals. *Can Med Assoc J* 1936; 34(3): 277-8.
 15. Getz K, Skillern SD, Ulrich JA. Studies on "mosaic fungus". *J Invest Dermatol* 1955; 25(1): 29-32.
 16. Sepahvand A, Soleiman NeJhad S, Kiani AA. Mosaic funguses are errors of usual and hidden in the laboratory medical mycology. In: Abstract book: the 2th Seminar on Medical Error Prevention. Khorramabad, Iran: Negarestan; 2007. p. 61. [In Persian].
 17. Pherson RA, Pincus MR. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. 22th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2011. p. 447-8, 464-73, 1163, 1173.
 18. Hashemi-Rad M. Urinalysis in nephrology. Tehran, Iran: Tehran University Publication; 1993. P. 238-40. [In Persian].
 19. Verweij PE, van der Lee HAL, Rijs AJMM. The role of conventional diagnostic tools. In: Maertens JA, Marr KA, editors. Diagnosis of fungal infections. 1st ed. London, UK: Informa Healthcare; 2007. p. 23.
 20. Viviani MA, Tortorano AM. Cryptococcus. In: Anaissie EJ, Mc Ginnis MR, Pfaller MA. Clinical Mycology. 2nd ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone Elsevier; 2009. p.240.
 21. Janoff K, Wayne R, Huntwork B, Kelley H, Alberty R. Foreign body reactions secondary to cellulose lint fibers. *Am J Surg* 1984; 147(5): 598-600.
 22. Qahri M, Mobasherizadeh S. A color atlas of clinical laboratory. 1st ed. Amol, Iran: Tankit; 2010. p. 12. [In Persian].
 23. Fisher F, Cook NB. Fundamentals of diagnostic mycology. Philadelphia, PA: Saunders; 1998. p. 200.
 24. Walker GM. Yeast physiology and biotechnology. New York, NY: John Wiley and Sons; 1998.
 25. Larsen HS, Mahon CR. Laboratory identification of significant isolates, staphylococci. In: Mahon CR, Manuselis G, editors. Text book of diagnostic microbiology. 2nd ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2000. p. 336-7.
 26. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Meitzner TA. Jawetz, Melnick, and Adelberg's medical microbiology. 26th ed. New York, NY: Mc Graw Hill; 2013. p. 23-4.
 27. Forbes BA, Sahn DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 12th ed. Philadelphia, PA: Mosby Elsevier; 2007. p. 256-7.
 28. Carlile MJ, Watkinson SC, Gooday GW. The fungi. 2nd ed. London, UK: Academic Press; 2001. p. 99-100.
 29. Kern ME, Blevins KS. Medical mycology a self- instructional text. 2nd ed. Philadelphia, PA: F.A. Davis Company; 1997.
 30. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams of Wilkins; 2006. p. 1201, 1299, 1309, 1311, 1272.

31. Barnett JA, Payne RW, Yarrow D. Yeasts: characteristics and identification. 3rd ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2000. p: 676-7.
32. Garcia LS. Laboratory identification of the microsporidia. *J Clin Microbiol* 2002; 40(6): 1892-901.
33. Gourguechon S, Holt LJ, Cande WZ. The Giardia cell cycle progresses independently of the anaphase-promoting complex. *J Cell Sci* 2013; 126(Pt 10): 2246-55.
34. de Hoog GS, Cuarro GJ, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi. 2nd ed. Washington, DC: ASM Press; 2001. P. 248, 257, 266-69, 277, 289, 325, 335, 438, 1013.
35. Pierard GE, Quatresouz P, Arrese JE. Spotlight on nail histomycology. *Dermatol Clin* 2006; 24(3): 371-4.
36. Stratton ChW, Laposata M. Clinical microbiology: quality in laboratory diagnosis. New York, NY: Demos Medical Publishing; 2011. p. 70-1.
37. Sobonya RE. Fungal diseases, including pneumocystis. In: Churg AM, Myers JL, Tazelaar HD, Wright JL, editors. Thurlbeck's pathology of lung. 3rd ed. New York, NY: Thieme; 2005. p. 305-8.
38. Sellon DC, Long MT. Equine infectious diseases. 2nd ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2014. p. 396-7.
39. Alkhayat H, AL-Sulaili N, O'Brien E, McCuaig C, Watters K. The pas stain for routine diagnosis of onychomycosis. *Bahrain Med Bull* 2009; 31(2): 1-8.
40. Weinberg JM, Koestenblatt EK, Jennings MB. Utility of histopathologic analysis in the evaluation of onychomycosis. *J Am Podiatr Med Assoc* 2005; 95(3): 258-63.
41. Wulff S. Staining methods: microorganisms. In: Wulff S, Hafer L, Cheles M, Couture R, Holliday JM, Smith S et al. Guide to special stains. Carpinteria, CA: Dako Cytomation; 2004. p. 64-9.
42. Chandler FW, Watts JC. Pathologic diagnosis of fungal infections. Chicago, IL: Amer Society of Clinical; 1987.
43. Hashemi SJ, Nasrollahi A, Bayat M. Illustrated histopathology of fungal disease and actinomycosis. 1st ed. Tonekabon, Iran: Tonekabon Islamic Azad University Publication; 2008. p. 56, 64. [In Persian].
44. Guarner J, Brandt ME. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24(2): 247-80.
45. Smith MB, McGinnis MR. Diagnostic histopathology. In: Hospenthal DR, Rinaldi MG, editors. Diagnosis and treatment of human mycoses. Totowa, NJ: Humana Press Inc; 2008. p. 44.
46. Powers CN. Diagnosis of infectious diseases: a cytopathologist's perspective. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11(2): 341-65.
47. Almarzooqi S, Leber A, Kahwash S. Artifacts and organism mimickers in pathology: case examples and review of literature. *Adv Anat Pathol* 2010; 17(4): 277-81.
48. Haensch R, Seeliger H. Problems of differential diagnosis of blastomyces and Russell bodies. *Arch Dermatol Res* 1981; 270(4): 381-5.
49. Patterson JW. An extracellular body of plasma cell origin in inflammatory infiltrates within the dermis. *Am J Dermatopathol* 1986; 8(2): 117-23.
50. Sangoi AR, Rogers WM, Longacre TA, Montoya JG, Baron EJ, Banaei N. Challenges and pitfalls of morphologic identification of fungal infections in histologic and cytologic specimens: a ten-year retrospective review at a single institution. *Am J Clin Pathol* 2009; 131(3): 364-75.

Artifacts Similar to Fungal Elements in Medical Mycology Laboratories

Asghar Sepahvand PhD¹, Rasoul Mohammadi PhD², Atefeh Mirderikvand³,
Soheila Soleiman-Nezhad⁴, Reza Rouzbahani MD, MPH⁵

Review Article

Abstract

This review article aimed to introduce the artifacts and precisely assessment of fungal elements in medical mycology laboratories that helps physicians for an appropriate therapy of fungal infections. Artifacts including mosaic fungus, oil drops, red and white blood cells, bacteria, and parasites are common causes of false positive reports. Accurate detection of these artifacts by laboratory personnel is a significant factor for decreasing false positive results that lead to a good management of fungal diseases. Studies like this can also helpful for epidemiology surveys that follow the prevalence of fungal infections.

Keywords: Artifacts, Histopatology, Direct test, Medical mycology

Citation: Sepahvand A, Mohammadi R, Mirderikvand A, Soleiman-Nezhad S, Rouzbahani R. **Artifacts Similar to Fungal Elements in Medical Mycology Laboratories.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(285): 690-701

1- Assistant Professor, Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

2- Assistant Professor, Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Medical Laboratory Technician, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

4- Medical Laboratory Technician, Shohadaye Ashayer Hospital, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

5- Assistant Professor, Department of Community Medicine, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Rasoul Mohammadi PhD, Email: dr.rasoul_mohammadi@yahoo.com

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

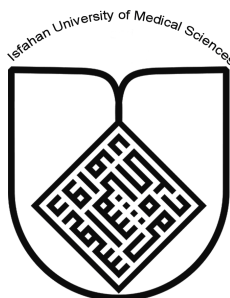
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

INSTRUCTION TO AUTHORS

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

Editorial Board (In alphabetical order)

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



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 285, 2nd week, July 2014

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:

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

Telefax: +98 311 7922291

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

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

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

Telefax: +98 311 6686302

E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexes

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

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

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