

مقاله های پژوهشی

- ۱۲۱۷ بررسی ضخامت آندومتر بوم در موش بعد از تحریک تخمک گذاری و کاربرد پروژسترون
 دکتر بهمن رشیدی، دکتر محمد مردانی، مصطفی پیوندی کاریزبداق
- ۱۲۲۷ بررسی تأثیر پیشگیرانه‌ی پاراستامول وریدی بر درد پس از عمل سزارین الکتنیو تحت بیهوشی اسپینال
 دکتر میترا جبل عاملی، لیلا گودرزی
- ۱۲۳۸ تأثیر کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری بر سلول های شبه کرومافین و مولد گاسترین در معده‌ی موش صحرائی
 محمدعلی رضایی، دکتر محمدجعفر رضایی، دکتر محمدرضا رحمانی
- ۱۲۵۰ القای مدل بیماری پارکینسون توسط روتنون در موش صحرائی
 آرمان رحیمی، دکتر فرتوش خسروبخش، دکتر اسماعیل ایزدپناه، دکتر کامبیز حسن زاده

مقاله مروری

- ۱۲۵۹ سنتز miRNA و مکانیسم های تنظیمی
 نعیم احتشام، مهدیه مودی، دکتر مجید خیراللهی

Original Articles

- Evaluation of the Endometrial Thickness in Mice after Ovarian Stimulation and Using Progesterone 1226
 Bahman Rashidi PhD, Mohammad Mardani PhD, Mostafa Peyvandi Kariz Bodagh
- Preventive Effects of Intravenous Paracetamol in Post-Partum Pain of Elective Cesarean Delivery with Spinal Anesthesia 1237
 Mitra Jabalameli MD, Leila Goudarzi
- The Effect of Helicobacter Pylori Colonization on Enterochromaffin-Like (ECL) Cell and Gastrin (G) Positive Cells in Rat Stomach 1249
 Mohammad Ali Rezaee MSc, Mohammad Jafar Rezaie PhD, Mohammad Reza Rahmani PhD
- Induction of Parkinson's Disease Model in Rat by Rotenone 1258
 Arman Rahimmi, Farnoosh Khosrobakhsh PhD, Esmael Izadpanah PhD, Kambiz Hassanzadeh PhD

Review Article

- miRNA, Biogenesis and Mechanisms of Regulations 1268
 Naeim Ehtesham, Mahdiyeh Modi, Majid Kheirollahi PhD



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۲۹۶)، هفته اول مهر ۱۳۹۳

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

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

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

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی
۱- دکتر مجتبی ابطحی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، متخصص علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر محمد اسماعیل اکبری	استاد، فوق تخصص جراحی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، متخصص داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، آمریکا
۵- دکتر افسون امامی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۶- شاهین امامی	گروه بیوشیمی و غدد داخلی، بیمارستان سن آنتونیو، فرانسه
۷- دکتر علیرضا امامی	دانشیار، متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص اطفال، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر کن باست	استاد، متخصص بیماری‌های پوستی، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۱۱- دکتر رضا باقریان سرارودی	استادیار، متخصص روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۲- دکتر مجید برکتین	دانشیار، متخصص روانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- فرزین پور فرزاد	گروه زیست‌شناسی 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 نوروایمونولوژی، 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 آسیب‌شناسی 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): Iner N. Treatment of calcific aortic stenosis. Am J Cardiol 1987; 59(6): 314-7.

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

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

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

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

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

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

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

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

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

- ۱۹- **ملاحظات اخلاقی:** این ملاحظات باید در بخش روش‌ها اشاره گردند. اخذ رضایت‌نامه از کلیه‌ی افراد بالغ شرکت‌کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأییدکننده‌ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.
- ۲۰- **تداخل منافع (Conflict of Interest):** نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق‌الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه‌ها، سازمان‌ها، نهادها، شرکت‌ها و سایر منابع که انتشار یافته‌های مطالعه می‌تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.
- ۲۱- **هزینه چاپ:** 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

- ۱۲۱۷..... بررسی ضخامت آندومترיום در موش بعد از تحریک تخمک‌گذاری و کاربرد پروژسترون.....
دکتر بهمن رشیدی، دکتر محمد مردانی، مصطفی پیوندی کاریزبداق
- ۱۲۲۷..... بررسی تأثیر پیشگیرانه‌ی پاراستامول وریدی بر درد پس از عمل سزارین الکتیو تحت بیهوشی اسپینال.....
دکتر میترا جبل عاملی، لیلا گودرزی
- ۱۲۳۸..... تأثیر کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری بر سلول‌های شبه کرومافین و مولد گاسترین در معده‌ی موش صحرائی.....
محمدعلی رضایی، دکتر محمدجعفر رضایی، دکتر محمدرضا رحمانی
- ۱۲۵۰..... القای مدل بیماری پارکینسون توسط روتنون در موش صحرائی.....
آرمان رحیمی، دکتر فرنوش خسروبخش، دکتر اسماعیل ایزدپناه، دکتر کامبیز حسن‌زاده

مقاله مروری

- ۱۲۵۹..... سنتز miRNA و مکانیسم‌های تنظیمی.....
نعیم احتشام، مهدیه مودی، دکتر مجید خیراللهی

بررسی ضخامت آندومترיום در موش بعد از تحریک تخمک‌گذاری و کاربرد پروژسترون

دکتر بهمن رشیدی^۱، دکتر محمد مردانی^۱، مصطفی پیوندی کاریزبداق^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: آندومترיום انسان، بافتی پویا است که در طی چرخه‌ی قاعدگی تحت تأثیر هورمون‌های تخمدانی قرار می‌گیرد. این لایه مسؤوّل اصلی لانه‌گزینی موفق جنین می‌باشد. عوامل اصلی زیادی در این موفقیت تأثیرگذار هستند. یکی از مهم‌ترین عوامل آن، ضخامت آندومترיום می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی ضخامت آندومترיום تحت تأثیر هورمون‌های تحریک‌کننده‌ی تخمک‌گذاری و پروژسترون بود.

روش‌ها: در این مطالعه، تعداد ۳۰ سر موش بالغ ماده از نژاد سوری بر اساس نمونه‌گیری تصادفی به سه گروه شاهد، گنادوتروپین و گنادوتروپین + پروژسترون تقسیم شدند. به هر دو گروه مورد، ابتدا HMG (Human menopausal gonadotropin) و سپس HCG (Human chorionic gonadotropin) به میزان ۷/۵ I.U. تزریق شد. جهت انجام فرایند جفت‌گیری، هر دو موش ماده با یک موش نر در داخل یک قفس نگهداری شدند. به گروه گنادوتروپین + پروژسترون، میزان ۱ mg/kg با فواصل ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق HMG، پروژسترون تزریق گردید. با گذشت ۹۶ ساعت بعد، موش‌ها با استفاده از روش جابه‌جایی مهره‌های گردنی قربانی شده و نمونه‌های رحمی جهت پاساژ بافتی تهیه شد و با استفاده از نرم‌افزار Motic image plus ۳/۲ ضخامت آندومتر اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بر اساس بررسی‌های انجام شده با میکروسکوپ نوری و استفاده از نرم‌افزار Motic image plus ۳/۲، ضخامت آندومترיום بر حسب μm در گروه شاهد $15/35 \pm 3/58$ ، در گروه گنادوتروپین $12/46 \pm 3/89$ و در گروه گنادوتروپین + پروژسترون $13/03 \pm 3/81$ بود. تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و گنادوتروپین و بین گروه شاهد و گروه گنادوتروپین + پروژسترون نیز مشاهده نشد. همچنین در مقایسه‌ی سه گروه با هم، ضخامت آندومتر در هر ۳ گروه با هم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: القای تخمدان و به دنبال آن استفاده از پروژسترون نتوانست تغییر قابل توجهی در ضخامت آندومترיום رحم موش‌های تحریک شده به وسیله‌ی هورمون‌های محرک تخمک‌گذاری ایجاد نماید.

واژگان کلیدی: لانه‌گزینی، ضخامت آندومتر، آندومتر، پروژسترون

ارجاع: رشیدی بهمن، مردانی محمد، پیوندی کاریزبداق مصطفی. بررسی ضخامت آندومترיום در موش بعد از تحریک تخمک‌گذاری و

کاربرد پروژسترون. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۶): ۱۲۲۶-۱۲۱۷

مقدمه

یکی از عوامل مهم که درمان‌های کمک باروری نظیر IVF (In vitro fertilization) و ICSI (Intra cytoplasmic sperm injection) را تحت تأثیر قرار می‌دهد و محدود می‌کند، شکست

لانه‌گزینی است (۱). یکی از عوامل تأثیرگذار مهم در فرآیند لانه‌گزینی، پذیرندگی آندومتر است (۲). طبق بررسی‌های انجام شده، مشخص شده است که شکست لانه‌گزینی هم از طرف رحم مادری و هم از طرف رویان رخ می‌دهد. طبق نتایج، پذیرندگی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

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

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

Email: b_rashidi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤوّل: دکتر بهمن رشیدی

تحت تأثیر سیکل تخمدانی، آندومتر نیز دستخوش تغییرات هورمونی ناشی از تخمدان می‌شود؛ به طوری که در طی فاز فولیکولار تخمدانی، فولیکول‌های در حال رشد باعث ترشح و افزایش استروژن می‌شود و تغییرات تکثیری در آندومتر تحت تأثیر این هورمون رخ می‌دهد. بعد از تخمک‌گذاری، جسم زرد که بقایای فولیکول تخمک رها شده است، باعث ترشح پروژسترون می‌شود و آندومتر را به سمت تغییرات ترشحاتی هدایت می‌کند (۱۲).

پروژسترون یکی از مهم‌ترین هورمون‌های درگیر در دستگاه تناسلی زنان می‌باشد. نقش اصلی پروژسترون، در رحم زنان است. این هورمون پس از رها شدن از جسم زرد باعث آمادگی آندومتر برای لانه‌گزینی بعد از تخمک‌گذاری و لقاح می‌شود. همچنین پروژسترون پس از رها شدن از جسم زرد باعث جلوگیری از انقباضات لایه میومتر رحم می‌شود (۳). استروژن و پروژسترون تخمدانی دو عامل اصلی برای تکثیر سلول‌های اپیتلیالی و تمایز سلول‌های آندومتریوم محسوب می‌شوند. این تغییرات برای ایجاد حاملگی در آندومتریوم ضروری است (۱۳-۱۴). در درمان‌های جایگزینی هورمون، استفاده از استروژن به همراه پروژسترون لازم است. از دیگر تأثیرات استفاده از پروژسترون، کاهش خطر سرطان پستان می‌باشد (۱۵-۱۶). همچنین در ارزیابی‌های کبدی، استفاده از پروژسترون با سطوح کم در زنان یائسه، هیچ‌گونه عوارضی را در افزایش میزان چربی خون نداشته است (۱۷).

برای انجام روش‌های IVF و ICSI، متخصصان از هورمون گنادوتروپین جفتی انسان (HCG) برای ایجاد

ناکافی رحم مسؤول دو سوم و رویان مسؤول یک سوم شکست لانه‌گزینی می‌باشد (۳-۴). در مطالعات، ضخامت آندومتر به عنوان یک شاخص غیر مستقیم دخیل در پذیرندگی آندومتر محسوب می‌شود (۲). ضخامت آندومتر در سال‌های اخیر مورد توجه زیاد محققین بوده و مطالعات زیادی در زمینه تأثیر ضخامت آندومتر بر میزان حاملگی (PRS یا Pregnancy related services) در بیماران تحت درمان روش‌های کمک باروری (ART یا Antiretroviral therapy) انجام شده است (۵-۷).

نتایج محققین در مورد ضخامت آندومتر بحث برانگیز بود؛ به طوری که اکثر محققین احتمال بالایی از میزان حاملگی را در آندومتر با ضخامت مناسب (آستانه‌ای) تأیید کردند (۸-۹). اگر چه برخی از محققین در مورد رابطه‌ی بین ضخامت آندومتر و میزان حاملگی در بیماران IVF و ICSI هنوز به نتایج دقیقی دست نیافته‌اند (۸، ۱۰) و بررسی‌های بیشتر در این زمینه لازم است. طبق یافته‌های به دست آمده، ضخامت آندومتر با نتایج حاصل از IVF در ارتباط است. در این بررسی، با افزایش ضخامت آندومتر در حدود ۱۰ mm، تأثیر مثبت در میزان حاملگی اثبات شده بود (۱۱).

سونوگرافی آندومتر روش غیر تهاجمی ارزشمندی برای ارزیابی پذیرندگی آندومتر در طول مدت درمان روش‌های کمک باروری است. این روش در حال حاضر، مطمئن‌ترین، بی‌خطرترین و ارزان‌ترین روش محسوب می‌شود. این روش برای اندازه‌گیری ضخامت آندومتریوم کاربرد اساسی و تعیین‌کننده دارد (۱۱).

گرددید. همچنین در این مطالعه، از پروژسترون با توجه به اثر آن در تکثیر آندومترיום و نقش این هورمون در مرحله‌ی ترشحي سیکل قاعدگی در یک گروه نیز استفاده گردید.

روش‌ها: در این مطالعه با مشخص کردن سه گروه، در گروه شاهد هیچ گونه مداخله‌ای انجام نشد. ابتدا برای تحریک تخمک‌گذاری، به موش‌ها در همه‌ی گروه‌های تجربی HMG به میزان ۷/۵ I.U به صورت داخل صفاقی (IP) تزریق شد و ۴۸ ساعت پس از آن، HCG به مقدار ۷/۵ I.U به همان روش تزریق گردید. سپس در همه‌ی گروه‌ها هر دو موش ماده با یک موش نر برای جفت‌گیری در یک قفس قرار داده شدند. به موش‌های گروه گونادوتروپین + پروژسترون به فواصل ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق HCG پروژسترون با دوز ۱ mg برای هر موش تزریق گردید. مدت ۹۶ ساعت پس از تزریق HCG، موش‌های گروه شاهد به صورت جا به جایی مهره‌های گردنی قربانی شدند و رحم آن‌ها با محیط کشت شستشو داده شد. فقط از رحم موش‌هایی که حاوی بلاستوسیست بودند، نمونه‌برداری انجام شد و نمونه‌ها پس از ثابت‌سازی با فرمالین ۱۰ درصد بافر شدند، مراحل پاساژ بافتی انجام گردید. نمونه‌ها توسط گزیلل مورد شفاف‌سازی قرار گرفتند. در نهایت، قالب‌گیری با پارافین برای نمونه‌ها انجام شد. با استفاده از میکروتوم دوار، برش‌گیری نمونه‌ها با ضخامت ۵ μm انجام گردید. مقاطع تهیه شده با استفاده از PAS (Periodic acid Schiff) رنگ‌آمیزی شدند و به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

مصنوعی LH-Surge (Luteinizing hormone-surge) استفاده می‌کنند که باعث تحریک رسیدن اووسیت می‌شود (۱۸).

از آن جایی که مقایسه‌ی ضخامت آندومتر در نمونه‌های انسانی زنان تحت تحریک تخمک‌گذاری و استفاده از این داروها به طور تقریبی غیر ممکن است، این مطالعه بر روی مدل‌های حیوانی انجام شد. طبق بررسی‌ها و مطالعات انجام شده، هیچ گونه مطالعه‌ای در این زمینه انجام نشده بود.

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر پروژسترون در افزایش ضخامت آندومترיום موش بود. از نکات جالب توجه در این مطالعه، بررسی ضخامت آندومتر در صورت ورود بلاستوسیست به داخل رحم بوده است.

روش‌ها

حیوانات: برای این مطالعه تعداد ۳۰ سر موش سوری ماده‌ی بالغ با میانگین وزنی بین ۲۵-۳۰ g و تعداد ۱۵ سر موش نر بالغ از همان نژاد انتخاب شدند. با استفاده از روش نمونه‌گیری تصادفی ساده، موش‌های ماده به سه گروه ده‌تایی تحت عنوان گروه شاهد، گروه گنادو تروپین، گروه گنادو تروپین + پروژسترون تقسیم شدند. تمام گروه‌ها در خانه‌ی حیوانات مرکز فیزیولوژی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و با شرایط یکسان در دوره‌های متوالی نوری ۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در تاریکی و دمای ۲۳ °C نگهداری شدند. از آب شهری و غذای آماده‌ی پارس برای تغذیه‌ی موش‌ها استفاده شد.

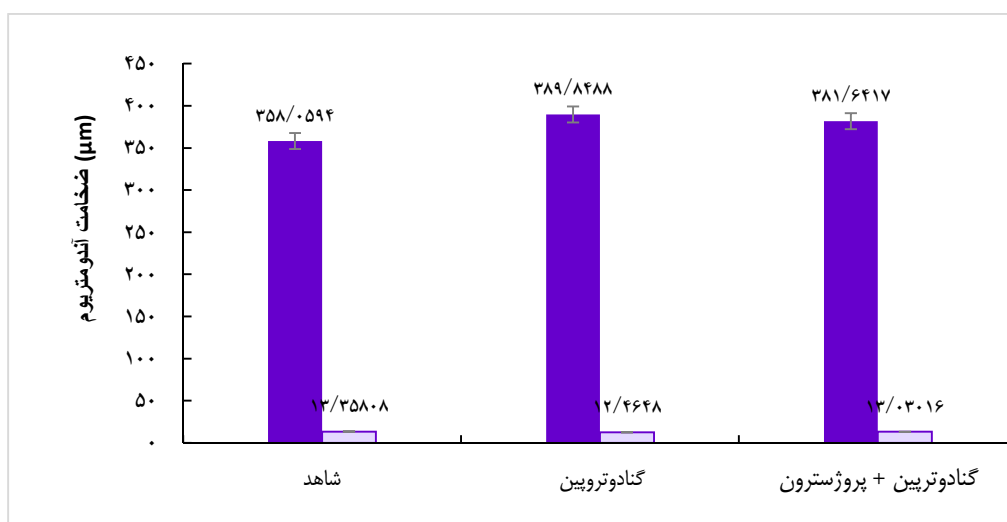
داروها: در این مطالعه جهت تحریک تخمک‌گذاری از داروهای HCG + HMG

آندومتریوم، در گروه شاهد $358/05 \pm 13/35 \mu\text{m}$ ، در گروه گنادوتروپین $389/84 \pm 12/46 \mu\text{m}$ و در گروه گنادوتروپین + پروژسترون $381/64 \pm 13/03 \mu\text{m}$ بود و از لحاظ آماری اختلاف معنی داری بین ۳ گروه مورد مطالعه مشاهده نگردید. همان طور که در شکل ۱ مشخص است، ضخامت آندومتریوم در سه گروه اختلاف معنی داری را نشان نداد. ضخامت آندومتریوم در دو گروه گنادوتروپین و گنادوتروپین + پروژسترون، در مقایسه با گروه شاهد نیز افزایش داشت، اما این میزان افزایش از لحاظ آماری معنی دار نبود. در شکل ۲ که مربوط به گروه شاهد است، اپیتلیوم رآسی به صورت استوانه‌ای بلند و حاوی گرانول‌های متعدد PAS مثبت است که این گرانول‌ها در تمام سطح اپیتلیوم پراکنده‌اند، اما در نواحی قاعده‌ای سلول بیشتر مشاهده می‌شود. ضخامت آندومتر در تمام نواحی از رآس اپیتلیوم تا غشای پایه‌ی آندومتریوم، یکسان مشاهده می‌شود.

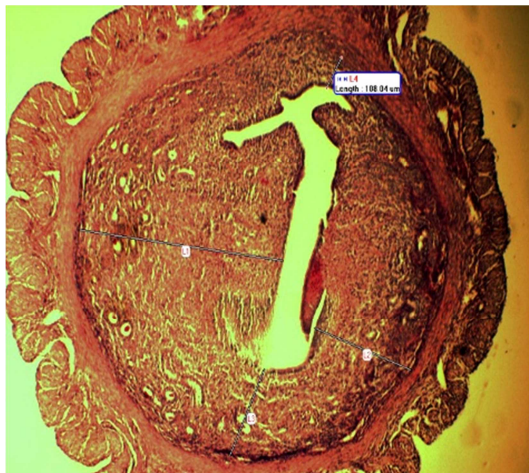
از نرم‌افزار $3/2$ Motic image plus جهت اندازه‌گیری ضخامت آندومتر استفاده شد. داده‌های جمع‌آوری شده، از طریق نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) و همچنین با استفاده از روش‌های آماری توصیفی (میانگین \pm انحراف معیار) و آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) یا (One-way analysis of variance) مورد بررسی و تحلیل آماری قرار گرفت. در مطالعه‌ی حاضر، $P < 0/050$ معنی دار تلقی گردید.

یافته‌ها

میانگین ضخامت آندومتریوم \pm انحراف استاندارد برآورد میانگین ضخامت آندومتریوم، از غشای پایه تا رآس اپیتلیوم محاسبه گردید و سپس با مقایسه سه گروه مورد مطالعه با یکدیگر، از لحاظ آماری اختلاف معنی داری مشاهده نشد. میانگین ضخامت آندومتریوم \pm انحراف استاندارد برآورد میانگین ضخامت



شکل ۱. مقایسه‌ی میانگین ضخامت آندومتریوم در سه گروه شاهد، گنادوتروپین و گنادوتروپین + پروژسترون که هیچ گونه ارتباط آماری معنی داری بین آن‌ها مشاهده نشد.



شکل ۴. ضخامت آندومتر در گروه گنادوتروپین + پروژسترون

در شکل ۳ که گروه گنادوتروپین و در شکل ۴ که گروه گنادوتروپین + پروژسترون را نشان می‌دهند، ضخامت آندومتریم افزایش نامحسوسی را به نسبت گروه شاهد نشان می‌دهد. شکل اپیتلیوم و میزان گرانول‌های PAS مثبت در گروه‌های دیگر مشابه با اپیتلیوم گروه شاهد بود. در تمامی گروه‌ها، هسته‌ها به صورت مرکزی و واکوئولیزه مشاهده شدند که نشان دهنده‌ی فاز لوتئال می‌باشد.

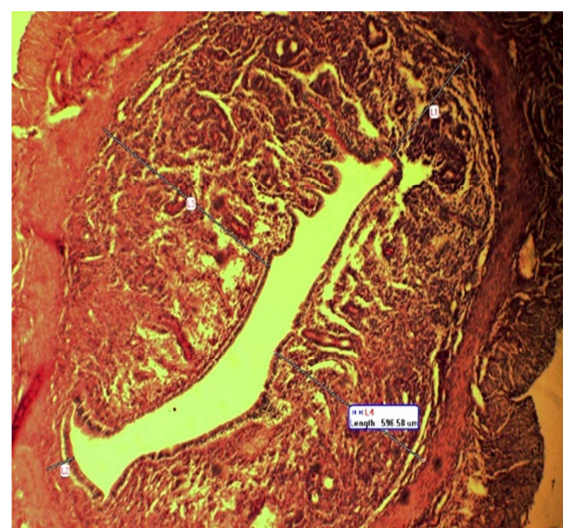
بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در گروه گنادوتروپین و گروه گنادوتروپین + پروژسترون، در مقایسه با گروه شاهد ضخامت آندومتریم افزایش یافته است، اما با مقایسه‌ی دو گروه گنادوتروپین و گنادوتروپین + پروژسترون با یکدیگر، تغییری در ضخامت آندومتریم ایجاد نشد. در مطالعات انجام شده، در شرایط استفاده از گنادوتروپین + پروژسترون از نظر مورفولوژی و مورفومتری اپیتلیوم غددی آندومتریم هیچ گونه تغییری در مقایسه با گروه شاهد نداشته است (۱۹). این موضوع به وضوح مشخص شده است که تغییرات در مرحله‌ی تکثیری و ترشحی در آندومتریم برای لانه‌گزینی موفق رویان در رحم ضروری می‌باشد و این تغییرات تحت تأثیر هورمون‌های تخمدانی و عوامل درگیر زیادی می‌باشد. پذیرش رحم، کیفیت جنین و میزان ضخامت آندومتریم از عواملی هستند که ممکن است بر روی لانه‌گزینی جنین تأثیر بگذارند.

یکی از معیارهایی که برای میزان پذیرش رحم به طور معمول استفاده می‌شود، ضخامت آندومتریم



شکل ۲. ضخامت آندومتر در گروه شاهد



شکل ۳. ضخامت آندومتر در گروه گنادوتروپین

است که به وسیله‌ی اولتراسوند در دوره‌ی Periovalary اندازه‌گیری می‌شود. بررسی‌ها نشان داده است که آندومتریوم نازک با ضخامت حدود ۶-۷ mm با شکست لانه‌گزینی ارتباط دارد و با وجود آندومتر نازک، حاملگی به ندرت رخ می‌دهد. ضخامت آندومتر می‌تواند به عنوان شاخص مناسبی از بازتاب تکثیر آندومتر باشد، که در موارد پاتولوژیک ایجاد شده در رحم از آن استفاده می‌شود. سونوگرافی ترانس واژینال ابزار مناسبی جهت اندازه‌گیری ضخامت آندومتریوم و افتراق بهتر بین آندومتریوم طبیعی و پاتولوژیک محسوب می‌شود (۲۰). از عوامل مهم در تغییرات ضخامت آندومتر، می‌توان به دیابت شیرین، هیپرتانسیون و اختلالات استروژن و پروژسترون اشاره نمود (۲۱). برای مثال در زنان با فشار خون بالا، ضخامت آندومتر افزایش می‌یابد (۲۲). موارد زیادی در مورد نقش دیابت و فشار خون به عنوان عوامل اصلی در افزایش ضخامت آندومتر و ایجاد سرطان رحم گزارش شده است (۲۳).

افزایش ضخامت آندومتریوم در زنان جوان با غلظت زیاد سطح سرمی E_2 (Serum estradiol) همراه بوده است. ارتباط بین سن و میزان غلظت سطح سرمی E_2 به سختی قابل تعمیم می‌باشد، اما می‌توان آن را به میزان حاملگی‌های موفق در زنان جوان‌تر تعمیم داد. با استفاده از روش رگرسیون گام به گام، مشخص گردید که ضخامت آندومتریوم به طور کامل به غلظت سطح سرمی E_2 وابسته است و یک حادثه‌ی مستقل از سن است (۲۴).

طول تحریک تخمدان ممکن است تحت تأثیر ضخامت آندومتر قرار بگیرد و دوره‌ی طولانی‌تر از تحریک تخمدان، ممکن است منجر به زمان اضافی

برای تکثیر آندومتر شود. با این حال، این فرضیه با استفاده از تجزیه و تحلیل رگرسیون چندگانه به روش گام به گام، رابطه‌ی آماری معنی‌داری بین تعداد روز پس از تحریک تخمدان و ضخامت آندومتر نشان نداد. اگر چه طول مدت تحریک تخمدان به نظر نمی‌رسد بر ضخامت آندومتر تأثیری داشته باشد، اما طول تحریک تخمدان یک عامل مداخله‌گر مؤثر بر ضخامت آندومتر محسوب می‌شود. ممکن است که یک دوره‌ی کوتاه‌تر استفاده از گنادوتروپین نشان دهنده‌ی عملکرد بهتر تخمدان و در نتیجه کیفیت بهتر تخمک شود که به نوبه‌ی خود می‌تواند برای جبران توسعه‌ی کمتر آندومتر مطلوب باشد (۲۴).

گزارش‌های قبلی نتایج متناقضی را در مورد نقش ضخامت آندومتریوم در تکنیک‌های کمک باروری مثل IVF و ICSI نشان می‌دهد (۲۵). یکی از عوامل مهم و تأثیرگذار در ART، به هم خوردن نسبت استرادیول و پروژسترون در تحریک تخمک‌گذاری با داروها می‌باشد که باعث کاهش کیفیت در پذیرندگی آندومتر می‌شود (۲۶). Kovacs و همکاران دریافتند که ضخامت آندومتریوم در حدود ۱۰ mm در انسان باعث افزایش در میزان حاملگی موفق می‌شود (۸). با این حال، برخی از مطالعات رابطه‌ی معنی‌داری را بین ضخامت آندومتر و نتایج حاملگی نشان نمی‌دهند (۹، ۱۲، ۲۷).

همچنین در گزارش‌هایی نیز اعلام شده است که میزان لانه‌گزینی و حاملگی در زنان با ضخامت آندومتریوم بیشتر از ۱۴ mm در روز تجویز HCG کمتر بوده است (۲۸). از طرفی، Zhang و همکاران اعلام کردند که هیچ اثری مبنی بر ضخامت بیش از ۱۴ mm در میزان لانه‌گزینی، حاملگی یا میزان سقط

دیگر گروه‌ها ایجاد کند، اما از نظر عددی توانست بر روی ضخامت آندومترיום تأثیر بگذارد. ضخامت آندومترיום به عوامل زیادی وابسته است که باید در این زمینه تحقیقات و مطالعات بیشتری صورت گیرد. بی‌شک، کشف عوامل مؤثر بر ضخامت آندومترיום و داروهای تعدیل کننده‌ی ضخامت آندومترיום در جهت بهبود موفقیت لانه‌گزینی و جلوگیری از سقط جنین ناشی از شکست لانه‌گزینی با منشأ ضخامت نامناسب، تأثیر به‌سزایی در موفقیت روش‌های کمک باروری مثل IVF و ICSI دارد. امید است که در آینده‌ای نه چندان دور، موارد شکست لانه‌گزینی ناشی از ضخامت آندومترיום به میزان قابل توجهی کاهش یابد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره‌ی ۳۹۲۴۴۲ می‌باشد و تمامی هزینه‌های اجرای آن توسط این معاونت تأمین گردیده است. از معاونت محترم پژوهشی این دانشگاه سپاسگزاری می‌گردد.

مشاهده نشده است (۲۴). به هر حال، طبق جدیدترین مطالعات بهترین ضخامت آندومترיום با الگوی Trilaminar حدود ۱۰-۱۲/۹ mm است که با نرخ‌های بالاتر حاملگی بالینی با سیکل ICSI ارتباط دارد (۲۵). استفاده از گنادوتروپین‌ها باعث افزایش فعالیت میتوزی در زمان لانه‌گزینی می‌شود و این مسأله بیانگر تغییرات در افزایش سلول‌های اپیتلیوم و همچنین افزایش ضخامت آندومترיום می‌شود، اما تغییرات ناشی از تزریق گنادوتروپین‌ها به صورت آگزورنوس باعث ایجاد شرایط نامساعد کاهش پذیرندگی آندومتر برای لانه‌گزینی رویان نیز می‌شود (۲۹).

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، استفاده از گنادوتروپین‌ها و پروژسترون توانست میزان ضخامت آندومتر را به اندازه‌ای افزایش دهد، اما این میزان افزایش ضخامت آندومترיום در حد معنی‌داری نبود و مطالعات بیشتر در این زمینه لازم است. عوامل زیادی از قبیل میزان غلظت سطح سرمی E_2 ، دیابت شیرین، فشار خون، میزان عرضه‌ی گنادوتروپین‌ها و عوامل دیگر در ضخامت آندومترיום تأثیرگذار هستند. هر چند در این مطالعه، اثر آگزورنوس پروژسترون نتوانست اختلاف معنی‌دار آماری را در مقایسه با

References

1. Nikas G, Drakakis P, Loutradis D, Mara-Skoufari C, Koumantakis E, Michalas S, et al. Uterine pinopodes as markers of the 'nidation window' in cycling women receiving exogenous oestradiol and progesterone. *Hum Reprod* 1995; 10(5): 1208-13.
2. Friedler S, Schenker JG, Herman A, Lewin A. The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. *Hum Reprod Update* 1996; 2(4): 323-35.
3. Graham JD, Clarke CL. Physiological action of progesterone in target tissues. *Endocr Rev* 1997; 18(4): 502-19.
4. Merce LT, Barco MJ, Bau S, Troyano J. Are endometrial parameters by three-dimensional ultrasound and power Doppler angiography related to in vitro fertilization/embryo transfer outcome? *Fertil Steril* 2008; 89(1): 111-7.
5. Richter KS, Bugge KR, Bromer JG, Levy MJ. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos. *Fertil Steril* 2007; 87(1): 53-9.
6. Dorn C, Reinsberg J, Willeke C, Wendt A, van

- d, V, Schild RL. Three-dimensional power Doppler ultrasound of the subendometrial blood flow under the administration of a contrast agent (Levovist). *Arch Gynecol Obstet* 2004; 270(2): 94-8.
7. Al-Ghamdi A, Coskun S, Al-Hassan S, Al-Rejjal R, Awartani K. The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) outcome. *Reprod Biol Endocrinol* 2008; 6: 37.
 8. Kovacs P, Matyas S, Boda K, Kaali SG. The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. *Hum Reprod* 2003; 18(11): 2337-41.
 9. Okohue JE, Onuh SO, Ebeigbe P, Shaibu I, Wada I, Ikimalo JI, et al. The effect of endometrial thickness on in vitro fertilization (IVF)-embryo transfer/intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcome. *Afr J Reprod Health* 2009; 13(1): 113-21.
 10. Rashidi BH, Sadeghi M, Jafarabadi M, Tehrani Nejad ES. Relationships between pregnancy rates following in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection and endometrial thickness and pattern. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 120(2): 179-84.
 11. Noyes N, Liu HC, Sultan K, Schattman G, Rosenwaks Z. Endometrial thickness appears to be a significant factor in embryo implantation in in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1995; 10(4): 919-22.
 12. Esmailzadeh S, Faramarzi M. Endometrial thickness and pregnancy outcome after intrauterine insemination. *Fertil Steril* 2007; 88(2): 432-7.
 13. Lim HJ, Dey SK. HB-EGF: a unique mediator of embryo-uterine interactions during implantation. *Exp Cell Res* 2009; 315(4): 619-26.
 14. Matsumoto H, Zhao X, Das SK, Hogan BL, Dey SK. Indian hedgehog as a progesterone-responsive factor mediating epithelial-mesenchymal interactions in the mouse uterus. *Dev Biol* 2002; 245(2): 280-90.
 15. Role of progestogen in hormone therapy for postmenopausal women: position statement of The North American Menopause Society. *Menopause* 2003; 10(2): 113-32.
 16. Estrogen and progestogen use in postmenopausal women: 2010 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause* 2010; 17(2): 242-55.
 17. Bolaji II, Grimes H, Mortimer G, Tallon DF, Fottrell PF, O'Dwyer EM. Low-dose progesterone therapy in oestrogenised postmenopausal women: effects on plasma lipids, lipoproteins and liver function parameters. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1993; 48(1): 61-8.
 18. Franco JG, Jr., Baruffi RL, Oliveira JB, Mauri AL, Petersen CG, Contart P, et al. Effects of recombinant LH supplementation to recombinant FSH during induced ovarian stimulation in the GnRH-agonist protocol: a matched case-control study. *Reprod Biol Endocrinol* 2009; 7: 58.
 19. Rashidi B, Soleimani Rad J, Roshangar L. Comparison of morphological and morphometrical characteristics in the glandular epithelium of mouse endometrium in preimplantation period after administration HMG-HCG, progesterone and sildenafil citrate. *J Isfahan Med Sch* 2010; 28(112): 656-64. [In Persian].
 20. Timmermans A, Opmeer BC, Khan KS, Bachmann LM, Epstein E, Clark TJ, et al. Endometrial thickness measurement for detecting endometrial cancer in women with postmenopausal bleeding: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2010; 116(1): 160-7.
 21. Okman-Kilic T, Kucuk M. The effects of antihypertensive agents on endometrial thickness in asymptomatic, hypertensive, postmenopausal women. *Menopause* 2003; 10(4): 362-5.
 22. Sit AS, Modugno F, Hill LM, Martin J, Weissfeld JL. Transvaginal ultrasound measurement of endometrial thickness as a biomarker for estrogen exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13(9): 1459-65.
 23. van HN, Breijer MC, Khan KS, Clark TJ, Burger MP, Mol BW, et al. Diagnostic evaluation of the endometrium in postmenopausal bleeding: an evidence-based approach. *Maturitas* 2011; 68(2): 155-64.
 24. Zhang X, Chen CH, Confino E, Barnes R, Milad M, Kazer RR. Increased endometrial thickness is associated with improved treatment outcome for selected patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2005; 83(2): 336-40.
 25. Al Mohammady M, Abdel Fattah G, Mahmoud M. The impact of combined endometrial thickness and pattern on the success of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycles. *Middle East Fertility Society Journal* 2013; 18(3): 165-70.
 26. Sauer Ramirez JL, Hernandez PO. [Endometrial changes caused by induction of ovarian hyperstimulation which affect the process of embryo implantation]. *Ginecol Obstet Mex* 1994; 62: 415-8. [In Spanish].
 27. Vlasisavljevic V, Reljic M, Gavric-Lovrec V, Kovacic B. Subendometrial contractility is not predictive for in vitro fertilization (IVF)

- outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 17(3): 239-44.
28. Jeon YE, Jung JA, Kim HY, Seo SK, Cho S, Choi YS, et al. Predictive factors for pregnancy during the first four intrauterine insemination cycles using gonadotropin. *Gynecol Endocrinol* 2013; 29(9): 834-8.
29. Dursun A, Sendag F, Terek MC, Yilmaz H, Oztekin K, Baka M, et al. Morphometric changes in the endometrium and serum leptin levels during the implantation period of the embryo in the rat in response to exogenous ovarian stimulation. *Fertil Steril* 2004; 82(Suppl 3): 1121-6.

Evaluation of the Endometrial Thickness in Mice after Ovarian Stimulation and Using Progesterone

Bahman Rashidi PhD¹, Mohammad Mardani PhD¹, Mostafa Peyvandi Kariz Bodagh²

Original Article

Abstract

Background: Human Endometrium is a dynamic tissue during the menstrual cycle which can be influenced by ovarian hormones. This layer is the main responsible for the successful implantation of the embryo. One of the most important factors affecting the implantation is endometrial thickness. This study aimed to evaluate the endometrial thickness under the influence of ovulation-stimulating hormones and progesterone.

Methods: Thirty adult female mice were divided into 3 groups of control, gonadotropin and gonadotropin + progesterone. In 2 experimental groups, the mice received 7.5 IU human menopausal gonadotropin (HMG) and later, human chorionic gonadotropin (HCG). Then, every two female mice were put in one cage with one male mouse for fertilization. The gonadotropin + progesterone group received 1 mg/kg progesterone at the hours 24, 48, and 72 after the injection of human menopausal gonadotropin. Ninety six hours after the injection of human chorionic gonadotropin, the mice in 3 groups were sacrificed and their uterine specimens were prepared for light microscopic studies.

Findings: Using the software Motic Image Plus 3.2, endometrial thickness in was $358.06 \pm 13.36 \mu\text{m}$ in control, $389.85 \pm 12.46 \mu\text{m}$ in gonadotropin, and $381.64 \pm 13.03 \mu\text{m}$ in gonadotropin + progesterone group. There were not any significant difference between the control and gonadotropin groups and between the control and gonadotropin + progesterone groups. In addition, the endometrial thickness was not significantly different between the 3 groups ($P < 0.05$ for all of the comparisons).

Conclusion: Using ovarian stimulation, followed by progesterone injection, would not modify the endometrial thickness of mouse endometrium.

Keywords: Implantation, Endometrial thickness, Endometrium, Progesterone

Citation: Rashidi B, Mardani M, Peyvandi Kariz Bodagh M. **Evaluation of the Endometrial Thickness in Mice after Ovarian Stimulation and Using Progesterone.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(296): 1217-26

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

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

Corresponding Author: Bahman Rashidi PhD, Email: b_rashidi@med.mui.ac.ir

بررسی تأثیر پیشگیرانه‌ی پاراستامول وریدی بر درد پس از عمل سزارین الکتیو تحت بیهوشی اسپینال

دکتر میترا جبل عاملی^۱، لیلا گودرزی^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: درد یکی از عوامل مهم در عدم پذیرش انجام عمل جراحی از طرف بیماران و شاید مهم‌ترین عامل ترس از جراحی است. این پژوهش به منظور ارزیابی تأثیر پیشگیرانه‌ی پاراستامول وریدی بر درد پس از عمل سزارین الکتیو تحت بیهوشی اسپینال در سال ۱۳۹۱ در بیمارستان شهید بهشتی اصفهان صورت گرفت.

روش‌ها: این مطالعه یک کارآزمایی دو سویه کور بود که جامعه‌ی آماری آن خانم‌های باردار شکم اول کانید جراحی سزارین بودند. نمونه‌ی آماری، ۷۰ نفر شامل دو گروه ۳۵ نفری بودند که در حالت نشسته، در سطح L_۳ و L_۴ بیهوش شدند. بیماران گروه مورد ۱ پاراستامول در ۱۰۰ CC نرمال سالین و بیماران گروه شاهد ۱۰۰ CC نرمال سالین در دوره‌ی مشابه زمانی ۲۰ دقیقه دریافت کردند و در حین عمل و ریکاوری، هر ۱۵ دقیقه تا یک ساعت و سپس ۲۴ ساعت پس از عمل در بخش، از نظر میانگین مصرف مخدر، بروز استفراغ، درد، فشار خون سیستولی و دیاستولی، ضربان قلب، نمره‌ی بی‌حسی (Sedation score) و رضایتمندی، مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: حین عمل، بروز استفراغ و درد و همچنین میانگین ضربان قلب در زمان‌های ۰ و ۵ دقیقه بین دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت؛ اما در زمان‌های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه میانگین ضربان قلب در گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از گروه مورد بود ($P < 0/001$). در ریکاوری، بر اساس VAS در زمان‌های ۰، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه، میانگین شدت درد در گروه مورد کمتر از گروه شاهد و تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0/001$). اما در زمان ۳۰ دقیقه تفاوت معنی‌دار نبود. میزان رضایتمندی در بین بیماران دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌دار نشان نداد. از لحاظ میانگین مصرف مخدر دریافتی در ۲۴ ساعت اول، بین دو گروه مورد و شاهد در ۲، ۴ و ۱۲ ساعت پس از عمل، تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. همچنین در ۲۴ ساعت اول پس از عمل، شدت درد بر اساس VAS در زمان‌های بلافاصله پس از ورود به بخش، ۴، ۶ و ۱۸ ساعت پس از عمل بین دو گروه تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/001$).

نتیجه‌گیری: استفاده از پاراستامول وریدی در کاهش درد پس از جراحی سزارین مؤثر است و نیاز به مخدر را کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: پاراستامول، سزارین، بیهوشی اسپینال

ارجاع: جبل عاملی میترا، گودرزی لیلا. بررسی تأثیر پیشگیرانه‌ی پاراستامول وریدی بر درد پس از عمل سزارین الکتیو تحت

بیهوشی اسپینال. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۶): ۱۲۳۷-۱۲۲۷

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: jabalameli@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤو: دکتر میترا جبل عاملی

مقدمه

سزارین نقش مهمی در کاهش میزان مرگ و میر و عوارض پس از زایمان در مادر و جنین در زایمان‌های خاص دارد. عوارض آن درد و عفونت زخم، خونریزی، اسپیراسیون و اتلکتازی ریوی، عفونت مجاری و آمبولی ریه (در ۲۵ درصد بیماران) می‌باشند (۱). بی‌حسی منطقه‌ای (نخاعی و اپیدورال) در سزارین رایج‌تر از بیهوشی عمومی است (۲)، اما در دوره‌ی بعد از جراحی است که تجربه‌ی ناخوشایند حسی و روانی درد وجود دارد و شایع‌ترین علت ترس و اضطراب از عمل جراحی نیز همین است (۳). بیماران به دنبال سزارین به علت یک واکنش فیزیولوژیکی پیچیده در پاسخ به آسیب بافتی، اتساع احشا و انقباضات رحم درد حاد دارند (۴) که این درد، بی‌حرکتی فیزیکی و تأخیر در برگشت کارایی طبیعی فرد را سبب می‌شود. کنترل ناکافی درد می‌تواند سبب اضطراب و حس ناامنی گردد (۵). تسکین درد در ساعات اولیه بعد از جراحی سبب راحتی و بهبود سریع بیمار می‌گردد. مطالعات مختلف اثر نامطلوب عدم تسکین درد را توصیف کرده‌اند که شامل عمق ناکافی تنفس، افزایش ضربان قلب، افزایش فشار خون و غیره می‌باشد (۶). روش‌های از بین بردن درد در مامایی به صورت روش دارویی است (۵، ۳). عوارض مخدرها عبارت از دپرسیون تنفسی و گردش خون، تهوع، یبوست و وابستگی جسمانی هستند. مسکن‌های ضعیف، داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs) یا (Nonsteroidal anti inflammatory drugs) و پاراستامول هستند. فرمولاسیون پاراستامول وریدی به صورتی است که در حین بیهوشی یا بلافاصله پس از

آن قابل استفاده است. در حالی که سایر فرمولاسیون‌ها چنین قابلیتی ندارند (۷). فرمولاسیون دقیق پاراستامول به صورت پاراستیل آمینوفنل است. از طریق تزریق وریدی، شروع اثری حدود ۱-۰/۵ ساعت، نیمه عمری حدود ۴-۱ ساعت و زمان تأثیر به مدت ۸-۶ ساعت دارد. حداکثر دوز توصیه شده جهت بزرگسالان ۴ g گرم در شبانه‌روز است (۸).

عرب و همکاران در مطالعه‌ای تأثیر تزریق داخل نسجی بوپروکائین در کاهش درد، تهوع و استفراغ بعد از عمل سزارین از طریق بی‌حسی نخاعی را بر روی ۵۰ زن کاندید سزارین بررسی کردند. نتایج نشان داد که تنها ۴ ساعت پس از اندازه‌گیری درد پس از عمل، شدت درد در گروه مورد کمتر از گروه شاهد بود (۹). جبل عاملی و همکاران در تحقیقی به بررسی تأثیر پتیدین داخل بینی جهت تسکین درد پس از عمل سزارین پرداختند. نتایج این بررسی نشان داد که میانگین شدت درد با پتیدین وریدی در ۲ ساعت اول کمتر از پتیدین بینی بود و تفاوتی در میزان تهوع و استفراغ دو گروه مشاهده نشد و کاهش در میانگین فشار خون سیستمی کاهش معنی‌داری نسبت به پتیدین داخل بینی داشت. این مطالعه نشان داد که پتیدین داخل وریدی از داخل بینی، تأثیر بیشتری بر کاهش درد بعد از عمل سزارین دارد (۴).

اخلاقی و علیپور در یک تحقیق به بررسی مقایسه اثر شیاف دیکلوفناک و قرص پاراستامول در کاهش درد محل اپیزیوتومی پس از زایمان پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از شیاف دیکلوفناک نسبت به قرص پاراستامول روش ساده‌تری در کاهش درد به دنبال انجام اپیزیوتومی است (۱۰). از آن جا که مطالعات محدودی در خصوص تأثیر پیشگیرانه‌ی

پاراستامول وریدی بر روی خانم‌های کاندید عمل سزارین الکتیو صورت گرفته است و همچنین تأثیر ضد و نقیض پاراستامول بر کاهش میزان شدت درد و نیز شیوع عمل جراحی سزارین در ایران، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر پاراستامول وریدی بر درد پس از عمل سزارین الکتیو تحت بیهوشی اسپینال در مقایسه با گروه شاهد، انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه یک کارآزمایی بالینی دو سو کور بود که در سال ۱۳۹۱ در مرکز آموزشی-درمانی شهید بهشتی به انجام رسید. جامعه‌ی آماری مطالعه خانم‌های باردار مراجعه کننده به این مرکز و واجد معیارهای ورود به مطالعه بودند.

معیارهای ورود شامل خانم حامله شکم اول، کاندید عمل جراحی سزارین، دارای کلاس I و II (The American Society of Anesthesiologists) ASA، فاقد حساسیت قلبی به پاراستامول، فاقد سابقه‌ی PUD (Peptic ulcer disease)، ابتلا به گلوکرم، دیابت ملیتوس نوع ۱ و ۲ و نارسایی قلبی، HTN (Hypertension) و نیز هر گونه بیماری کنترل نشده بودند.

معیارهای خروج شامل هر گونه تغییر در پلن و داروی بیهوشی، Complicated pregnancy، حساسیت دارویی و فوت بیمار قبل از اتمام مداخله بودند.

تعداد ۷۰ نفر خانم باردار شکم اول کاندید عمل سزارین الکتیو در بیمارستان بهشتی به طور تصادفی (یک در میان) به دو گروه ۳۵ نفری تقسیم شدند. قبل از ورود به مطالعه، در مورد روش اجرای طرح به بیماران توضیح داده شد و از تمامی بیماران

رضایت گرفته شد. هر دو گروه، مایع درمانی و روش بیهوشی یکسان دریافت کردند. قبل از اینداکشن بیهوشی ۵۰۰ cc رینگر لاکتات به همه‌ی بیماران تزریق شد. بیهوشی Spinal در همه‌ی بیماران در حالت نشسته در سطح L_۳ و L_۴ با نیدل شماره‌ی ۲۵ انجام شد (۲/۵ cc ۲/۵ Bupivacainecc ۰/۵ درصد). سپس زانو به پوزیشن Supine چرخانده و تخت اتاق عمل به سمت چپ Tilt شد. برای اطمینان از این که همه‌ی خانم‌های باردار و متخصصین بیهوشی به صورت Blind در مطالعه باشند، بیماران در گروه مورد بلافاصله پس از کلامپ بند ناف، ۱ g پاراستامول در ۱۰۰ cc نرمال سالین و در گروه شاهد ۱۰۰ cc نرمال سالین را در دوره‌ی زمانی مشابه (۲۰ min) دریافت کردند و پس از آن تا ۲۴ ساعت، تحت نظر قرار گرفتند (داروها توسط شماره‌ی تصادفی شده‌ی بیماران برچسب گذاری شد). بیماران و پرسنل درگیر در جمع‌آوری اطلاعات، اطلاعی از گروه بیماران نداشتند. همه‌ی بیماران مراقبت‌های پرستاری معمول بعد از عمل را دریافت کردند و هر بیمار در زمان‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت بعد از عمل ویزیت شد. از پرسنل پرستاری خواسته شد که هر مشکلی در رابطه با بیمار را سریع به متخصص مطالعه کننده‌ی این تحقیق اطلاع دهند.

درد، فشار خون متوسط، تهوع، استفراغ، تعداد ضربان قلب، نمره‌ی بی‌حسی (Sedation score) و مصرف داروهای مخدر و هر داروی اضافی (مثل اتروپین، افدرین)، حین عمل (بلافاصله بعد از بی‌حسی اسپینال، ۵ دقیقه بعد از بی‌حسی اسپینال و هر ۱۵ دقیقه تا پایان عمل) و هر ۱۵ دقیقه در ریکاوری ثبت شد. جهت برآورد شدت درد، در زمان‌های ۰، ۲،

ثبت شد و VAS میزان رضایتمندی نیز ثبت گردید. در صورت طولانی شدن عمل سزارین، بروز خونریزی شدید و نیاز به تزریق خون یا هیستروکتومی، لزوم تجویز داروی اضافه در حین بیهوشی و حساسیت به داروهای حین بیهوشی Spinal، بیمار از مطالعه حذف می‌شد.

برای برآورد شدت درد در زمان‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت پس از سزارین، از روش VAS استفاده شد. برای متغیرهای کمی مانند VAS و MAP (Mean arterial pressure)، تعداد دفعات تهوع، ضربان قلب و توزیع فراوانی عوارض دارویی بعد از عمل، از آزمون t مستقل و برای متغیرهای کیفی مانند نمره‌ی بی‌حسی و شدت استفراغ، از آزمون Mann-whitney استفاده شد.

یافته‌ها

حین عمل

در حین عمل در مطالعه‌ی حاضر به طور تصادفی در گروه شاهد ۳۰ نفر در کلاس ASA I و ۵ نفر در کلاس ASA II قرار داشتند و در گروه نمونه، ۳۱ نفر در کلاس ASA I و ۴ نفر در کلاس ASA II قرار داشتند که تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد. بین سایر اطلاعات و مشخصات بیماران شامل سن، سن حاملگی، فشار خون سیستولی، فشار خون دیاستولی، ضربان قلب، تعداد تنفس و زمان عمل جراحی در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. فقط در مورد طول مدت بی‌حسی تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P \leq 0/001$) (جدول ۱).

بروز استفراغ در هیچ کدام از زمان‌های حین عمل در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت.

۴، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت پس از سزارین، شدت درد به روش VAS (Visual analog scale) ثبت شد. بدین صورت که از بیماران خواسته شد که روی خط‌کش ۱۰ cm مدرج، درد خود را نشان دهند: ۰ یعنی هیچ دردی احساس نمی‌کند و ۱۰ یعنی شدیدترین دردی که تاکنون تجربه کرده است. آموزش این روش به بیمار، قبل از عمل انجام می‌شد. هر گاه آنالژزی توسط بیمار ناکافی قلمداد می‌شد، تجویز دوزهای پتیدین بولوس تا رسیدن VAS به زیر ۳ صورت می‌گرفت.

همچنین بروز تهوع و تعداد دفعات استفراغ در زمان‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت پس از سزارین ثبت شد و برای بررسی شدت تهوع نیز از روش VAS استفاده شد. با شدت استفراغ، دوزهای ۵۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$ بولوس اندانسترون -هر آمپول، ۴ mg- تجویز شد. نمره‌ی بی‌حسی بیمار با استفاده از معیار Ramsy score در همین زمان‌ها چک شد. در صورتی که فشار خون متوسط بیمار به زیر ۲۰ درصد سطح پایه افت می‌کرد، به بیمار افدرین (۵ mg وریدی تا طبیعی شدن فشار خون) تزریق و میانگین مصرف افدرین در دو گروه مقایسه می‌شد.

در صورتی که تعداد ضربان قلب بیمار کمتر از ۶۰ بود، به بیمار آتروپین (۱ mg) تزریق و میانگین مصرف آتروپین در دو گروه مقایسه می‌شد. در ضمن، اولین زمان درخواست مخدر توسط بیمار و همچنین میزان مخدر مصرفی طی ۲۴ ساعت ثبت شد. حداکثر سطح بلوک حسی با استفاده از نیدل به روش Pin prick ثبت شد. در انتهای ۲۴ ساعت، نظر کلی بیماران در مورد کیفیت کاهش درد پرسیده شد و به صورت (عالی، خیلی خوب، خوب، ضعیف و بد)

نشد. VAS رضایتمندی در بیماران در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت.

ریکاوری

میانگین شدت درد در زمان‌های ۰، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ و ۶۰ دقیقه در گروه مورد کمتر از گروه شاهد بود. در بیشتر زمان‌ها، میزان استفراغ در گروه شاهد بیشتر بود؛ هر چند در هیچ‌کدام از زمان‌ها بین دو گروه تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. میانه‌ی نمره‌ی بی‌حسی در ریکاوری در زمان‌های مختلف بین دو گروه تفاوت معنی‌دار نشان نداد. در بیشترین سطح بلوک حسی در زمان‌های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P \leq 0/001$). VSA رضایتمندی در بیماران در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت. میانگین ضربان قلب و تعداد تنفس در زمان‌های مختلف در دو گروه، تفاوت معنی‌دار نشان نداد. میانگین فشار خون سیستولی و دیاستولی در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت.

۲۴ ساعت اول پس از عمل

شدت درد بر اساس VAS در زمان‌های بلافاصله پس از ورود به بخش، ۴، ۶ و ۱۸ ساعت پس از عمل بین دو گروه تفاوت معنی‌دار داشت ($P \leq 0/001$) (جدول ۲).

VAS درد در هیچ‌کدام از زمان‌ها در حین عمل بین دو گروه تفاوت معنی‌دار نداشت. میانگین ضربان قلب در زمان‌های ۰ و ۵ دقیقه در حین عمل بین دو گروه تفاوت معنی‌دار نداشت؛ اما در زمان‌های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه، میانگین ضربان قلب در گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از گروه مورد بود ($P \leq 0/001$).

میانگین تعداد تنفس در زمان‌های ۰، ۱۵ و ۳۰ دقیقه حین عمل تفاوت معنی‌دار نداشت، اما در ۴۵ دقیقه در گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P \leq 0/001$).

در حین عمل میانه‌ی نمره‌ی بی‌حسی در زمان‌های مختلف بین دو گروه تفاوت معنی‌دار نداشت. هر چند در بعضی از زمان‌ها نمره‌ی بی‌حسی در گروه شاهد اندکی بالاتر بود (در زمان‌های ۰ و ۱۵ دقیقه). همچنین میانگین فشار خون سیستولی در زمان‌های ۱۵ و ۴۵ دقیقه در حین عمل بین دو گروه تفاوت معنی‌دار داشت با ($P \leq 0/050$).

در مصرف مخدر در زمان‌های مختلف در حین عمل بین دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در هیچ‌کدام از زمان‌های حین عمل در بیشترین سطح بلوک حسی بین دو گروه تفاوت معنی‌دار مشاهده

جدول ۱. میانگین متغیرهای مختلف و اطلاعات بیمار در دو گروه مورد و شاهد

مقدار P	شاهد		مشخصات کیفی
	مورد	میانگین \pm انحراف معیار	
۰/۹۱۰	۲۹/۱۰ \pm ۵/۹۰	۲۸/۰۰ \pm ۴/۶	سن
۰/۳۷۰	۳۷/۸۰ \pm ۱/۳۳	۳۸/۱۰ \pm ۱/۳۰	سن بارداری
۰/۸۴۰	۱۲۷/۸۰ \pm ۱۱/۲۰	۱۳۰/۰۰ \pm ۱۵/۹۰	فشار خون سیستولی
۰/۳۰۰	۸۲/۰۰ \pm ۱۲/۷۰	۸۵/۵۰ \pm ۱۰/۸۰	فشار خون دیاستولی
۰/۸۰۰	۱۰۳/۸۰ \pm ۱۵/۶۰	۱۰۳/۲۰ \pm ۱۵/۸۰	ضربان قلب
۰/۰۹۰	۵۲/۶۱ \pm ۱۴/۳۰	۴۷/۰۰ \pm ۹/۷۰	مدت زمان عمل
$\leq 0/001$	۱۰۶/۷۰ \pm ۱۶/۶۰	۸۸/۱۰ \pm ۱۷/۳۰	مدت زمان بی‌حسی

جدول ۲. VAS (Visual analog scale) درد در ۲۴ ساعت اول در بخش

مقدار P	مورد		VAS درد پس از عمل
	شاهد	میانگین \pm انحراف معیار	
< ۰/۰۰۱	۱/۰ \pm ۰/۲	۱/۶ \pm ۰/۶	بلافاصله پس از ورود به بخش
۰/۰۱	۱/۶ \pm ۰/۷	۲/۲ \pm ۱/۰	۲ ساعت
< ۰/۰۰۱	۲/۰ \pm ۱/۰	۲/۵ \pm ۱/۰	۴ ساعت
< ۰/۰۰۱	۱/۵ \pm ۱/۰	۲/۰ \pm ۰/۷	۶ ساعت
۰/۲۰۰	۲/۵ \pm ۱/۰	۳/۰ \pm ۱/۵	۱۲ ساعت
< ۰/۰۰۱	۱/۱ \pm ۰/۳	۱/۶ \pm ۰/۶	۱۸ ساعت
< ۰/۰۰۱	۱/۰ \pm ۰/۱	۱/۵ \pm ۰/۷	۲۴ ساعت

تفاوت معنی‌دار داشت. میانگین میزان مخدر درخواستی در ۲۴ ساعت اول پس از عمل در دو گروه مورد و شاهد در جدول ۴ آمده است. در میانگین مصرف مخدر دریافتی در ۲۴ ساعت اول در دو گروه مورد و شاهد در زمان‌های ۲، ۴ و ۱۲ ساعت پس از عمل، تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P \leq ۰/۰۰۱$) (جدول ۵).

شدت درد در هنگام سرفه بر اساس VAS در دو گروه در زمان ۲ ساعت پس از بستری در بخش تفاوت معنی‌دار داشت. VSA شدت تهوع به جز در زمان‌های ۲ و ۱۲ ساعت پس از بستری در بخش، در تمامی زمان‌ها تفاوت معنی‌دار داشت ($P \leq ۰/۰۰۱$). (جدول ۳). دفعات استفراغ در ۲۴ ساعت اول در دو گروه فقط در ۱۲ ساعت بعد از ورود به بخش

جدول ۳. میانگین تهوع در ۲۴ ساعت اول پس از عمل

مقدار P	شاهد		VAS تهوع در ۲۴ ساعت اول در بخش
	مورد	میانگین \pm انحراف معیار	
< ۰/۰۰۱	۰/۶ \pm ۰/۴	۱/۰ \pm ۰/۸	بلافاصله پس از ورود به بخش
۰/۰۱۰	۰/۶ \pm ۰/۴	۰/۹ \pm ۰/۸	۲ ساعت
۰/۰۰۲	۰/۶ \pm ۰/۴	۱/۴ \pm ۱/۰	۴ ساعت
۰/۰۰۱	۰/۶ \pm ۰/۵	۱/۰ \pm ۱/۰	۶ ساعت
۰/۲۰۰	۰/۶ \pm ۰/۴	۱/۰ \pm ۱/۰	۱۲ ساعت
< ۰/۰۰۱	۰/۶ \pm ۰/۵	۱/۰ \pm ۱/۰	۱۸ ساعت
< ۰/۰۰۱	۰/۶ \pm ۰/۵	۱/۰ \pm ۱/۰	۲۴ ساعت

جدول ۴. میانگین میزان مخدر درخواستی در ۲۴ ساعت اول پس از عمل در دو گروه مورد و شاهد

میانگین مصرف مخدر (mg)	مورد	شاهد
میانگین مصرف مخدر در حین عمل (mg)	۰/۰۰	۰/۰۲
میانگین مصرف مخدر در ریکاوری (mg)	۳۶/۴۲	۳۵/۷۱
میانگین مصرف مخدر در ۲۴ ساعت اول (mg)	۵۱/۵۰	۷۱/۵۷

قلب در زمان‌های ۱۸ و ۲۴ ساعت اول پس از بستری در بخش، تفاوت قابل ملاحظه داشت ($P \leq 0/050$) (جدول ۷). در میانگین اولین زمان دریافت مخدر در بخش در ۲۴ ساعت اول پس از عمل در دو گروه تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. VAS رضایتمندی در بیماران در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت.

میانگین فشار خون سیستولی در زمان بلافاصله پس از ورود به بخش و نیز در ۲، ۴ و ۱۸ ساعت پس از ورود به بخش، در دو گروه تفاوت معنی‌دار داشت ($P \leq 0/050$) (جدول ۶). میانگین فشار خون دیاستولی در زمان‌های بلافاصله پس از عمل و ۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت اول پس از بستری در بخش در دو گروه تفاوت معنی‌دار داشت ($P \leq 0/050$). میانگین ضربان

جدول ۵. میانگین مصرف مخدر (mg) در زمان‌های مختلف

مقدار P	مورد	شاهد	میانگین مصرف مخدر در زمان‌های مختلف
	میانگین \pm انحراف معیار	میانگین \pm انحراف معیار	
۰/۰۰۶	۵۴/۰ \pm ۱۲/۰	۸۷/۲ \pm ۱۸/۰	۲ ساعت
۰/۰۰۲	۵۵/۰ \pm ۱۲/۰	۷۲/۰ \pm ۲۰/۰	۴ ساعت
۰/۰۰۷	۳۰/۰ \pm ۱۰/۵	۷۴/۰ \pm ۲۲/۰	۱۲ ساعت
۰/۱۰۰	۲۵/۰ \pm ۱۰/۰	۴۰/۰ \pm ۱۴/۰	۱۸ ساعت

جدول ۶. میانگین فشار خون سیستولی و دیاستولی در ۲۴ ساعت اول پس از عمل

مقدار P	مورد	شاهد	فشار خون در زمان‌های مختلف
	میانگین \pm انحراف معیار	میانگین \pm انحراف معیار	
۰/۰۰۳	۱۰۸/۰ \pm ۸/۶	۱۱۵/۰ \pm ۹/۸	فشار خون سیستولی در زمان ۰
۰/۰۴۰	۱۱۲/۰ \pm ۶/۰	۱۱۶/۰ \pm ۱۲/۰	در ۲ ساعت بعد
۰/۰۳۰	۱۱۰/۰ \pm ۸/۳	۱۱۵/۰ \pm ۱۱/۰	در ۴ ساعت بعد
۰/۶۰۰	۱۰۹/۰ \pm ۷/۷	۱۱۱/۰ \pm ۱۳/۰	در ۶ ساعت بعد
۰/۴۰۰	۱۱۵/۰ \pm ۸/۶	۱۱۳/۰ \pm ۱۲/۸	در ۱۲ ساعت بعد
۰/۰۵۰	۱۰۷/۰ \pm ۵/۹	۱۱۱/۰ \pm ۱۲/۰	در ۱۸ ساعت بعد
۰/۱۰۰	۱۰۴/۰ \pm ۶/۳	۱۰۸/۰ \pm ۱۱/۳	در ۲۴ ساعت بعد
۰/۰۱۰	۶۶/۰ \pm ۸/۵	۷۲/۰ \pm ۹/۰	فشار خون دیاستولی در زمان ۰
۰/۰۱۰	۷۰/۰ \pm ۸/۰	۷۵/۰ \pm ۹/۳	در ۲ ساعت بعد
۰/۱۰۰	۶۹/۰ \pm ۸/۹	۷۳/۰ \pm ۱۰/۵	در ۴ ساعت بعد
۰/۳۰۰	۶۸/۰ \pm ۹/۰	۷۰/۰ \pm ۱۰/۰	در ۶ ساعت بعد
۰/۶۰۰	۷۳/۰ \pm ۸/۶	۷۴/۰ \pm ۱۲/۰	در ۱۲ ساعت بعد
۰/۰۴۰	۶۴/۰ \pm ۶/۸	۷۰/۰ \pm ۱۰/۰	در ۱۸ ساعت بعد
۰/۰۲۰	۶۴/۰ \pm ۶/۸	۶۹/۰ \pm ۱۰/۴	در ۲۴ ساعت بعد

جدول ۷. میانگین ضربان قلب در ۲۴ ساعت اول پس از عمل

مقدار P	مورد		شاهد		ضربان قلب در زمان‌های مختلف
	میانگین \pm انحراف معیار		میانگین \pm انحراف معیار		
۱/۰۰۰	۸۶/۰ \pm ۵/۲		۸۴/۴ \pm ۱۳/۰		بلافاصله پس از ورود به بخش
۰/۷۰۰	۸۷/۵ \pm ۴/۰		۸۸/۵ \pm ۱۱/۳		۲ ساعت
۰/۱۰۰	۸۶/۵ \pm ۵/۱		۹۰/۰ \pm ۱۱/۳		۴ ساعت
۰/۴۰۰	۸۵/۷ \pm ۵/۷		۸۷/۵ \pm ۱۱/۱		۶ ساعت
۰/۳۰۰	۸۹/۰ \pm ۵/۵		۹۰/۰ \pm ۹/۸		۱۲ ساعت
۰/۰۱۰	۸۵/۰ \pm ۴/۰		۹۰/۰ \pm ۱۱/۰		۱۸ ساعت
۰/۰۰۵	۸۳/۰ \pm ۴/۵		۸۸/۰ \pm ۱۱/۰		۲۴ ساعت

پاراستامول وریدی بر بی‌دردی پس از عمل در مقایسه با مقدار مصرف ترامادول در عمل سزارین روی ۵۰ زن حامله بررسی شد؛ گروه اول به عنوان شاهد ۱۰۰ ml نرمال سالین ۱۵ دقیقه قبل از جراحی و هر ۶ ساعت تا ساعت ۲۴ دریافت کردند. گروه دوم، ۱ g پاراستامول یا ۱۰۰ ml نرمال سالین در همان زمان‌ها دریافت کردند و در آخر جراحی همگی بیماران توسط PCA ترامادول وریدی دریافت کردند. در گروه دوم، مقدار مصرف ترامادول کمتر بود (۱۳). این مطالعه شباهت زیادی به مطالعه‌ی حاضر داشت؛ اما در این مطالعه، زمان تزریق پاراستامول بلافاصله پس از کلامپ بند ناف بود و اثر پاراستامول در ترکیب با پتیدین در درد ۲۴ ساعت پس از عمل و ریکاوری بررسی شد و در آن، میانگین مصرف پتیدین در ریکاوری و حین عمل تفاوت معنی‌دار نشان نداد؛ اما در درد ۲۴ ساعت اول پس از عمل تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. این مطالعات با تحقیق van der Marel و همکاران (۱۵) متناقض می‌باشد. آن‌ها در تحقیق خود اعلام کردند که پاراستامول بر جراحی شکم و توراکس بی‌تأثیر است. Hahn و همکاران نتیجه گرفتند که پاراستامول اثر ضد درد

بحث

در مطالعه‌ای اثرات ضد درد پاراستامول روی ۶۴ زن که تحت Laparoscopic sterilization قرار گرفتند، بررسی شد. به گروه ۱ به بیماران ۴۰ mg/kg، به گروه ۲ ۲۰ mg/kg و به گروه ۳ ۱۰ mg/kg پاراستامول وریدی تزریق شد و برای کنترل درد پس از عمل توسط PCA (Patient-controlled analgesia)، آلفنتانیل در اختیار بود. در پایان، کاهش قابل ملاحظه‌ای در مقدار مصرف مخدر در کنترل درد پس از عمل دیده شد. در نهایت، مقدار پاراستامول وریدی ۵ mg/kg و غلظت سرمی ۴ mg/lit پیشنهاد شد (۱۱).

در مطالعه‌ی Alhashemi و همکاران، اثر پاراستامول نسبت به ایبوپروفن خوراکی در ترکیب با مورفین PCA در زایمان سزارین بررسی شد. این مطالعه بر روی ۴۵ زن باردار کلاس‌های I و II ASA که شرایط لازم را داشتند، انجام شد و نتیجه این بود که پاراستامول جانشین بهتری نسبت به ایبوپروفن خوراکی برای کنترل درد پس از عمل است (۱۲). با استناد به این مطالعه، در مطالعه‌ی حاضر نیز از پاراستامول استفاده شد. در مطالعه‌ی دیگری، اثر

در مجموع، طی این مطالعه نشان داده شد که مصرف پیشگیرانه‌ی پاراستامول بر درد ۲۴ ساعت اول پس از عمل مؤثر است و می‌توان آن را در اعمال جراحی سزارین الکتیو به روش اسپینال برای بی‌دردی بهتر بیمار استفاده کرد و از آن جا که درد بیمار بهتر کنترل می‌شود، بعد از عمل از روحیه‌ی بالاتری برخوردار است، بهتر و مؤثرتر راه می‌رود و این جریان در جلوگیری از عوارض پس از عمل بسیار مؤثر است. از عوارض گوارشی مانند یبوست، ایلتوس، تهوع و استفراغ پس از عمل می‌کاهد و از حوادث ترومبوآمبولی مانند DVT (Deep vein thrombosis) و آمبولی ریه به علت تنفس مؤثر جلوگیری می‌شود. با تنفس عمیق‌تر و مؤثرتر، عفونت ریوی و اتلکتازی ثانویه و به طور کلی، عوارض پس از عمل در بیمار کاهش می‌یابد. همچنین به خانم‌هایی که بیمار نیستند، کمک می‌کند تا این پدیده‌ی فیزیولوژیک را بهتر سپری کنند و خاطره‌ی خوبی از اولین تجربه‌ی حس مادر شدن داشته باشند.

تشریح و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای لیلا گودرزی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به دلیل حمایت مالی از این پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

کافی ندارد و نباید به عنوان یک استاندارد طلایی در جراحی شکم و توراکیس مورد استفاده قرار گیرد (۱۶).

Kilicaslan و همکاران گزارش کردند که با اضافه نمودن دیکلوفناک به ترامادول در مقایسه با ترامادول به تنهایی، درد پس از عمل سزارین به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد (۱۴). در مطالعه‌ای بر روی ۸۰ زن امریکایی تحت سزارین، مشاهده شد که دیکلوفناک اثر کاهنده بر درد بعد از عمل و مقدار مورفین مصرفی دارد؛ اما امکان بررسی اثر پاراستامول یا مجموع دیکلوفناک/ پاراستامول در کاهش درد پس از عمل در مقایسه با مورفین میسر نبود (۶).

در میانگین مصرف پتیدین حین عمل و ریکاوری تفاوت معنی‌دار حاصل نشد؛ اما در درد ۲۴ ساعت اول پس از عمل، تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. در حین عمل، ضربان قلب و تعداد تنفس و فشار خون سیستمی تفاوت داشت و در زمان ۴۵ دقیقه مشترک بود. در ریکاوری، درد و بیشترین سطح بلوک حسی تفاوت داشت که در زمان‌های ۱۵ و ۴۵ دقیقه مشترک بود. در ۲۴ ساعت اول پس از عمل، بیشتر ایندکس‌ها تفاوت معنی‌دار داشت.

VAS درد و درد هنگام سرفه و نیز VAS تهوع تفاوت معنی‌دار داشت. فشار خون سیستمی و دیاستولی در زمان‌های ۲ و ۱۸ ساعت بعد تفاوت مشترک معنی‌دار داشت. میانگین مصرف مخدر تفاوت معنی‌داری نشان نداد. VAS رضایتمندی در هیچ زمانی معنی‌دار نبود.

References

1. Gibbs RS. Danforth's obstetrics and gynecology. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2008. p. 425-53.
2. Nichols DH, Clarke-Pearson DL. Gynecologic,

- obstetric, and related surgery. 2nd ed. Boston, MA: Mosby; 2000.
3. Miller RD. Anesthesia. 6th ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone; 2014.
 4. Jabalameli M, Aram S, Shahbazi M, Parvaresh M, Taheri S. Comparison of intranasal versus intravenous pethidine for pain relief after cesarean section. *Zahedan J Res Med Sci* 2011; 13(6): 8-12. [In Persian].
 5. Cunningham FG. Williams obstetrics. 22th ed. New York, NY: McGraw Hill Professional; 2005.
 6. Munishankar B, Fettes P, Moore C, McLeod GA. A double-blind randomised controlled trial of paracetamol, diclofenac or the combination for pain relief after caesarean section. *Int J Obstet Anesth* 2008; 17(1): 9-14.
 7. Birnbach DJ, Browne IM. Anesthesia for obstetrics. In: Miller RD, Editor. *Miller's Anesthesia*. 6th ed. London, UK: Churchill Livingstone; 2010. p. 1217.
 8. Hassani V, Manouchehripour M, Nojoomi M. Study of the Effects of Intravenous Paracetamol with Different Doses on Opioid Sparing during and after Upper Limb Surgeries. *Razi j Med Sci* 2008; 15(58): 109-15. [In Persian].
 9. Arab M, Manouchehri N, Khatibian P, Nikoseresht M. The effect of bupivacaine infiltration on post cesarean section pain, nausea and vomiting in patients under spinal anesthesia. *Sci J Hamdan Univ Med Sci* 2006; 13(2): 18-22. [In Persian].
 10. Akhlaghi F, Alipour T. Comparison of suppository diclofenac and oral acetaminophen codeine in pain relief after episiotomy. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2010; 13(5): 20-4. [In Persian].
 11. Liu K, Hsu CC, Chia YY. Effect of dexamethasone on postoperative emesis and pain. *Br J Anaesth* 1998; 80(1): 85-6.
 12. Alhashemi JA, Alotaibi QA, Mashaat MS, Kaid TM, Mujallid RH, Kaki AM. Intravenous acetaminophen vs oral ibuprofen in combination with morphine PCIA after Cesarean delivery. *Can J Anaesth* 2006; 53(12): 1200-6.
 13. Kardash KJ, Sarrazin F, Tessler MJ, Velly AM. Single-dose dexamethasone reduces dynamic pain after total hip arthroplasty. *Anesth Analg* 2008; 106(4): 1253-7, table.
 14. Kilicaslan A, Tuncer S, Yuceaktas A, Uyar M, Reisli R. The effects of intravenous paracetamol on postoperative analgesia and tramadol consumption in cesarean operations. *Agri* 2010; 22(1): 7-12.
 15. van der Marel CD, Peters JW, Bouwmeester NJ, Jacqz-Aigrain E, van den Anker JN, Tibboel D. Rectal acetaminophen does not reduce morphine consumption after major surgery in young infants. *Br J Anaesth* 2007; 98(3): 372-9.
 16. Hahn TW, Mogensen T, Lund C, Jacobsen LS, Hjortsoe NC, Rasmussen SN, et al. Analgesic effect of I.V. paracetamol: possible ceiling effect of paracetamol in postoperative pain. *Acta Anaesthesiol Scand* 2003; 47(2): 138-45.

Preventive Effects of Intravenous Paracetamol in Post-Partum Pain of Elective Cesarean Delivery with Spinal Anesthesia

Mitra Jabalameli MD¹, Leila Goudarzi²

Original Article

Abstract

Background: Concerning the importance of pain control after cesarean section delivery taking pain analgesic to reduce post-surgery pain is important. The aim of this study was evaluating the preventive effect of intravenous paracetamol in postpartum pain of elective cesarean delivery with spinal anesthesia.

Methods: In this double-blinded clinical trial study, nulliparous pregnant women admitted to Shahid Beheshti hospital, Isfahan, Iran, for elective caesarean section in 2012 were included. 70 nulliparous women were randomly assigned and divided into two groups of 35. The patient was anesthetized in a sitting position, at the level of L3-L4. Patients (case group) received 1 g paracetamol in 100 ml normal saline or (control group) 100 ml normal saline, in 20 minutes via injecting. The sedation score, pain (visual analogue scale), heart rate, mean amount of used analgesic (pethedine), mean, systolic and diastolic blood pressure, nausea and vomiting were observed and recorded during the surgery and recovery each 15 minutes till 1 hour and then hourly for 24 hours after the operation in ward. For quantitative variables, Mann-Whitney and independent-t tests were used for statistical analysis.

Findings: During the surgery, the incidence of vomiting and the pain were not significantly different in any time between the two groups. The mean heart rate at the 0 and 5th minutes, during the surgery, was not significantly different; but at the 15th, 30th and 45th minutes, the mean heart rate was significantly higher in the control group ($P < 0.001$). In recovery, at the 0, 15th, 45th and 60th minutes, the pain was significantly lower among the case group ($P < 0.001$). But, there was no significant difference at the 30th minute. Patient satisfaction was not significantly different in the case and control groups.

Conclusion: The findings of this study indicate that the use of intravenous paracetamol is effective in reducing postoperative pain and reduces the need for drugs.

Keywords: Paracetamol, Caesarean section, Spinal anesthesia

Citation: Jabalameli M, Goudarzi L. Preventive Effects of Intravenous Paracetamol in Post-Partum Pain of Elective Cesarean Delivery with Spinal Anesthesia. J Isfahan Med Sch 2014; 32(296): 1227-37

1- Associate Professor, Department of Anesthesiology, 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: Mitra Jabalameli MD, Email: jabalameli@med.mui.ac.ir

تأثیر کلونیزاسیون هلیکوباکتریلوری بر سلول‌های شبه کرومافین و مولد گاسترین در معده‌ی موش صحرایی

محمدعلی رضایی^۱، دکتر محمدجعفر رضایی^۲، دکتر محمدرضا رحمانی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سلول‌های شبه کرومافینی (Enterochromaffin like cells یا ECL cells) و سلول‌های مولد گاسترین (G یا Gastrin) نقش مهمی در عملکرد بافت معده دارند. کلونیزه شدن هلیکوباکتریلوری در معده بر عملکرد و تعداد این سلول‌ها مؤثر است. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر میان مدت (۲۰ هفته‌ای) کلونیزاسیون هلیکوباکتریلوری بر سلول‌های ECL و G در معده‌ی موش صحرایی بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی آزمایشگاهی، ۱۰ سر موش صحرایی به صورت تصادفی در دو گروه مورد و شاهد قرار گرفتند. موش‌های گروه‌های مورد و شاهد به ترتیب هلیکوباکتریلوری و PBS (Phosphate buffered saline) را به مدت ۲۰ هفته از طریق گاواژ دریافت کردند. پس از این زمان، کلونیزاسیون باکتری و خصوصیات هیستوپاتولوژی بافت معده با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین و گیمسا مورد بررسی قرار گرفت. سلول‌های ECL و G بافت معده‌ی موش‌ها در دو گروه به ترتیب با رنگ‌آمیزی نقره و روش ایمونوهیستوشیمی بررسی شد.

یافته‌ها: ۲۰ هفته پس از گاواژ هلیکوباکتریلوری، کلونیزاسیون باکتری در بافت معده‌ی موش صحرایی با رنگ‌آمیزی گیمسا تأیید شد. در گروه مورد، تغییرات هیستوپاتولوژی شامل دیس ارگانیزاسیون اپی‌تلیومی، واکوتلیزاسیون اپی‌تلیومی، بی‌نظمی در فضای لامینار پروپریا و اپی‌تلیوم معده با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین مشاهده شد. رنگ‌آمیزی نقره نشان داد که میانگین تعداد سلول‌های ECL در گروه‌های مورد و شاهد به ترتیب $11/76 \pm 1/79$ و $8/35 \pm 1/34$ سلول در واحد حجم بود ($P < 0/001$). میانگین تعداد سلول‌های G در رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی نیز در گروه‌های مورد و شاهد به ترتیب $6/74 \pm 1/21$ و $3/65 \pm 0/84$ سلول در واحد حجم بود ($P < 0/001$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که با کلونیزاسیون هلیکوباکتریلوری در معده‌ی موش صحرایی در مراحل قبل از القای سرطان در معده، آسیب‌های بافتی دیس ارگانیزاسیون و واکوتلیزاسیون اپی‌تلیومی، بی‌نظمی در فضای لامینار پروپریا و اپی‌تلیوم معده رخ می‌دهد و تعداد سلول‌های ECL و G افزایش می‌یابد.

واژگان کلیدی: هلیکوباکتریلوری، سلول شبه کرومافینی، سلول مولد گاسترین، ایمونوهیستوشیمی

ارجاع: رضایی محمدعلی، رضایی محمدجعفر، رحمانی محمدرضا. تأثیر کلونیزاسیون هلیکوباکتریلوری بر سلول‌های شبه کرومافین و

مولد گاسترین در معده‌ی موش صحرایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۶): ۱۲۴۹-۱۲۳۸

۱- مربی، گروه ایمنی‌شناسی و خون‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۲- دانشیار، گروه آناتومی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۳- دانشیار، گروه ایمنی‌شناسی و خون‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، سنندج، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

مقدمه

سرطان معده از مهم‌ترین سرطان‌ها در جوامع مختلف به شمار می‌رود و میزان مرگ و میر آن بالا است (۱-۲). این سرطان در کشورهای در حال توسعه از جمله ایران نسبت به کشورهای پیشرفته شیوع بیشتری را نشان می‌دهد (۲-۳). عوامل متعددی در ایجاد سرطان معده نقش دارند که یکی از مهم‌ترین این عوامل، عفونت معده با باکتری هلیکوباکتریپیلوری است (۴-۵). عفونت هلیکوباکتریپیلوری در ردیف مهم‌ترین عوامل سرطان‌زا معرفی شده است (۶). در کشورهای در حال توسعه مانند ایران، میزان عفونت به این باکتری به صورت کلی ۶۰-۷۰ درصد می‌باشد (۷). کلونیزاسیون هلیکوباکتریپیلوری در معده سبب ایجاد تغییرات تخریبی در بافت می‌شود و یکی از شایع‌ترین این تغییرات، گاستریت آتروفی است (۸).

با وجود مطالعات متعددی که در زمینه‌ی خصوصیات هیستوپاتولوژی سرطان معده صورت گرفته است، هنوز مکانیسم‌های آغازین سرطان معده مورد بحث است. در خصوص وقایع سلولی ایجاد سرطان مرتبط با کلونیزاسیون هلیکوباکتریپیلوری، اطلاعات زیادی در دست نیست. نکته‌ی مهمی که باید مورد توجه قرار گیرد، این است که کلونیزاسیون باکتری در محیط اسیدی معده انجام نمی‌گیرد و عملکرد صحیح سلول‌های پاریتال به عنوان سلول‌های مولد اسید، مانع از کلونیزاسیون این باکتری و عوارض ناشی از آن می‌شود (۹-۱۰).

در مدل حیوانی، عفونت هلیکوباکتریپیلوری در معده‌ی موش صحرائی در میان مدت و قبل از القای سرطان، تغییرات تخریبی در سلول‌های پاریتال معده را باعث شده است (۱۰-۱۱). در این مطالعات، اثر

هلیکوباکتریپیلوری بر سایر سلول‌های مهم بافت معده مانند سلول‌های ECL (Enterochromaffin like cells) و G (Gastrine) مورد بررسی قرار نگرفته است و راجع به تغییرات احتمالی این سلول‌ها طی کلونیزاسیون و عفونت این باکتری اطلاعات قابل توجهی در دست نیست.

سلول‌های پاریتال از سلول‌های غددی معده محسوب می‌شوند. این سلول‌ها در پاسخ به هیستامین مترشح‌ه از سلول‌های ECL از طریق گیرنده‌های H₂، اسید ترشح می‌کنند. در صورتی که سلول‌های پاریتال دچار آسیب شوند، سلول‌های مولد گاسترین (یکی از انواع ECL) به صورت جبرانی گاسترین بیشتری را تولید می‌کنند که هایپرگاسترینمی را ایجاد می‌کند. گاسترین با اثر بر سلول‌های ECL، آن‌ها را وادار به ترشح هیستامین می‌کند. از آن جا که گاسترین اثرات تروفیکی دارد، می‌تواند باعث تکثیر سلول‌های اپی‌تلیالی مخاط معده شود و یکی از عوامل مستعد کننده‌ی ایجاد سرطان باشد (۱۲-۱۳).

سلول‌های ECL نوعی از سلول‌های غددی اندوکرینی معده هستند و در حدود ۳-۱ درصد حجم اپی‌تلیومی نواحی معده را تشکیل می‌دهند. این سلول‌ها، ارتباطات پاراکرینی با سلول‌های پاریتال دارند و مطالعاتی که در سرطان‌های دستگاه گوارش صورت گرفته است، نشان داده است که در روند سرطانی شدن معده، سلول‌های ECL نیز نقش دارند و ۱۷-۷۵ درصد سرطان‌های دستگاه گوارش، همراه با کارسینوئید معده است (۱۴). سلول‌های ECL سلول‌های حساسی هستند و جمعیت آن‌ها در پاسخ به التهاب معده و ناکارایی سلول‌های پاریتال، افزایش می‌یابد (۱۵).

مورد (هر گروه ۱۰ سر)، تقسیم و در قفس‌های حاوی آب و مواد غذایی اتوکلاو شده نگهداری شدند (۲۰-۱۹). این پژوهش بر اساس قوانین بین‌المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. سویه‌ی هلیکوباکتریلوری از مرکز انستیتو پاستور تهران تهیه شد. با استفاده از محیط کشت بروسلا آگار (Merck, Germany) حاوی ۵-۷ درصد خون تازه‌ی گوسفندی و تحت شرایط میکروآئروفیل در دمای 37°C به مدت ۵-۷ روز، باکتری کشت داده شد (۱۱).

از کشت تازه‌ی هلیکوباکتریلوری رشد یافته روی محیط بروسلا آگار دارای ۵ درصد خون گوسفندی، برای تهیه‌ی سوسپانسیونی به میزان 1×10^9 CFU/ml در بافر PBS (Colony forming unit/milliliter) استفاده گردید. (Phosphate buffered saline) استفاده گردید. ۰/۱ ml از این سوسپانسیون برای گاوآژ به موش صحرائی در نظر گرفته شد (۱۸، ۱۱).

به موش‌های صحرائی گروه مورد، ۰/۱ ml از سوسپانسیون میکروبی که حاوی 1×10^8 هلیکوباکتریلوری سه بار در روز، یک روز در میان به مدت ۲۰ هفته گاوآژ شد. گروه شاهد نیز با همین شرایط با محلول PBS استریل گاوآژ گردید. پس از بیست هفته، موش‌ها با استفاده از اتر بیهوش شدند و از معده‌ی موش‌های شاهد و مورد برای انجام آزمایش‌های بعدی نمونه‌برداری شد (۱۸، ۱۱).

برای تأیید عفونت موش‌های گروه مورد با هلیکوباکتریلوری، حدود 3 mm^3 از آتروم معده در انحنای بزرگ‌تر معده برداشته شد و با استفاده از 0.1 mol/l PBS استریل، هموژنیزه شد. بخشی از نمونه‌ی یکنواخت شده، روی محیط بروسلا آگار

سلول‌های ECL در اثر جراحی معده، تغییرات pH و حضور غذا تحریک می‌شوند و شروع به فعالیت می‌کنند. یکی از سلول‌های ECL، سلول مولد گاسترین است که به عنوان سلول G شناخته می‌شود. این سلول‌ها به دلیل ترشح گاسترین (به عنوان عامل رشد) شاید در روند تکثیر، متاپلازی و سرطانی شدن بافت‌های اپی‌تلیالی معده نقش مهمی دارند و یافته‌ها دال بر آن است که در بیمارانی که دچار کارسینوئید معده هستند، جمعیت سلول‌های ECL افزایش می‌یابد. به ویژه به دنبال هایپرگاسترینمی، هایپرپلازی سلول‌های ECL به میزان بیشتری رخ می‌دهد (۱۷-۱۶).

در مدل‌های حیوانی نشان داده شده است که کلونیزاسیون هلیکوباکتریلوری در دراز مدت و در زمان بیش از ۴۰ هفته، منجر به تکثیر سلول‌های ECL معده و در نهایت آدنوکارسینوما و کارسینوئید معده می‌شود (۱۹-۱۸)، اما در خصوص تأثیر میان مدت کلونیزاسیون هلیکوباکتریلوری بر سلول‌های ECL و سلول‌های گاسترین معده، با وجود نقش مهم این سلول‌ها در عملکرد بافت معده، گزارشی یافت نشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات میان مدت کلونیزاسیون هلیکوباکتریلوری بر سلول‌های ECL و سلول‌های گاسترین معده‌ی موش صحرائی بود.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی، موش صحرائی ماده‌ی بالغ نژاد اسپراگ-داولی ۸-۶ هفته‌ای در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۰۰ g از مؤسسه‌ی رازی خریداری و در شرایط استاندارد نور و دما در حیوان‌خانه‌ی دانشگاه علوم پزشکی کردستان تا زمان آزمایش نگهداری شدند. موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه شاهد و

و به منظور توقف فعالیت پراکسیداز داخلی، از آب اکسیژنه‌ی ۳ درصد به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد.

به منظور خنثی کردن پروتئین‌های اضافی، محلول آلبومین سرم گاوی (Bovine serum albumin یا BSA) ۲ درصد (پارس توس، ایران) به کار برده شد و بعد نمونه‌ها به مدت یک شب با آنتی‌بادی اولیه‌ی اختصاصی ضد گاسترین موشی (Abcam, England) با رقت ۱/۲۵۰ و در دمای ۴°C انکوبه شدند. پس از این زمان شستشو صورت گرفت و آنتی‌بادی ثانویه (Abcam, England) با رقت ۱/۶۰۰ به مدت ۱ ساعت اضافه شد. پس از شستشو، نمونه‌ها در محلول دی‌آمینو بنزیدین (DAB) یا (۳,۳'-Diaminobenzidine) (Roche, Germany) به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شدند و رنگ‌آمیزی مخالف با همتوکسیلین صورت گرفت. سلول‌های بیان‌کننده‌ی پروتئین گاسترین در دو گروه مورد و شاهد شمارش شدند.

در برش‌های بافتی گروه شاهد منفی، تمام مراحل بالا غیر از اضافه کردن آنتی‌بادی اولیه انجام شد. برش‌های بافتی معده‌ی موش صحرایی بدون دریافت باکتری و PBS هم به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد.

جهت مطالعات مورفومتریک، از میکروسکوپ نوری با استفاده از گراتیکول صفحه‌ی شطرنجی West و با بزرگنمایی ۲۰۰ (۲۰ عدسی شیئی و ۱۰ گراتیکول)، هفت فیلد در هفت برش سریال با ضخامت ۶ μm و با تناوب ۱ به ۳ مورد بررسی قرار گرفت. مساحت هر فیلد ۱۲۰۰۰ μm^۲ و حجم هر فیلد ۷۲۰۰۰ μm^۳ بود. تعداد سلول‌های ECL و سلول‌های بیان‌کننده‌ی پروتئین گاسترین در

دارای آنتی‌بیوتیک‌های وانکومایسین (۲۰ mg/ml (Merck, Germany)، نالیدیکسیک اسید (۱۰ mg/ml (Merck, Germany)، باکتریوسین (۳۰ mg/ml (Merck, Germany) و آمفوتریسین B (۲ mg/ml (Merck, Germany) کشت داده شد و به مدت ۵ روز در شرایط میکروآنروفیل انکوبه گردید. برای تشخیص هلیکوباکتریپیلوری از رنگ‌آمیزی گرم استفاده شد. همچنین روی کلی‌های رشد یافته، فعالیت اوره‌آزی، کاتالازی، اکسیدازی، مقاومت در برابر نالیدیکسیک اسید، عدم تولید SH₂ (Src Homology ۲) بررسی و آزمایش اندول انجام شد (۱۱).

جهت بررسی‌های بافت‌شناسی، یک برش طولی از معده در امتداد خم بزرگ معده از مری تا دوازدهه، داده شد و نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. در نهایت، نمونه‌ها در برش‌هایی به ضخامت ۶ μm جهت مطالعات بافت‌شناسی تهیه شدند. اسلایدها با رنگ‌های همتوکسیلین-ائوزین و گیمسا جهت مطالعات بافتی و وجود کلونیزاسیون باکتری رنگ‌آمیزی شدند. با استفاده از رنگ‌آمیزی نقره، نمونه‌های بافتی معده جهت تشخیص سلول‌های ECL رنگ‌آمیزی شدند (۲۱).

جهت بررسی بیان پروتئین گاسترین در برش‌های بافتی معده، از تکنیک ایمونوهیستوشیمیایی استفاده شد. از بلوک‌های بافتی در پارافین جامد مقاطعی به ضخامت ۶ μm تهیه و روی لام‌های سیالنیزه (Sigma, USA) از قبل آماده شده، قرار داده شدند. سپس اسلایدها در فور در دمای ۶۰°C قرار گرفتند و در سه مرحله پارافین‌زدایی و آب‌دهی شدند. در مرحله‌ی بازبایی آنتی‌ژن، برش‌های بافتی در بافر سترات به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۹۵°C قرار داده شد

گروه‌های مورد و شاهد شمارش شد.

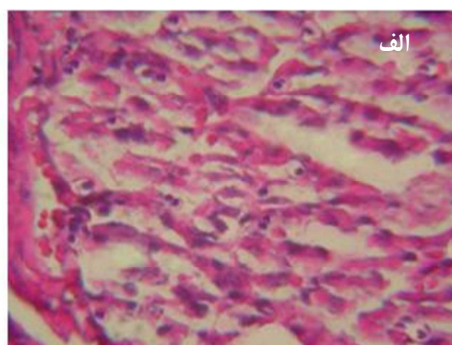
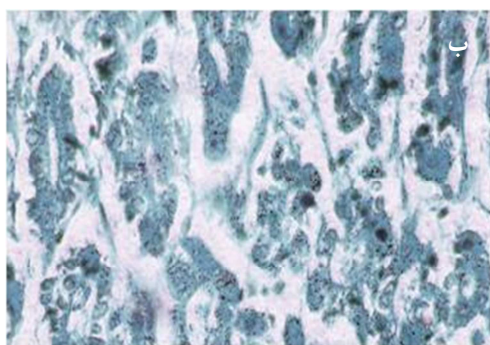
داده‌ها وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۲ (version 12, SPSS Inc., Chicago, IL) شد و با آزمون آماری t ، میانگین تعداد سلول‌ها در هر گروه با هم مقایسه شد و $P \leq 0/050$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

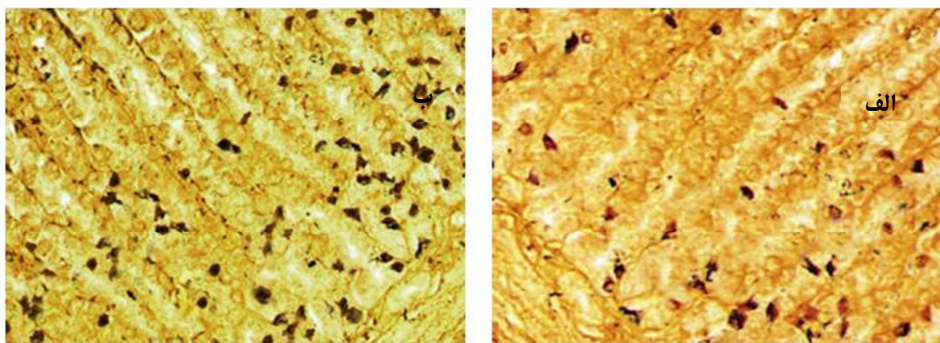
قطعات بافتی آنتروم معده‌ی هر دو گروه، در کیت سریع اوره‌آز در دمای اتاق به مدت ۶ ساعت فرار داده شد. در گروه مورد، آزمایش اوره‌آز مثبت شد؛ اما در گروه شاهد هیچ تغییری در رنگ کیت اوره‌آز مشاهده نشد. فعالیت اکسیدازی و کاتالازی کلنی‌های حاصل از کشت معده‌ی گروه مورد، مثبت بودند. همچنین بررسی مورفولوژی باکتری‌ها، رنگ‌آمیزی گرم و عدم تولید SH_2 و آزمایش اندول منفی، دلیل بر وجود هلیکوباکتریپیلوری در گروه مورد بود. در بررسی هیستولوژی گروه شاهد، بافت معده نمایی طبیعی داشت و همه‌ی لایه‌ها قابل تشخیص

بود. در لایه‌ی مخاطی، اپی‌تلیوم و در بخش غددی و به ویژه در قسمت‌های قاعده‌ای غدد، تعداد کمی سلول‌های ECL با ظاهری گلابی شکل با سیتوپلاسمی کم رنگ و هسته‌ای متراکم و رنگ پذیرتر از سایر سلول‌ها دیده شد (شکل ۱).

در بررسی هیستولوژی گروه مورد، کلونیزاسیون هلیکوباکتریپیلوری در مخاط معده با رنگ‌آمیزی گیمسا مشاهده شد. در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین، شواهدی از دیس ارگانیزاسیون اپی‌تلیومی، واکوئلیزاسیون اپی‌تلیومی، تکثیر سلول‌های گلاندولار، ریزش سلول‌های اپی‌تلیومی در فضای معده، بی‌نظمی در مرز بین لامینا پروپریا و اپی‌تلیوم معده و تهاجم سلول‌های غددی به ویژه در قسمت قاعده‌ای به لامینا پروپریا و لایه‌ی عضله‌ی مخاطی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد. در این بررسی‌ها، همچنین ارتشاح لکوسیت‌های تک هسته‌ای و چند هسته‌ای در لایه‌ی مخاطی مشاهده شد و در لایه‌ی آستر مخاط و زیر مخاطی معده در گروه مورد، پرخونی مشهود بود (شکل ۱).

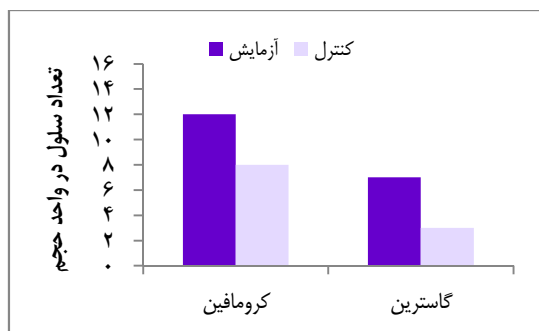


شکل ۱. نتایج رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین-اوتوزین و گیمسا در برش‌های بافتی معده. موش‌هایی که هلیکوباکتریپیلوری را ۲۰ هفته از طریق گاواژ دریافت کرده بودند (گروه مورد). الف: نمای هیستولوژیک بافت معده در رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین-اوتوزین در گروه مورد که در آن واکوئلیزاسیون و دیس ارگانیزاسیون اپی‌تلیومی در لایه‌ی مخاطی دیده می‌شود. ب: نمای بافت معده‌ی گروه مورد در رنگ‌آمیزی گیمسا. نقاط تیره کلونیزاسیون هلیکوباکتریپیلوری در اپی‌تلیوم لایه‌ی مخاطی را نشان می‌دهد (بزرگنمایی ۴۰، میکروسکوپ نوری).



شکل ۲. نتایج رنگ‌آمیزی نقره در برش‌های بافتی معده‌ی موش صحرایی در گروه شاهد که PBS (Phosphate buffered saline) به آن‌ها گواژ شده بود و گروه مورد که هلیکوباکتریپیلوری را ۲۰ هفته از طریق گواژ دریافت کرده بودند. الف) بافت معده در رنگ‌آمیزی نقره که نقاط تیره نشان دهنده‌ی سلول‌های نقره دوست می‌باشد. ب) بافت معده‌ی گروه مورد. سلول‌های ECL (Enterochromaffin like cells) مثبت به رنگ تیره علاوه بر حضور در نواحی قاعده‌ای بخش غددی مخاط معده در نواحی فوقانی تریپلیوم هم مشاهده می‌شوند. (بزرگنمایی ۴۰، میکروسکوپ نوری).

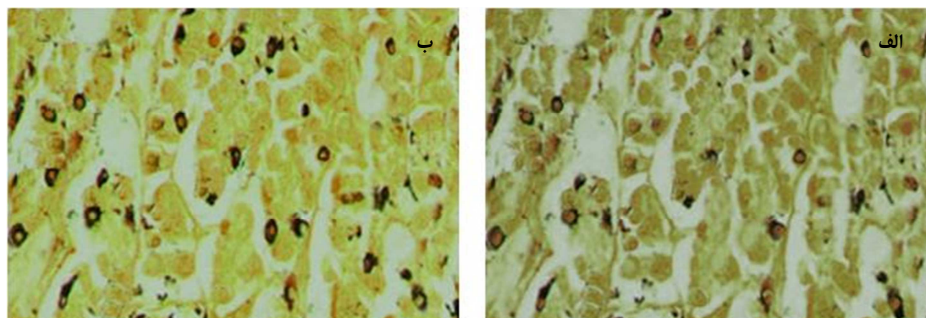
جمعیت سلول‌های گاسترین افزایش یافته است و این سلول‌ها علاوه بر نواحی قاعده‌ای غدد، در نواحی گردنی غدد معدی نیز مشاهده شدند (شکل ۴).



شکل ۳. نتایج مورفومتری شمارش سلول‌های ECL (Enterochromaffin like cells) و (Gastrine) G در برش‌های بافتی موش‌های گروه‌های شاهد و مورد که به ترتیب مدت ۲۰ هفته PBS (Phosphate buffered saline) و هلیکوباکتریپیلوری را از طریق گواژ دریافت کرده بودند. نتایج شمارش سلول‌های ECL پس از رنگ‌آمیزی نقره و همین‌طور سلول‌های G پس از انجام ایمونوهیستوشیمی که در نمودار به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده است. تعداد سلول‌های ECL و G در گروه مورد به شکل معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ($P < 0/050$).

در گروه شاهد، سلول‌های ECL در بخش غددی معده مشاهده شد. این سلول‌ها سیتوپلاسمی با نمایی تیره داشتند و بیشتر در نواحی قاعده‌ای غدد یافت شدند. در گروه مورد، مشاهدات کیفی نشان داد که جمعیت سلول‌های ECL افزایش یافته است. این سلول‌ها نه تنها در نواحی قاعده‌ای غدد، بلکه در نواحی نزدیک به گردن غدد معدی نیز مشاهده شدند (شکل ۲). بررسی‌های مورفومتری نشان داد که تعداد سلول‌های ECL در گروه‌های مورد و شاهد به ترتیب $11/76 \pm 1/79$ و $8/35 \pm 1/34$ سلول در واحد حجم بود که این افزایش تعداد سلول‌های ECL در گروه مورد نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود (شکل ۳) ($P < 0/001$).

نتایج ایمونوهیستوشیمی برش‌های بافتی معده برای سلول‌های G در گروه شاهد نشان داد که این سلول‌ها سیتوپلاسم قهوه‌ای رنگ داشتند و در نواحی قاعده‌ای غدد و به صورت پراکنده یافت می‌شدند. در گروه مورد، مشاهدات میکروسکوپی نشان داد که



شکل ۴. نتایج آزمایش ایمونوهیستوشیمی برای پروتئین گاسترین در برش‌های بافتی معده‌ی موش صحرایی در گروه‌های شاهد و مورد که به ترتیب PBS (Phosphate buffered saline) و هلیکوباکتری پیلوری را ۲۰ هفته از طریق گاواژ دریافت کرده بودند. الف) در برش‌های بافتی معده‌ی گروه شاهد سلول‌های گاسترین مثبت به صورت نقاط تیره مشخص شده است. ب) در گروه مورد، تعداد سلول‌های گاسترین مثبت در برش‌های بافتی نسبت به گروه شاهد افزایش نشان می‌دهد و این سلول‌ها در این گروه علاوه بر نواحی قاعده‌ای غدد در سایر نواحی اپی تلیوم غددی هم مشاهده می‌شود (بزرگنمایی ۴۰، میکروسکوپ نوری).

در دراز مدت (۴۰ هفته و بیشتر) در مدل حیوانی می‌تواند منجر به سرطان معده شود و سلول‌های ECL به دلیل دارا بودن عوامل رشد، می‌توانند در روند القای سرطان معده مؤثر باشند (۱۸-۱۹، ۸).

نتایج مطالعه‌ی حاضر، حاکی از آن است که تعداد سلول‌های ECL بافت معده‌ی موش صحرایی، ۲۰ هفته پس از کلونیزاسیون هلیکوباکتری پیلوری نسبت به گروه بدون دریافت هلیکوباکتری پیلوری افزایش نشان می‌دهد ($P < 0/001$). Cao و همکاران نشان دادند که عفونت هلیکوباکتری پیلوری معده در مدت بیش از ۵۰ هفته در مدل حیوانی، باعث ایجاد هایپرپلازی، دیس پلازی و کارسینوئید سلول‌های ECL می‌شود و پیشرفت این ضایعات به شکل معنی‌داری با سطح سرمی آنتی‌بادی‌های ضد هلیکوباکتری پیلوری ارتباط مستقیمی دارد (۱۹).

Zhao و همکاران نیز گزارش کردند که عفونت هلیکوباکتری پیلوری در معده‌ی موش C57BL/6J در مدت ۹ ماه باعث افزایش تعداد، هایپرتروفی و

بررسی‌های مورفومتری نشان داد که میانگین تعداد سلول‌های G در لایه‌ی اپی تلیالی معده به ترتیب در گروه‌های مورد و شاهد $1/21 \pm 6/74$ و $3/65 \pm 0/84$ سلول در واحد حجم بود ($P < 0/001$) (شکل ۳). نسبت سلول‌های G به کل سلول‌های ECL در گروه مورد $57/44$ درصد بود؛ در حالی که این نسبت در گروه شاهد $42/56$ درصد بود که این نسبت‌ها با هم تفاوت معنی‌دار نشان می‌دهد ($P < 0/001$).

بحث

نتایج این مطالعه تأثیر میان مدت کلونیزاسیون هلیکوباکتری پیلوری بر سلول‌های ECL بافت معده در موش صحرایی را نشان می‌دهد. در ارتباط با این اثر، گزارش‌های کمی وجود دارد و نتایج این مطالعه در روشن‌تر شدن اثرات عفونت هلیکوباکتری پیلوری بر سلول‌های ECL معده می‌تواند راهگشا باشد. کلونیزاسیون هلیکوباکتری پیلوری همراه با مواد شیمیایی

هایپرپلازی سلول‌های ECL می‌شود. همچنین در معده‌ی موش‌های دارای عفونت، تعداد سلول‌های پاریتال و همین‌طور ترشح اسید کاهش نشان می‌دهد (۱۸). در مدل حیوانی، درمان حذف عفونت هلیکوباکتریپیلوری باعث کاهش معنی‌دار سلول‌های ECL و مهار هایپرپلازی، دیس پلازی و نئوپلازی در این سلول‌ها می‌شود. در واقع، حذف عفونت هلیکوباکتریپیلوری در معده از ایجاد کارسینوئید جلوگیری می‌کند (۱۹).

روند ایجاد سرطان معده در مدل حیوانی و همین‌طور در انسان، روندی طولانی است. در مدل‌های حیوانی، عفونت طولانی مدت با هلیکوباکتریپیلوری (۴۰ هفته و بیشتر) تغییرات سرطانی و پیش سرطانی را در سلول‌های معده نشان می‌دهد (۸). مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که عفونت هلیکوباکتریپیلوری در میان مدت (۲۰ هفته) و قبل از ایجاد تغییرات سرطانی و پیش سرطانی، باعث افزایش تعداد سلول‌های ECL در معده‌ی موش صحرایی می‌شود.

آئینی و همکاران نشان دادند که کلونیزاسیون هلیکوباکتریپیلوری در معده‌ی موش صحرایی، موجب تغییرات تخریبی و پیش سرطانی اپی‌تلیوم مخاط معده، تخریب سلول‌های پاریتال و مرگ آپوپتوزی این سلول‌ها می‌شود (۱۱). ناکارایی سلول‌های پاریتال معده در تولید اسید، با یک مکانیسم جبرانی هایپرگاسترینمی را به دنبال دارد و گاسترین نیز به دلیل دارا بودن خاصیت تروفیکی در القای هایپرپلازی سلول‌های ECL و در نهایت، تومور نوروآندوکراین مؤثر است. به این ترتیب، ارتباط عملکردی بین سلول‌های پاریتال، سلول‌های ECL و به ویژه

سلول‌های مولد گاسترین وجود دارد (۲۳-۲۲). با توجه به این که گاسترین نقش مهمی در ایجاد تومورهای کارسینوئیدی دارد، در این مطالعه نشان داده شد که کلونیزاسیون هلیکوباکتریپیلوری در معده‌ی موش صحرایی در میان مدت باعث افزایش تعداد سلول‌های مولد گاسترین در لایه‌ی اپی‌تلیالی می‌شود ($P < 0/001$).

Sokic-Milutinovic و همکاران در بیمارانی با مشکلات معده که عفونت هلیکوباکتریپیلوری داشتند، نشان دادند که سطح گاسترین سرم آن‌ها و تعداد سلول‌های G معده بیشتر از بیماران بدون عفونت هلیکوباکتریپیلوری بود ($P < 0/050$). پس از درمان ریشه‌کنی عفونت هلیکوباکتریپیلوری در این بیماران، تعداد سلول‌های G معده و سطح گاسترین سرم به شکل معنی‌داری نسبت به قبل از درمان کاهش نشان می‌دهد (۲۴).

Liu و همکاران نشان دادند که در بیماران مبتلا به گاستریت و عفونت هلیکوباکتریپیلوری، تعداد سلول‌های G نسبت به بیماران مبتلا به گاستریت بدون عفونت هلیکوباکتریپیلوری و افرادی که هیستوپاتولوژی مخاط معده‌ی طبیعی داشتند، افزایش نشان می‌دهد. همچنین درصد سلول‌های G در کل سلول‌های اندوکراین معده در بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری نسبت به دو گروه دیگر، بیشتر بود (۲۵).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تعداد سلول‌های G در بافت معده‌ی موش‌های صحرایی آلوده به هلیکوباکتریپیلوری نسبت به موش‌های بدون عفونت هلیکوباکتریپیلوری، افزایش معنی‌دار نشان می‌دهد ($P < 0/001$). همچنین در موش‌های مبتلا

به عفونت هلیکوباکتریپیلوری، نسبت سلول‌های G به کل سلول‌های ECL ۵۷/۴۴ درصد بود؛ در حالی که این نسبت در گروه موش‌های بدون عفونت ۴۲/۵۶ درصد بود ($P < ۰/۰۰۱$). نتایج مطالعه‌ی حاضر و دو مطالعه‌ی پیش‌گفته، این موضوع را تأیید می‌کند که در نمونه‌های انسانی و حیوانی، عفونت هلیکوباکتریپیلوری باعث افزایش تعداد سلول‌های G در بافت معده می‌شود و نکته‌ای که مطالعه‌ی حاضر به آن اشاره می‌کند، این است که عفونت میان مدت هلیکوباکتریپیلوری در معده‌ی موش صحرائی موجب افزایش سلول‌های G می‌شود و سایر مطالعات، اثر میان مدت عفونت مورد بررسی قرار نگرفته است.

Cao و همکاران نشان دادند که در مدل حیوانی عفونت هلیکوباکتریپیلوری، سطح گاسترین سرم افزایش نشان می‌دهد که این افزایش با ایجاد هایپرپلازی، دیس پلازی و کارسینوئید سلول‌های ECL در معده ارتباط معنی‌دار نشان می‌دهد. پس از درمان ریشه‌کنی هلیکوباکتریپیلوری در مدل حیوانی، سطح گاسترین سرم کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد (۱۹).

Zhao و همکاران نقش گاسترین در پاسخ سلول‌های ECL و پاریتال معده به عفونت هلیکوباکتریپیلوری در موش C57BL/6J را بررسی کردند. آن‌ها موش‌ها را دو گروه قرار دادند و در یک گروه، ژن گاسترین تخریب شد ($Gastrin^{-/-}$) و در گروه دیگر ژن گاسترین به صورت طبیعی ($Gastrin^{+/+}$) وجود داشت. سپس به موش‌ها مدت ۹ ماه هلیکوباکتریپیلوری گاوژ شد. پس از این مدت، در موش‌های طبیعی دارای ژن طبیعی گاسترین با عفونت هلیکوباکتریپیلوری، میزان اسید و درصد سلول‌های پاریتال ترش‌حی نسبت به موش‌های بدون

عفونت کاهش نشان داد. همچنین موش‌های با عفونت هلیکوباکتریپیلوری، هیپرگاسترینمی داشتند و سلول‌های ECL دچار هایپرتروفی و هایپرپلازی شدند. در موش‌های تخریب ژن شده‌ی گاسترین، که عفونت هلیکوباکتریپیلوری داشتند، میزان اسید ۳ برابر موش‌های مشابه بدون عفونت بود و تعداد سلول‌های پاریتال و ECL معده در موش‌های با ژن تخریب شده‌ی گاسترین با عفونت هلیکوباکتریپیلوری تغییری نشان نداد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اثر عفونت هلیکوباکتریپیلوری بر تعداد سلول‌های ECL و پاریتال به واسطه‌ی ژن گاسترین و محصول آن در معده صورت می‌گیرد (۱۸).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز نشان می‌دهد که در عفونت میان مدت هلیکوباکتریپیلوری در معده، تعداد سلول‌های مولد گاسترین افزایش می‌یابد که می‌تواند به دنبال آن گاسترینمی را به دنبال داشته باشد؛ این افزایش گاسترین باعث تکثیر سلول‌های ECL و تغییرات آن‌ها می‌شود.

در مجموع، این مطالعه نشان داد که تعداد سلول‌های ECL و G معده در هفته‌ی ۲۰ پس از گاوژ هلیکوباکتریپیلوری که دوره‌ی پیش سرطانی سلول‌های معده است، افزایش نشان می‌دهد. این یافته می‌تواند نقش سلول‌های ECL و G در روند ایجاد سرطان معده را آشکار نماید.

در پایان پیشنهاد می‌شود که مطالعات بعدی روی شناسایی مکانیسم‌های درگیر در روند تکثیر سلول‌های ECL و G انجام شود و همچنین عوامل مؤثر در روند مهار تکثیر سلول‌های ECL و گاسترین پس از کلونیزاسیون هلیکوباکتریپیلوری در معده مورد توجه قرار گیرد.

پزشکی کردستان انجام شد. پژوهشگران بدین وسیله از ایشان تشکر و قدردانی به عمل می آورند. در نهایت برای مرحوم یوسف مطهری‌نیا کارشناس ارشد میکروب شناسی، که در انجام کار با هلیکوباکتریپیلوری و انجام آزمایش‌های تأییدی در این پژوهش همکاری داشتند، طلب آمرزش می‌نماییم.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی با شماره‌ی ۱۴/۳۹۶۰ در معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان تصویب و تأمین مالی شد. کار عملی و آزمایش‌ها در مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، گروه‌های علوم تشریح و ایمنی‌شناسی دانشگاه علوم

References

1. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12(3): 354-62.
2. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61(2): 69-90.
3. World Health Organization, Department of Injuries and Violence Prevention. Injuries, violence and disabilities biennial report, 2004-2005. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2006.
4. Kandulski A, Selgrad M, Malfertheiner P. Helicobacter pylori infection: a clinical overview. *Dig Liver Dis* 2008; 40(8): 619-26.
5. Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T. Helicobacter pylori infection in gastric cancerogenesis. *J Physiol Pharmacol* 2009; 60(3): 3-21.
6. Wen S, Moss SF. Helicobacter pylori virulence factors in gastric carcinogenesis. *Cancer Lett* 2009; 282(1): 1-8.
7. Khedmat H, Karbasi-Afshar R, Agah S, Taheri S. Helicobacter pylori Infection in the general population: A Middle Eastern perspective. *Caspian J Intern Med* 2013; 4(4): 745-53.
8. Wroblewski LE, Peek RM, Jr. Helicobacter pylori in gastric carcinogenesis: mechanisms. *Gastroenterol Clin North Am* 2013; 42(2): 285-98.
9. Hasegawa C, Ihara T, Sugamata M. Ultrastructural evaluation of apoptosis induced by Helicobacter pylori infection in human gastric mucosa: novel remarks on lamina propria mucosae. *Med Electron Microsc* 2000; 33(2): 82-8.
10. Neu B, Randlkofer P, Neuhofer M, Volland P, Mayerhofer A, Gerhard M, et al. Helicobacter pylori induces apoptosis of rat gastric parietal cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283(2): G309-G318.
11. Aeni F, Rezaie MJ, Motaharinia Y, Rezaee MA. The effect of helicobacter pylori colonization on parietal cells alteration in rat stomach. *Armaghane-danesh* 2012; 17(2): 102-10. [In Persian].
12. Christopoulos C, Papavassiliou E. Gastric neuroendocrine tumors: Biology and management. *Ann Gastroenterol* 2005; 18(2): 127-40.
13. Koh TJ, Chen D. Gastrin as a growth factor in the gastrointestinal tract. *Regul Pept* 2000; 93(1-3): 37-44.
14. Modlin IM, Lye KD, Kidd M. Carcinoid tumors of the stomach. *Surg Oncol* 2003; 12(2): 153-72.
15. Modlin IM, Lawton GP, Miu K, Kidd M, Luque EA, Sandor A, et al. Pathophysiology of the fundic enterochromaffin-like (ECL) cell and gastric carcinoid tumours. *Ann R Coll Surg Engl* 1996; 78(2): 133-8.
16. Burkitt MD, Varro A, Pritchard DM. Importance of gastrin in the pathogenesis and treatment of gastric tumors. *World J Gastroenterol* 2009; 15(1): 1-16.
17. Bektas M, Sarac N, Cetinkaya H, Toruner M, Erdemli E, Keskin O, et al. Effects of infection and long-term proton pump inhibitor use on enterochromaffin-like cells. *Ann Gastroenterol* 2012; 25(2): 123-7.
18. Zhao CM, Wang X, Friis-Hansen L, Waldum HL, Halgunset J, Wadstrom T, et al. Chronic Helicobacter pylori infection results in gastric hypoacidity and hypergastrinemia in wild-type mice but vagally induced hypersecretion in gastrin-deficient mice. *Regul Pept* 2003; 115(3): 161-70.
19. Cao L, Mizoshita T, Tsukamoto T, Takenaka Y, Toyoda T, Cao X, et al. Development of carcinoid tumors of the glandular stomach and effects of eradication in Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9(1): 25-30.
20. Hu PJ, Yu J, Zeng ZR, Leung WK, Lin HL, Tang BD, et al. Chemoprevention of gastric

- cancer by celecoxib in rats. *Gut* 2004; 53(2): 195-200.
21. Bancroft JD, Gamble M. *Theory and practice of histological techniques*. 5th ed. Churchill Livingstone; 2002. p. 350-1, 729-49.
22. Zhao CM, Chen D. The ECL cell: relay station for gastric integrity. *Curr Med Chem* 2012; 19(1): 98-108.
23. Chandra SA, Nolan MW, Malarkey DE. Chemical carcinogenesis of the gastrointestinal tract in rodents: an overview with emphasis on NTP carcinogenesis bioassays. *Toxicol Pathol* 2010; 38(1): 188-97.
24. Sokic-Milutinovic A, Todorovic V, Milosavljevic T, Micev M, Drndarevic N, Mitrovic O. Gastrin and antral G cells in course of *Helicobacter pylori* eradication: six months follow up study. *World J Gastroenterol* 2005; 11(27): 4140-7.
25. Liu Y, Vosmaer GD, Tytgat GN, Xiao SD, Ten Kate FJ. Gastrin (G) cells and somatostatin (D) cells in patients with dyspeptic symptoms: *Helicobacter pylori* associated and non-associated gastritis. *J Clin Pathol* 2005; 58(9): 927-31.

The Effect of Helicobacter Pylori Colonization on Enterochromaffin-Like (ECL) Cell and Gastrin (G) Positive Cells in Rat Stomach

Mohammad Ali Rezaee MSc¹, Mohammad Jafar Rezaie PhD², Mohammad Reza Rahmani PhD³

Original Article

Abstract

Background: Enterochromaffin-like (ECL) cells have an important role in the gastric tissues. Helicobacter pylori (H. pylori) colonization has effect on function and the number of these cells. The aim of this study was to investigate the effect of 20-weeks Helicobacter pylori colonization on ECL and gastrin (G) positive cells in rat gastric tissues.

Methods: 10 rats were divided equally in two experimental and control groups. Then, Helicobacter pylori or phosphate buffered saline (PBS) were gavaged to experimental and control groups three times a week for 20 weeks, respectively. Bacterial colonization and histopathological features of gastric tissues were examined with hematoxylin-eosin and Giemsa stains. ECL and G cells were investigated in gastric tissues with silver staining and immunohistochemistry (IHC) methods.

Findings: After 20 weeks of gavage, Helicobacter pylori colonization was seen in the gastric tissues. Histopathological changes including epithelial disorganization, epithelial vacuolization, lamina propria and epithelium irregularities in the experimental group were seen. Silver staining showed that the mean number of ECL cells was 11.76 ± 1.79 and 8.35 ± 1.34 cells/volume unit in experimental and control groups, respectively ($P < 0.001$). Immunohistochemistry staining showed that mean number of G cells was 6.74 ± 1.21 and 3.65 ± 0.08 cells/volume unit in experimental and control groups, respectively ($P < 0.001$).

Conclusion: This study showed that colonization of Helicobacter pylori induces epithelial disorganization and vacuolization, lamina propria and epithelium irregularities in gastric tissues and also increases the number of ECL and G cells in these tissues.

Keywords: Helicobacter pylori, Enterochromaffin-like (ECL) cells, Gastrin producing (G) cell, Immunohistochemistry (IHC)

Citation: Rezaee MA, Rezaie MJ, Rahmani MR. The Effect of Helicobacter Pylori Colonization on Enterochromaffin-Like (ECL) Cell and Gastrin (G) Positive Cells in Rat Stomach. J Isfahan Med Sch 2014; 32(296): 1238-49

1- Instructor, Department of Immunology and Hematology, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

2- Associate Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

3- Associate Professor, Department of Immunology and Hematology, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

Corresponding Author: Mohammad Jafar Rezaie PhD, Email: rezaiemjafar@gmail.com

القای مدل بیماری پارکینسون توسط روتنون در موش صحرایی

آرمان رحیمی^۱، دکتر فرنوش خسروبخش^۲، دکتر اسماعیل ایزدپناه^۳، دکتر کامبیز حسنزاده^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: از دیرباز محققین برای شناخت بهتر بیماری پارکینسون و یافتن راهکارهای درمانی، اقدام به ایجاد مدل‌های حیوانی نموده‌اند و از آن جایی که به طور کلی تکرار پذیری آزمایش‌ها در حیوانات آزمایشگاهی همیشه با مشکلاتی همراه است، با آزمایش‌های رفتاری صحت مدل را تأیید می‌کنند. از این رو، هدف از پژوهش حاضر ایجاد یک مدل حیوانی صحیح و با قابلیت تکرار از بیماری پارکینسون می‌باشد.

روش‌ها: موش‌های صحرایی نر با وزن 400 ± 50 g و سن ۱۲-۱۰ ماه، دوزهای مختلف روتنون (۱، ۲، ۳ mg/kg) یا حامل آن را به صورت زیرجلدی هر ۴۸ ساعت یک بار دریافت نمودند. به منظور بررسی ایجاد مدل سه آزمایش رفتاری روتارود، ریرینگ و بار انجام شد.

یافته‌ها: دادن سم روتنون (۲ mg/kg) با فواصل زمانی ۴۸ ساعت، روشی کارآمد با میزان مرگ و میر پایین بود؛ به طوری که در این روش، القای مدت زمان حفظ تعادل در آزمایش روتارود و مهارت‌های حرکتی در آزمایش ریرینگ به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش یافت. از طرفی، میزان جمود عضلانی در آزمایش بار در حیوانات دریافت‌کننده روتنون در مقایسه با گروه دریافت‌کننده حامل به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش نشان داد. به علاوه، میزان همبستگی بین آزمایش‌های رفتاری، از لحاظ آماری مؤید ایجاد علائم رفتاری مدل بود.

نتیجه‌گیری: در میان دوزهای به کار رفته جهت القای پارکینسون، سم روتنون (۲ mg/kg) با فواصل زمانی ۴۸ ساعت بهترین روش با قابلیت تکرار بود.

واژگان کلیدی: بیماری پارکینسون، روتنون، روتارود، آزمایش

ارجاع: رحیمی آرمان، خسروبخش فرنوش، ایزدپناه اسماعیل، حسنزاده کامبیز. القای مدل بیماری پارکینسون توسط روتنون در موش

صحرایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۶): ۱۲۵۸-۱۲۵۰

مقدمه

بیماری پارکینسون یکی از رایج‌ترین اختلالات مربوط به تخریب سیستم اعصاب مرکزی و دومین بیماری رایج در دسته‌ی بیماری‌های تحلیل‌برنده‌ی اعصاب می‌باشد که در ۱ درصد افراد بالای ۶۰ سال و ۴ درصد افراد بالای ۸۰ سال رخ می‌دهد (۱). این بیماری به صورت کلاسیک با از دست رفتن

نورون‌های دوپامینرژیک مشخص می‌شود که در مغز میانی از ناحیه‌ی توده‌ی سیاه به جسم مخطط امتداد می‌یابند و آن را عصب‌دهی می‌کنند. در خلال بیماری پارکینسون، این سلول‌ها دچار مرگ سلولی و آپوپتوز می‌شوند (۲). نشانه‌های حرکتی بیماری پارکینسون نیز ناشی از مرگ همین سلول‌های تولیدکننده‌ی دوپامین در ناحیه‌ی توده‌ی سیاه است که از جمله‌ی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۲- استادیار، گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۴- استادیار، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

نکته‌ی حایز اهمیت در ایجاد مدل، تکرار پذیری و میزان موفقیت آن است و محقق باید شرایط ایجاد مدل را تا حد امکان بهینه نماید. در رابطه با مدل‌های القا شونده با سموم عصبی، این بهینه سازی باید در مواردی همچون دوز تزریق، تعداد تزریق‌ها، فواصل بین تزریق‌ها، طول دوره‌ی تزریق و سن حیوانات انجام شود. از این رو، محقق برای این که بدانند در مسیر درستی حرکت می‌کند، باید به منظور تأیید مدل، آزمایش‌های رفتاری اختصاصی را بر روی حیوانات انجام دهد. در میان مدل‌های حیوانی، مدل سیستمیک سم روتنون علایم رفتاری و فیزیوپاتولوژی بیماری پارکینسون را به طور نسبی شبیه‌سازی می‌کند (۱۱-۱۲). اما از آن جایی که به کارگیری این سم در مطالعات مختلف به روش‌های متفاوتی است و از یک پروتکل منسجم و استاندارد پیروی نمی‌کند، هدف از مطالعه‌ی حاضر ایجاد یک مدل حیوانی از بیماری پارکینسون توسط روتنون با اعتبار و تکرار پذیری بالا بود.

روش‌ها

حیوانات: در این آزمایش، ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن 400 ± 50 g و سن ۱۰-۱۲ ماه به صورت تصادفی انتخاب شدند. حیوانات در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس (۲ موش در هر قفس) و در سیکل شبانه‌روزی طبیعی نگهداری می‌شدند. غذای استاندارد و آب به مقدار کافی در دسترس حیوانات قرار داشت و دمای محیط 23 ± 2 °C بود.

گروه‌بندی حیوانات: گروه‌های مورد شامل گروه دریافت‌کننده‌ی روتنون با دوز ۱ mg/kg/۴۸h، گروه

آن‌ها می‌توان به رعشه، سفتی عضلات، کندگی و دشواری حرکت و گام برداشتن اشاره کرد (۳).

در مراحل بعدی و با پیشرفت بیماری، مشکلات شناختی و رفتاری و حتی زوال عقل نیز ممکن است بروز یابد (۳). پارکینسون بیماری مزمنی است که ممکن است پس از تشخیص، ۲۰-۱۰ سال به طول بینجامد و به تدریج پیشرفت کند و در نهایت، موجب مرگ بیمار شود (۳). با توجه به شیوع رو به گسترش این بیماری، یافتن راهکارهای درمانی مناسب جهت کنترل این بیماری از اهمیت به‌سزایی برخوردار است.

به منظور مطالعه‌ی بیماری پارکینسون و مکانیسم‌های مولکولی آن و نیز تغییرات رفتاری و پاتولوژیک در این بیماری، در دست داشتن مدل‌های حیوانی این بیماری ضروری است. از این رو، محققین اقدام به ایجاد مدل بیماری پارکینسون در حیوانات آزمایشگاهی نموده‌اند. روش‌های ایجاد مدل پارکینسونی به سه گروه اصلی مدل‌های ژنتیکی (۴)، مدل‌های ویروسی (۵-۷) و مدل‌های القا شده با سموم عصبی (۸) تقسیم‌بندی می‌شود.

روش اخیر نسبت به دو روش دیگر ارزان‌تر و ساده‌تر است و به همین دلیل، کاربرد بیشتری در بین محققین دارد. مهم‌ترین سموم این گروه عبارت از MPTP (1-methyl-2,3,4,5-tetrahydropyridine-1-phenyl) -۴- یا ۶-OHDA (۱-methyl-6-hydroxydopamine)، پاراکوات (Paraquat) و روتنون هستند. بر اساس مطالعات پیشین، استفاده از مدل‌های پاراکوات و روتنون به علت نزدیک‌تر بودن به شرایط واقعی گسترش یافته است (۹-۱۰).

در دقیقه بود که در آخرین روز، آموزش به ۱۵ دور در دقیقه رسید. آزمایش روتارود پیش از انجام تزریقات در روز اول و هر ۴۸ ساعت یک بار از روز پنجم به بعد اجرا شد (۱۳).

آزمایش ریرینگ: این آزمایش به منظور سنجش مهارت‌های حرکتی در موش‌ها اجرا شد. به طور طبیعی هنگامی که موش در یک محیط جدید و بسته قرار می‌گیرد، بر اساس رفتار جستجوگرانه‌ای که دارد، روی دو پا بلند می‌شود و با اندام‌های جلویی دیوارهای محیط را لمس می‌کند. عملکرد موش‌های مبتلا به پارکینسون در این آزمایش دچار افت می‌شود. برای انجام این آزمایش هر یک از موش‌ها جداگانه به مدت ۵ دقیقه در یک استوانه‌ی شیشه‌ای شفاف (۲۰ cm قطر و ۴۰ cm ارتفاع) قرار گرفتند و برای هر موش، تعداد دفعاتی را که روی دو پا بلند شد و یک یا هر دو دست را بالاتر از سطح شان‌هایش قرار داد و دیواره‌ها را لمس نمود، شمارش شد. عملکرد موش‌ها در زیر نور قرمز و یک محیط آرام، با یک دوربین ویدیویی فیلم برداری شد و بررسی و امتیازدهی آن توسط شخصی که نسبت به گروه‌های آزمایشی بی‌اطلاع بود، به انجام رسید (۱۱).
آزمایش بار: این آزمایش نیز به منظور سنجش جمود عضلانی در موش‌ها به انجام رسید. برای انجام آن، دو اندام جلویی حیوان بر روی میله‌ای به ارتفاع ۱۰ cm قرار داده شد (به عبارت دیگر، نصف ارتفاعی که حیوان در موقعیت ریرینگ دارد) و زمان تا هنگامی که حیوان یک یا هر دو دستش را از روی میله بر می‌داشت، نگه داشته می‌شد. نهایت زمانی که برای انجام این آزمایش در نظر گرفته شد (Cut-off time) ۱۸۰ ثانیه بود (۱۴).

دریافت کننده‌ی روتنون با دوز ۲ mg/kg/۴h، گروه دریافت کننده‌ی روتنون با دوز ۳ mg/kg/۴h و گروه دریافت کننده‌ی حامل روتنون با دوز ۱ ml/kg/۴h (گروه شاهد) بودند. در تمامی گروه‌ها، تزریقات به صورت زیرجلدی انجام شد و در هر گروه، ۸ سر موش قرار داشت.

مواد شیمیایی: جهت القای مدل پارکینسون از روتنون، روغن آفتابگردان و دی‌متیل سولفوکساید (شرکت سیگما، آمریکا) استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا روتنون در دی‌متیل سولفوکساید حل گردید و سپس در روغن آفتابگردان رقیق شد تا با دوزهای (۱، ۲، ۳ mg/kg) قابل تزریق باشد.

روش کار: به منظور القای بیماری پارکینسون، حیوانات سم روتنون را به صورت زیرجلدی با دوزهای (۱، ۲، ۳ mg/kg) با فواصل زمانی ۴۸ ساعت به مدت ۱۹ روز دریافت نمودند (۱۱). گروه شاهد نیز تنها حامل روتنون (ترکیب دی‌متیل سولفوکساید و روغن آفتابگردان) را با دوز ۱ ml/kg/۴h دریافت نمود.

روش انجام آزمایش‌های رفتاری

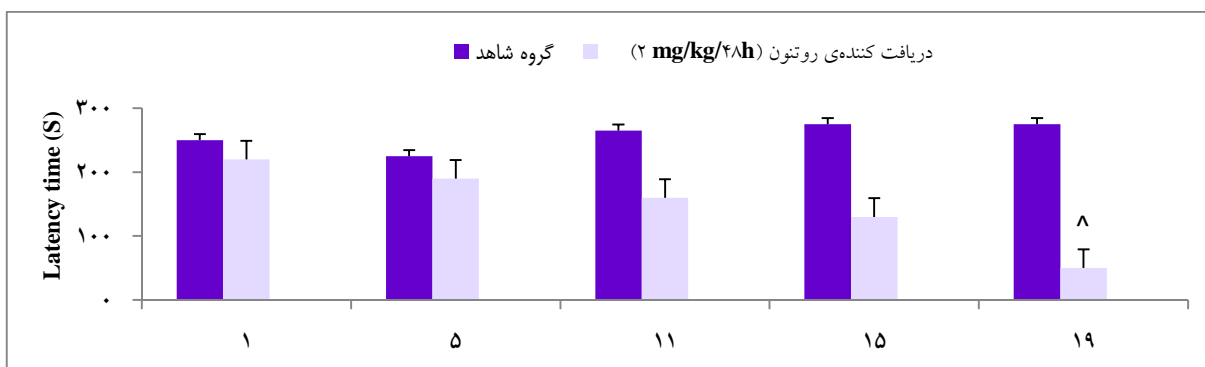
آزمایش روتارود: این آزمایش، یک آزمایش معتبر جهت ارزیابی آسیب‌های عصبی در جوندگان است و می‌تواند بارها برای یک حیوان تکرار شود تا قدرت عضلانی، هماهنگی اندام‌های قدامی و خلفی و تعادلش را سنجش نماید. در این مطالعه، تمامی موش‌ها قبل از شروع مطالعه تحت یک برنامه‌ی آموزشی ۵ روزه قرار گرفتند تا به یک عملکرد ثابت برسند. به این ترتیب که در هر روز، ۴ نوبت و هر نوبت به مدت ۳۰۰ ثانیه بر روی دستگاه در حال چرخش قرار می‌گرفتند. سرعت چرخش محور دستگاه در روز اول آموزش، ۱۱ دور

عضلانی و تعادل می‌باشد ($P < 0/050$). همچنین بر اساس شکل ۲، نتایج گویای افت معنی‌دار عملکرد در دو آزمایش ریرینگ ($P < 0/010$) و بار ($P < 0/001$) بود، که به ترتیب نشان دهنده‌ی کاهش مهارت‌های حرکتی و افزایش معنی‌دار جمود عضلانی در گروه دریافت‌کننده‌ی روتنون در مقایسه با گروه شاهد است. به علاوه، بررسی همبستگی بین دو این آزمایش رفتاری با آزمایش روتارود، در آزمون Spearman نشان داد که نتایج حاصل از آزمایش‌های رفتاری در این مدل با هم هماهنگ و مؤید همدیگر می‌باشند (شکل ۳-الف و ب)؛ به طوری که مشاهده می‌شود، با کاهش میزان تعادل و قدرت عضلانی در آزمایش روتارود، میزان مهارت‌های حرکتی نیز کاهش می‌یابد (شکل ۳-الف) و به موازات آن، میزان جمود عضلانی در آزمایش بار افزایش می‌یابد (شکل ۳-ب). همچنین بین سطح مهارت‌های حرکتی در آزمایش ریرینگ و جمود عضلانی در آزمایش بار، رابطه‌ی معکوسی وجود دارد؛ به این ترتیب که با کاهش مهارت‌های حرکتی میزان جمود عضلانی افزایش می‌یابد و بالعکس (شکل ۳-ج).

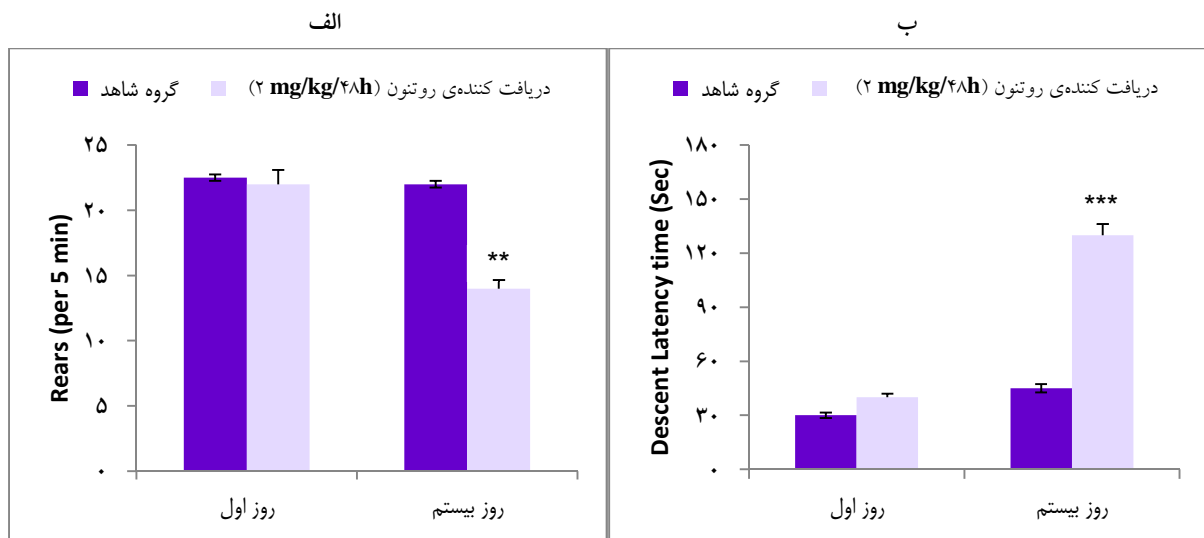
مقادیر یافته‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار تعریف شده‌اند. با توجه به این که توزیع داده‌ها طبیعی بود (نتایج آزمون Kolmogorov-Smirnov)، جهت آنالیز آماری نتایج گروه روتنون در هر روز با روز اول توسط آزمون t زوجی مقایسه شد. روزی که در آن تفاوت معنی‌دار با روز اول مشاهده شد، به عنوان زمان ایجاد مدل تلقی گردید و در این روز، نتایج با گروه حامل روتنون از طریق آزمون t مستقل مورد مقایسه قرار گرفت. به علاوه، میزان همبستگی آزمایش‌های رفتاری با استفاده از آزمون Spearman مورد بررسی قرار گرفت. $P < 0/050$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. تنها داده‌های مربوط به حیواناتی که تا پایان دوره زنده ماندند، در محاسبات لحاظ شدند.

یافته‌ها

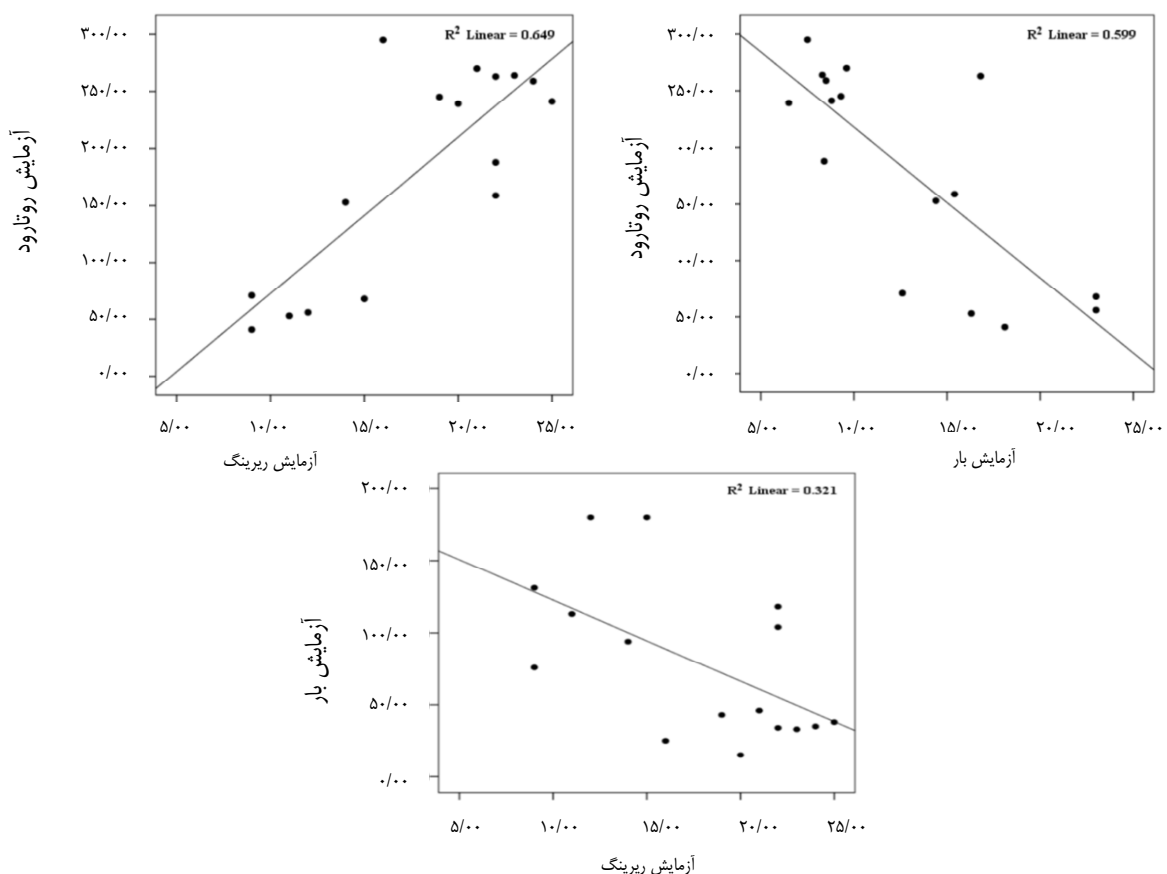
همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، نتایج حاکی از افت عملکرد گروه دریافت‌کننده‌ی روتنون در آزمایش روتارود در مقایسه با گروه شاهد بود؛ که به نوبه‌ی خود نشان دهنده‌ی کاهش معنی‌دار قدرت



شکل ۱. مقایسه‌ی عملکرد دو گروه شاهد و دریافت‌کننده‌ی روتنون با دوز ۲ mg/kg/۴۸h در آزمایش روتارود. $P < 0/010$ نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار گروه دریافت‌کننده‌ی روتنون در آن روز با روز اول در همان گروه می‌باشد. $P < 0/001$ نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (دریافت‌کننده‌ی حامل روتنون) می‌باشد.



شکل ۲. مقایسه‌ی عملکرد دو گروه شاهد و دریافت کننده روتنون با دوز ۲ mg/kg/۴۸h، الف) آزمایش ریرینگ ب) آزمایش بار. عملکرد دو گروه در روزهای ۱ و ۲۰ با همدیگر مقایسه شد. $P < 0/010$ *** و $P < 0/001$ ** نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه دریافت کننده روتنون با گروه شاهد (دریافت کننده حامل روتنون) است



شکل ۳. نمودار پراکنندگی نشان دهنده میزان همبستگی بین آزمایش‌های رفتاری: الف) روتارود- روتارود ب) روتارود- بار ج) ریرینگ- بار که همبستگی آنها به ترتیب در سطح معنی داری $P < 0/010$ **، $P < 0/010$ * و $P < 0/050$ * مثبت بود

نتایج مربوط به دوزهای دیگر

با تزریق زیرجلدی روتنون (1 mg/kg/4h) و با گذشت زمانی ۲ برابر زمانی که مدل با دوز ۲ mg/kg/4h ایجاد شد، هنوز هیچ‌گونه افت معنی‌داری در عملکرد حیوانات در آزمایش‌های رفتاری نسبت به روز اول خودشان و نیز گروه شاهد نشان نداد و از سویی، نتایج آزمایش‌های رفتاری بسیار متغیر و غیر قابل اعتماد بود و از این رو، از ادامه‌ی آن صرف نظر شد. با تزریق زیرجلدی روتنون (۳ mg/kg/4h) نیز میزان مرگ و میر به قدری بود که در همان هفته‌ی نخست، بیش از ۶۰ درصد حیوانات تلف شدند و علاوه بر افت شدید و ناگهانی عملکرد در آزمایش‌های رفتاری - که ناشی از اثرات غیر اختصاصی و محیطی سم روتنون بر دیگر اندام‌ها و دستگاه‌های بدن حیوانات بود و نتایج را نامعتبر می‌ساخت -، به علت پایین آمدن جامعه‌ی آماری و مسایل اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی، از ادامه‌ی تزریقات با این دوز مذکور خودداری گردید.

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر به طور کلی نشان داد که روتنون با دوز (۲ mg/kg/4h) سبب بروز اختلال حرکتی مشابه پارکینسون در حیوانات می‌شود. نتایج آزمایش‌های رفتاری حاکی از آن بود که تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده‌ی روتنون (۲ mg/kg/48h) در روزهای ۱۹ و ۲۰ وجود داشت. همچنین بین داده‌های به دست آمده از آزمایش روتارود در گروه شاهد در روز ۱۹ با داده‌های پایه (Baseline) در نخستین روز انجام

آزمایش تفاوت معنی‌داری وجود داشت که در مجموع، نشان می‌دهد که مدل پارکینسونی با موفقیت ایجاد شده است.

در مطالعه‌ی حاضر، از تزریق زیرجلدی و دراز مدت روتنون استفاده شد؛ چرا که این رویکرد، علاوه بر کاهش مرگ و میر در مقایسه با دیگر روش‌های سیستمیک، سبب بروز تدریجی علائم حرکتی بیماری پارکینسون و به حداقل رساندن تأثیرات غیر اختصاصی روتنون می‌شود (۱۵). به علاوه، در این بررسی موش‌های با سن بالا به کار برده شدند؛ چرا که نسبت به سم روتنون حساس‌تر بودند و مدل آن‌ها شباهت بیشتری با روند ایجاد بیماری در انسان داشت (۱۶).

مدل‌های حیوانی زیادی برای بیماری پارکینسون وجود دارد که هر کدام مزایا و معایبی دارند؛ اما مدل ایده‌آلی که بتواند تمامی ویژگی‌های کلینیکی و پاتولوژیک بیماری را شبیه‌سازی کند و به درستی تأثیر داروها و عوامل نوروپروتکتیو را پیش‌بینی کند، هنوز گزارش نشده است. از میان مدل‌های موجود، مدل روتنونی از مزایای خاصی برخوردار است؛ از جمله این که با تخریب اختصاصی نورون‌های دوپامینژیک مسیر نیگرو-استریاتال، ویژگی‌های پاتولوژیک کلیدی پارکینسون را شبیه‌سازی می‌نماید (۱۱).

به علاوه، در مدل روتنونی بسیاری از مسیرهای مولکولی شناخته شده در بیماری پارکینسون مانند استرس اکسیداتیو، آگرسایون پروتئینی و نارسایی سیستم پروتئازومی فعال هستند (۱۷). از دیگر مزایای مدل سیستمیک روتنونی، سهولت اجرا، تکرار پذیری و موفقیت بالا بدون عمل جراحی، تدریجی بودن روند و قابلیت سنجش داروهای نوروپروتکتیو می‌باشد (۱۸، ۱۴). تنها محدودیت اصلی مدل

روتنونی متغیر بودن آن در دو مورد «درصد حیواناتی که مدل در آن‌ها ایجاد می‌شود» و «شدت مدل بیماری» است.

در مطالعه‌ی حاضر که از تزریق زیرجلدی و مزمن روتنون (۲ mg/kg/48h) استفاده شد، مدل به طور تقریبی در تمامی حیوانات ایجاد شد و نیز اختلاف کمی میان عملکرد حیوانات در گروه دریافت کننده‌ی روتنون وجود داشت که حاکی از تکرار پذیری، ثبات و موفقیت مدل است و آن را برای مطالعات نوروپروتکتیو مناسب می‌سازد (۱۱).

آزمایش روتارود یک آزمایش معتبر برای ارزیابی آسیب‌های عصبی در جوندگان است و می‌تواند به طور مکرر برای سنجش تعادل و هماهنگی میان اندام‌های قدامی و خلفی مورد استفاده قرار گیرد (۱۳). همچنین مطالعات پیشین ثابت می‌کنند زمانی که موش‌ها قادرند بر روی دستگاه روتارود در حال چرخش تعادل خود را حفظ کنند، با از دست رفتن نورون‌های دوپامینرژیک، این وضعیت معکوس می‌شود و این توانایی از دست می‌رود (۱۹). از این رو، این آزمایش مبنای اصلی برای تشخیص زمان ایجاد مدل قرار گرفت. دو آزمایش ریرینگ و بار نیز از جمله آزمایش‌های رفتاری معتبر برای سنجش علایم حرکتی در مدل‌های پارکینسونی هستند

(۱۴، ۱۱). اما تا کنون از این سه آزمایش به صورت همزمان در یک مطالعه استفاده نشده بود. در مطالعه‌ی حاضر با استفاده‌ی همزمان از این سه آزمایش، علاوه بر این که ثابت گردید مدل ایجاد شده جنبه‌های حرکتی مختلف بیماری پارکینسون را شبیه‌سازی نموده است، وجود همبستگی بین آن‌ها با استفاده از آزمون Spearman نشان داده شد، که این خود اثباتی برای راهبردی بودن و هماهنگی بین این سه آزمایش در مدل ایجاد شده است و به نوبه‌ی خود، صحت ایجاد مدل را با اطمینان بیشتر تأیید می‌نماید.

نتایج مطالعه‌ی حاضر در مجموع نشان داد که به کارگیری روتنون با دوز ۲ mg/kg/48h، سبب بروز اختلال حرکتی و ایجاد مدل پارکینسونی گردید. هر چند از میان دوزهای به کار رفته در مطالعه‌ی حاضر، این دوز مناسب‌تر از بقیه بود؛ اما به نظر می‌رسد در تأیید این مدل، انجام مطالعات بافت‌شناسی و بررسی مسیرهای مولکولی به تأیید آن به عنوان یک مدل استاندارد کمک شایانی می‌کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بدین‌وسیله مراتب تشکر و سپاس خود را از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان به دلیل حمایت‌های مالی اعلام می‌دارند.

References

1. de Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2006; 5(6): 525-35.
2. Choi WS, Palmiter RD, Xia Z. Loss of mitochondrial complex I activity potentiates dopamine neuron death induced by microtubule dysfunction in a Parkinson's disease model. *J Cell Biol* 2011; 192(5): 873-82.
3. Thomas B, Beal MF. Molecular insights into Parkinson's disease. *F1000 Med Rep* 2011; 3: 7.
4. Potashkin JA, Blume SR, Runkle NK. Limitations of animal models of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis* 2010; 2011: 658083.
5. Ogata A, Tashiro K, Nukuzuma S, Nagashima K, Hall WW. A rat model of Parkinson's disease induced by Japanese encephalitis virus. *J Neurovirol* 1997; 3(2): 141-7.
6. Fishman PS, Gass JS, Swoveland PT, Lavi E,

- Highkin MK, Weiss SR. Infection of the basal ganglia by a murine coronavirus. *Science* 1985; 229(4716): 877-9.
7. Takahashi M, Yamada T, Nakajima S, Nakajima K, Yamamoto T, Okada H. The substantia nigra is a major target for neurovirulent influenza A virus. *J Exp Med* 1995; 181(6): 2161-9.
 8. Bove J, Prou D, Perier C, Przedborski S. Toxin-induced models of Parkinson's disease. *NeuroRx* 2005; 2(3): 484-94.
 9. Shen WB, McDowell KA, Siebert AA, Clark SM, Dugger NV, Valentino KM, et al. Environmental neurotoxin-induced progressive model of parkinsonism in rats. *Ann Neurol* 2010; 68(1): 70-80.
 10. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* 2003; 39(6): 889-909.
 11. Cannon JR, Tapias V, Na HM, Honick AS, Drolet RE, Greenamyre JT. A highly reproducible rotenone model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2009; 34(2): 279-90.
 12. Newhouse K, Hsuan SL, Chang SH, Cai B, Wang Y, Xia Z. Rotenone-induced apoptosis is mediated by p38 and JNK MAP kinases in human dopaminergic SH-SY5Y cells. *Toxicol Sci* 2004; 79(1): 137-46.
 13. Urbach YK, Bode FJ, Nguyen HP, Riess O, von HS. Neurobehavioral tests in rat models of degenerative brain diseases. *Methods Mol Biol* 2010; 597: 333-56.
 14. Xiong N, Xiong J, Khare G, Chen C, Huang J, Zhao Y, et al. Edaravone guards dopamine neurons in a rotenone model for Parkinson's disease. *PLoS One* 2011; 6(6): e20677.
 15. Fleming SM, Zhu C, Fernagut PO, Mehta A, DiCarlo CD, Seaman RL, et al. Behavioral and immunohistochemical effects of chronic intravenous and subcutaneous infusions of varying doses of rotenone. *Exp Neurol* 2004; 187(2): 418-29.
 16. Phinney AL, Andringa G, Bol JG, Wolters EC, van Muiswinkel FL, van Dam AM, et al. Enhanced sensitivity of dopaminergic neurons to rotenone-induced toxicity with aging. *Parkinsonism Relat Disord* 2006; 12(4): 228-38.
 17. Betarbet R, Canet-Aviles RM, Sherer TB, Mastroberardino PG, McLendon C, Kim JH, et al. Intersecting pathways to neurodegeneration in Parkinson's disease: effects of the pesticide rotenone on DJ-1, alpha-synuclein, and the ubiquitin-proteasome system. *Neurobiol Dis* 2006; 22(2): 404-20.
 18. Sherer TB, Betarbet R, Testa CM, Seo BB, Richardson JR, Kim JH, et al. Mechanism of toxicity in rotenone models of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2003; 23(34): 10756-64.
 19. Iancu R, Mohapel P, Brundin P, Paul G. Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice. *Behav Brain Res* 2005; 162(1): 1-10.

Induction of Parkinson's Disease Model in Rat by Rotenone

Arman Rahimmi¹, Farnoosh Khosrobakhsh PhD², Esmael Izadpanah PhD³,
Kambiz Hassanzadeh PhD⁴

Original Article

Abstract

Background: Many efforts have been made to find a proper animal model for Parkinson's disease, in order to improve our knowledge about this disorder and to find therapeutic approaches. Generally, the reproducibility of experiments in laboratory animals is accompanied by some troubles. Therefore, the validity of model is certified via certain behavioral tests. The present study aimed to find an accurate and reproducible rat model of inducing Parkinson's disease by rotenone.

Methods: Male Wistar rats weighting 400 ± 50 g (10-12 months of age) received several doses of rotenone (1, 2, or 3 mg/kg) or its vehicle subcutaneously every 48 hours. Three behavioral tests (rotarod, rearing and bar) were run in order to check the development of model.

Findings: Rotenone (2 mg/kg/48h) was an efficient dose beside its low mortality. The latency time of rotarod test and movement skills in rearing test decreased significantly in rotenone (2 mg/kg/48h) treated animals ($P < 0.05$). In addition, the results of bar test showed the augmentation of catalepsy in rotenone group compared to vehicle-treated animals ($P < 0.05$). In addition, the statistical correlation between behavioral tests justified the development of movement disorders in the model.

Conclusion: According to the results, it was concluded that rotenone (2 mg/kg/48h) was the best approach with reproducible capacity for induction of Parkinson's disease model.

Keywords: Parkinson's disease, Rotenone, Rotarod test

Citation: Rahimmi A, Khosrobakhsh F, Izadpanah E, Hassanzadeh K. **Induction of Parkinson's Disease Model in Rat by Rotenone.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(296): 1250-58

1- MSc Student, Department of Biological Science and Biotechnology, School of Basic Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biological Science and Biotechnology, School of Basic Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

3- Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

4- Assistant Professor, Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

Corresponding Author: Kambiz Hassanzadeh, Email: kambizhassanzadeh@gmail.com

سنتز miRNA و مکانیسم‌های تنظیمی

نعیم احتشام^۱، مهدیه مودی^۱، دکتر مجید خیراللهی^۲

مقاله مروری

چکیده

miRNAها (microRNAها) به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل تنظیمی بیان ژن در سال ۱۹۹۳ در کرم نماتد کشف شدند. این نقش تنظیمی بسیاری از فرایندهای مهم داخل سلولی مانند تکوین، تمایز، تکثیر و آپوپتوز را شامل می‌شود. miRNAها در زمره‌ی mRNAها هستند و مانند آن‌ها توسط RNA پلیمراز II رونویسی می‌شوند و سپس کلاهیک و دم پلی A به آن‌ها متصل می‌شوند. pri-miRNA حاصل توسط دو واکنش متوالی برشی به miRNA بالغ تبدیل می‌شود. miRNAها اثر تنظیمی خود را توسط سرکوب ترجمه، فعال‌سازی ترجمه و تخریب mRNAها اعمال می‌کنند. miRNAها در تنظیم سیستم ایمنی و اعصاب، دارای نقش مهمی می‌باشند و اختلال در بیان آن‌ها، می‌تواند منجر به بیماری‌های جداگانه‌ی هر کدام از سیستم‌ها شود.

واژگان کلیدی: miRNA سنتز، مکانیسم‌های تنظیمی

ارجاع: احتشام نعیم، مودی مهدیه، خیراللهی مجید. سنتز miRNA و مکانیسم‌های تنظیمی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۶): ۱۲۶۸-۱۲۵۹

مقدمه

ژن از طریق جفت شدن با نواحی مکمل، که اغلب در ناحیه‌ی UTR ۳' مربوط به mRNA هدف است، اعمال می‌کنند (۱۱). بعضی از مطالعات، وجود نواحی مکمل در نواحی کد کننده، UTR 5' و حتی پروموتور را نیز نشان داده‌اند (۱۲-۱۳). البته این اثر تنظیمی می‌تواند در سطوح مختلفی از عملکرد ژنوم شامل رونویسی، پردازش RNA، پایداری RNA و ترجمه صورت گیرد (۱۴). miRNAها دارای نقش کلیدی در بسیاری از فرایندهای بیولوژیکی شامل تکوین، تمایز سلولی، تکثیر و آپوپتوز هستند و شواهد حاکی از نقش آن‌ها در بیماری‌هایی همچون سرطان و اختلالات

miRNA به عنوان تنظیم کننده‌ی بیان ژن در اوایل دهه‌ی ۱۳۹۰ میلادی کشف شد که در ابتدا تنها به عنوان یک مورد نادر در کرم نماتد مورد بحث و بررسی قرار گرفت (۱-۲). با مشخص شدن حضور گسترده‌ی miRNA در میان سایر موجودات یوکاریوت، علاقه به بررسی این مکانیسم تنظیمی افزایش یافت (۳-۷)؛ به طوری که منجر به شناخته شدن صدها miRNA شد که به طور گروهی هزاران ژن را تنظیم می‌کنند (۸-۱۰). این گروه از RNAهای غیر کد کننده در حدود ۱۸-۲۵ نوکلئوتید را شامل می‌شوند و اثر خود را بر بیان

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مجید خیراللهی

متابولیسم می‌باشد (۱۵). این مطالعه به بررسی نقش miRNA در بیماری‌های نوروایمونوزنیک می‌پردازد.

بیوژنز miRNA

ژن‌های کدکننده‌ی miRNAها به طور معمول توسط RNA پلیمراز II رونویسی می‌شوند و به رونوشت‌های حاصل، کلاهیک در سمت ۵ و دم پلی A در سمت ۳ اضافه می‌شود (۱۶). اگر چه تعدادی از miRNAهای موجود در حیوانات به طور منفرد از واحدهای رونویسی مجزا حاصل می‌شوند، اما بیشتر آن‌ها از واحدهای رونویسی حاصل می‌شوند که رونویسی از آن‌ها باعث تولید چندین محصول می‌شود (۱۷). یک رونوشت ممکن است دسته‌ای از miRNAهای مجزا یا یک miRNA و پروتئین را کد کند که حالت دوم در صورتی ایجاد می‌شود که توالی کدکننده‌ی miRNA درون یک ایترون قرار داشته باشد. این گونه تصور می‌شود که miRNAهای جدید به جای این که حاصل از دوپلیکیشن‌های ژنی باشند، حاصل تجمع تغییرات نوکلئوتیدی می‌باشند (۱۸).

برای تبدیل miRNA اولیه یا pri-miRNA به miRNA بالغ دو واکنش متوالی برشی رخ می‌دهد (شکل ۱). این فرایندهای پردازشی بستگی به توالی‌هایی از miRNA دارد که به طور یک ساختار ساقه-حلقه دچار تاخوردگی می‌شوند. یک pri-miRNA به طور معمول حاوی یک ساختار ثانویه به شکل یک ساقه‌ی ناقص به همراه یک حلقه‌ی انتهایی می‌باشد (۱۷). اولین مرحله‌ی پردازش که درون هسته رخ می‌دهد، به بریده شدن ساختار ساقه-حلقه منجر می‌شود که محصول آن pri-miRNA می‌باشد. برای بیشتر miRNAها یک

عضو داخل هسته‌ای خانواده‌ی RNase III (Dcl1) در گیاهان و Drosha در حیوانات) این فرایند برش را انجام می‌دهد (۱۶). اگر چه Drosha فرایند پردازش pri-miRNA را کاتالیز می‌کند (۱۹)، کارآمدی و دقت این عمل به عامل مشارکت پروتئینی وابسته است. این عامل مشارکت شامل دو دامین dsRBD است که به طور پایداری با ریبونوکلاز میان‌کنش می‌کند و کمپلکس Microprocessor را به وجود می‌آورد (۲۰). برش به واسطه‌ی Microprocessor تنها راه تولید pri-miRNA نمی‌باشد. در یک مسیر جایگزین، رونوشت‌های pri-miRNA مورد پردازش قرار می‌گیرند تا ایترون‌هایی را آزاد کنند که به طور دقیق خصوصیات ساختاری pri-miRNA را تقلید می‌کنند (۲۱-۲۲). این Mirtronها بدون کمک Microprocessor وارد فرایند پردازش miRNA می‌شوند. Mirtronها متداول نیستند، اما در قلمرو حیوانات یافت شده‌اند. دومین فرایند پردازش، شامل برش حلقه‌ی انتهایی از pri-miRNA می‌شود که منجر به تولید miRNA بالغ با طول حدود ۲۲ جفت باز می‌شود (۱۷). در حالی که در گیاهان این فرایند توسط Dcl1 و در هسته صورت می‌گیرد، در حیوانات ابتدا pri-miRNA از هسته خارج می‌شود و سپس آنزیم دایسر عمل برش را در سیتوپلاسم انجام می‌دهد (۱۶).

پروتئین‌های مهم در عملکرد miRNA

اگر چه مکانیسم دقیق نقش پروتئین‌ها در عملکرد miRNAها به خوبی مشخص نشده است، تعدادی از آن‌ها به عنوان واسطه در عملکرد miRNA بر روی هدفش ایفای نقش می‌کنند. بعضی از این پروتئین‌ها

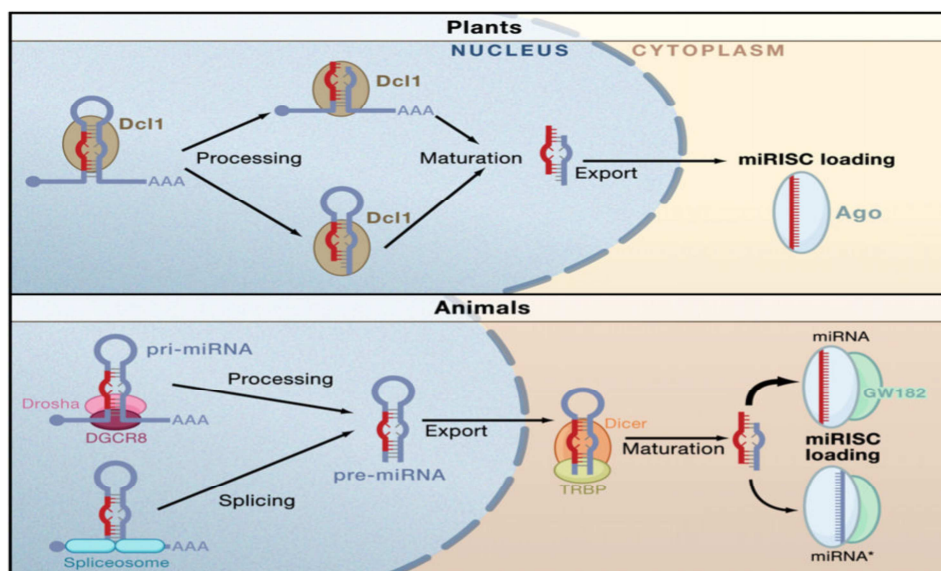
سرکه، هم سرکوب ترجمه و هم تسریع در دآدنیلایسیون را میانجی‌گری می‌کنند (۲۶-۲۷، ۲۹). سایر مطالعات نقش Ago۲ را در فعال‌سازی ترجمه به واسطه‌ی miRNA در سلول‌هایی که رشدشان متوقف شده است، نشان می‌دهد (۳۰).

اگر چه سرکوب ترجمه به وسیله‌ی miRNA در مگس سرکه به Ago۱ نیازمند است، در سلول‌هایی که به صورت *in vitro* فاقد Ago۱ است، پروتئین مرتبط با RISC به نام GW۱۸۲ (TNRC۶A) به طور مستقیم بر روی mRNA می‌نشیند و نقشی معادل Ago۱ را ایفا می‌کند (۳۱). بنابراین GW۱۸۲ (شاید همراه با پروتئین‌های دیگر) در یک مکانیسم غیر وابسته به Ago که هنوز جزئیات آن مشخص نیست، قادر است ترجمه را مهار کند. این نتیجه‌گیری با مشاهده‌ی نقص در توانایی miRNA در کاهش بیان ژن زمانی که سلول‌های یک پستاندار یا مگس سرکه خالی از GW۱۸۲ یا پارالوگ آن TNRC۶B شود، مورد تأیید قرار گرفت (۳۲-۳۴).

از اجزای اصلی تشکیل دهنده‌ی کمپلکس خاموش کننده‌ی القا شده توسط RNA (RISC) یا RNA-induced silencing complex (miRISC) می‌باشند که وظیفه‌ی آن‌ها قرار دادن بر روی منطقه‌ی مکملش در mRNA هدف می‌باشد؛ در حالی که سایر پروتئین‌ها به طور گذرا با این کمپلکس در ارتباط می‌باشند (۲۳-۲۴).

Ago و TNRC۶

زیر واحد اصلی کمپلکس RISC پروتئین Argonaute (Ago) می‌باشد که به miRNA متصل می‌شود (۲۵). Ago یک پروتئین همولوگ در بین گونه‌های مختلف محسوب می‌شود. به طور مثال، Ago۲ در انسان، موش و مگس سرکه به عنوان یک اندونوکلاز قادر است mRNA را درون منطقه‌ای که به طور کامل با miRNA جفت شده است، برش دهد (۲۶-۲۸). سایر پروتئین‌های Ago مانند Ago۱، Ago۲، Ago۳ و Ago۴ در انسان و Ago۱ در مگس



شکل ۱. تبدیل miRNA اولیه یا pri-miRNA به miRNA بالغ با دو واکنش متوالی برشی (۱۷)

مکانیسم‌های تنظیمی miRNA

سرکوب ترجمه

شاید بحث برانگیزترین جنبه‌ی مکانیسمی miRNA سرکوب ترجمه به وسیله آن است. در ابتدا، توانایی miRNAها در کاهش ترجمه از تفاوت اثرات آنها بر سنتز پروتئین و میزان غلظت mRNA نتیجه‌گیری شد (۲). این نظریه که miRNA شروع ترجمه را مهار می‌کند، مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفت. برای مثال، در تعدادی از مطالعات که در آنها از روش سانتریفیوژ شیب چگالی سوکروز استفاده شده است، تغییر جهت حرکت mRNAها به سمت پلیزوم‌هایی که جرم کمتری دارند (یعنی برای هر mRNA تعداد کمتری ریبوزوم به هم متصل شده‌اند) نشان داده شد؛ که این خود، نشان دهنده‌ی شروع معیوب ترجمه است (۳۵).

پیشرفت‌هایی در ایجاد سرکوب ترجمه به واسطه‌ی miRNA در سیستم‌های فاقد سلول، تأثیر miRNA بر جلوگیری از به کارگیری ریبوزوم ۸۰S بر روی mRNA را نشان داده است (۳۶-۳۸). بر خلاف موارد ذکر شده، سایر مطالعات تغییری در پروفایل پلیزوم mRNAهای مورد هدف miRNAها را نشان ندادند که این حاکی از آن است که miRNAها می‌توانند در مراحل بعد از شروع، ترجمه را هم سرکوب کنند (۳۹-۴۳).

فعال‌سازی ترجمه

با وجود این که مدت زمان زیادی است که تصور می‌شود miRNAها تنها نقش مهاری بر فرایند ترجمه دارند، اطلاعات جدید نشان می‌دهد که آنها می‌توانند تحت شرایط خاصی موجب تحریک ترجمه شوند (۳۰). بنابراین، mRNAی که در سلول‌های

تکثیر شونده‌ی پستانداران موجب مهار ترجمه می‌شود، بعد از توقف چرخه‌ی سلولی توسط یک مهار کننده‌ی همانندسازی مانند Aphidicolin، اثر متضادی را اعمال می‌کند. برای مثال، فرایند سرکوب ترجمه نیز نیاز به جفت شدن mRNA هدف با ناحیه‌ی Seed موجود بر روی miRNA دارد. البته هنوز مکانیسم دقیقی که به موجب آن miRNAها موجب افزایش بازده ترجمه می‌شوند، مشخص نشده است.

تخریب mRNA

miRNAها به وسیله‌ی دو مکانیسم متفاوت موجب تجزیه‌ی mRNA می‌شوند. آن دسته از miRNAهایی که به طور کامل با mRNA هدف جفت می‌شوند، موجب برش اندونوکلئوتیدی می‌گردند (۴۴-۴۶). در این رویداد، mRNA به طور کامل تخریب می‌شود و قطعات حاصل از آن به دلیل عدم حفاظت در سر ۵ و ۳، به حمله توسط آگزونوکلئازها مستعد می‌شوند (۴۷).

اگر چه miRNA پتانسیل برش mRNA هدف را دارد، اما در سلول‌های جانوری به دلیل عدم جفت شدن کامل miRNA با هدفش، این اتفاق به ندرت روی می‌دهد (۴۶). بنابراین وقتی miRNAها با هدفشان به طور ناقص جفت می‌شوند، miRNA Turnoverها را با تسریع در برداشت دم پلی A افزایش می‌دهند (۴۸-۴۹). به دنبال دآدنیلایسون، پروتئین متصل شونده به دم پلی A، عملکرد خود را از دست می‌دهد که این خود برداشت کلاهدک از سر ۵ را تسریع می‌کند و mRNA را در معرض هضم آگزونوکلئوتیدی از انتهای ۵ قرار می‌دهد (۵۰، ۳۱).

توانایی miRNA در تخریب، دو نتیجه‌ی مهم در پی دارد: اول این که با کاهش غلظت رونوشت‌های

درگیر در سیستم ایمنی شناسایی شده‌اند که تعدادی از مهم‌ترین آن‌ها در جدول ۱ آمده است.

نقش miRNA در بیماری‌های خود ایمنی

با مشخص شدن نقش اساسی miRNAها در تنظیم سیستم ایمنی و تکوین سلول‌های دستگاه عصبی، جای تعجب نخواهد بود که مطالعات اخیر ارتباط بین عملکرد معیوب miRNAها و خود ایمنی را مشخص کرده‌اند. در جدول ۲، به چند miRNA دخیل در تعدادی از بیماری‌های خود ایمنی اشاره شده است.

نقش miRNA در سیستم اعصاب

تعدادی miRNA در طی مراحل مختلف تکوین سیستم اعصاب مرکزی، به طور موقتی و برنامه‌ریزی شده بیان می‌شوند (۷۶-۷۵). تا کنون بیش از ۴۰۰ miRNA در مغز انسان و شامپانزه شناسایی شده‌اند (۷۷-۷۶) و بیان بیش از ۱۰۰ miRNA در مغز انسان تخمین زده می‌شود (۷۷). نکته‌ی جالب توجه این است که بسیاری از miRNAهایی که در مغز انسان بیان می‌شوند، در بین پرمات‌ها محافظت شده نیستند که نشان دهنده‌ی این است که بسیاری از آن‌ها تازه ایجاد شده‌اند (۷۷).

هدف، بازده تبدیل mRNA به پروتئین به شدت کاهش می‌یابد. دوم این که اثر مهاري miRNA در هنگام تخریب هدفش، در مقایسه با سرکوب ترجمه غیر قابل برگشت است و این خود بازده اثر مهاري miRNA را افزایش می‌دهد. در میان تأثیر کلی miRNAها بر بیان ژن، میزان تأثیر تخریب mRNA از یک mRNA به mRNA دیگر به طور فاحشی متفاوت است (۳۱). در بعضی موارد، تخریب mRNA نقش اصلی در تنظیم کاهشی بیان ژن دارد؛ در حالی که در سایر موارد اثر این تنظیم به مراتب کمتر از تأثیر سرکوب ترجمه می‌باشد.

نقش miRNA در عملکرد طبیعی سیستم ایمنی

تنظیم سیستم ایمنی نقش حیاتی در جلوگیری از تعدادی از اختلالات شامل بیماری‌های خودایمنی و سرطان دارد و به همین خاطر، پستانداران سیستم پیچیده‌ای را طراحی کرده‌اند که به موجب آن بازرسی‌های متعددی به منظور حفظ توازن بین خود تحملی (Self-tolerance) و پاسخ به پاتوژن‌های خارجی صورت می‌گیرد. در مطالعات اخیر شواهدی مبنی بر نقش مهم miRNAها در تکوین سلول‌های ایمنی و همچنین تنظیم سیستم ایمنی به دست آمده است. تا به امروز، تعداد به نسبت کمی از miRNAهای

جدول ۱. miRNAهای شناسایی شده درگیر در سیستم ایمنی

miRNA	mRNA هدف	مسیر درگیر شونده	منبع
miR-۱۴۶a	IRAK-۱, TRAF۶	پیام‌رسانی TLR، پاسخ ایمنی ذاتی	(۵۱-۵۲)
miR-۱۲۵b	TNF- α	پیام‌رسانی TLR، پاسخ ایمنی ذاتی	(۵۳)
miR-۱۵۵	Pu.۱	پاسخ ایمنی ذاتی / سازشی، تغییر رده‌ی IgG	(۵۳-۵۹)
miR-۱۸۱a	نامشخص	تکوین سلول B، پیام‌رسانی گیرنده‌ی سلول T	(۶۰-۶۱)
miR-۱۸۱b	AID	نوترکیبی تغییر رده در سلول‌های فعال شده B	(۶۲)
miR-۲۲۳	نامشخص	Granulopoiesis	(۶۳-۶۴)
miR-۱۵۰	نامشخص	تمايز سلول B	(۶۵-۶۶)

جدول ۲. چند miRNA دخیل در تعدادی از بیماری‌های خود ایمنی

miRNA	عملکرد	بیماری	منابع
miR-۱۰۱	برای تجزیه‌ی ICOS mRNA میانجی‌گری شده توسط Roquin	Lupus-like autoimmune disease	(۶۷)
miRNA ویژه‌ی آن: ناشناخته	دوام و عملکرد سلول‌های T reg	Fatal systemic	(۶۸-۶۹)
miR-۱۴۶a	اهداف: ۱-IRAK / TRAF۶، تنظیم پاسخ التهابی	Rheumatoid arthritis	(۷۰-۷۱)
miR-۱۵۵	هدف: ۳-MMP، تنظیم پاسخ التهابی	Rheumatoid arthritis	(۷۱-۷۲)
miR-۱۳۲	نامشخص	Rheumatoid arthritis	(۷۱)
miR-۱۶	نامشخص	Rheumatoid arthritis	(۷۱)
miRNAهای بی‌شمار	نامشخص	Systemic lupus erythematosus	(۷۳-۷۴)

miRNAها در بقای نورونی در طی تکوین و همچنین در نورون‌های بالغ ایفای نقش می‌کنند (۸۳-۸۰). در آزمایشی که بر روی نورون‌های کشت داده شده‌ی هیپوکمپ صورت گرفت، مشخص شد miR-۱۳۴ در شکل‌گیری ساختار دندریتی نخاع، به وسیله‌ی تنظیم بیان Limk۱ نقش دارد (۸۴).

در مطالعه‌ای بر روی جنین جوجه نقش miR-۱۲۴ که به شدت در سیستم اعصاب مرکزی محافظت شده است، در تمایز نورون و حفظ هویت نورون نشان داده شد (۸۶-۸۵). تعدد مطالعات صورت گرفته، نشان دهنده‌ی تنوع عملکردی miRNAها در سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد.

اگر چه عملکرد تعداد بسیار کمی از miRNAهای مخصوص مغز شناسایی شده است، اما شواهد روزافزونی حاکی از نقش آن‌ها در تکوین، تمایز، عملکرد و البته بیماری‌زایی سیستم اعصاب می‌باشد. ضرورت عملکرد miRNAها در تکوین سیستم اعصاب و شکل‌گیری ساختار مغز در Zebrafish به اثبات رسیده است (۷۸).

در آزمایشی آنزیم دایسر موش را موتانت کردند و به دنبال آن با اختلال در بیورژنر miRNA و عدم تشکیل miRNA بالغ و دارای عملکرد، مشاهده شد که موش قبل از نورولاسیون می‌میرد (۷۹). برداشت دایسر از انواع سلول‌های نورونی موش نشان داد که

References

- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75(5): 843-54.
- Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell* 1993; 75(5): 855-62.
- Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000; 408(6808): 86-9.
- Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001; 294(5543): 853-8.
- Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001; 294(5543): 858-62.
- Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001; 294(5543): 862-4.
- Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW, Bartel B, Bartel DP. MicroRNAs in plants. *Genes Dev* 2002; 16(13): 1616-26.

8. Bentwich I, Avniel A, Karov Y, Aharonov R, Gilad S, Barad O, et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. *Nat Genet* 2005; 37(7): 766-70.
9. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120(1): 15-20.
10. Lim LP, Glasner ME, Yekta S, Burge CB, Bartel DP. Vertebrate microRNA genes. *Science* 2003; 299(5612): 1540.
11. Wahid F, Shehzad A, Khan T, Kim YY. MicroRNAs: synthesis, mechanism, function, and recent clinical trials. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803(11): 1231-43.
12. Le QJ, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. *Mol Oncol* 2010; 4(3): 230-41.
13. Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutat Res* 2011; 717(1-2): 1-8.
14. Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell* 2009; 136(4): 642-55.
15. Bushati N, Cohen SM. microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007; 23: 175-205.
16. Kim VN. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6(5): 376-85.
17. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116(2): 281-97.
18. Lu J, Shen Y, Wu Q, Kumar S, He B, Shi S, et al. The birth and death of microRNA genes in *Drosophila*. *Nat Genet* 2008; 40(3): 351-5.
19. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425(6956): 415-9.
20. Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, Ketting RF, Hannon GJ. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature* 2004; 432(7014): 231-5.
21. Okamura K, Hagen JW, Duan H, Tyler DM, Lai EC. The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in *Drosophila*. *Cell* 2007; 130(1): 89-100.
22. Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature* 2007; 448(7149): 83-6.
23. Hock J, Weinmann L, Ender C, Rudel S, Kremmer E, Raabe M, et al. Proteomic and functional analysis of Argonaute-containing mRNA-protein complexes in human cells. *EMBO Rep* 2007; 8(11): 1052-60.
24. Zhang L, Ding L, Cheung TH, Dong MQ, Chen J, Sewell AK, et al. Systematic identification of *C. elegans* miRISC proteins, miRNAs, and mRNA targets by their interactions with GW182 proteins AIN-1 and AIN-2. *Mol Cell* 2007; 28(4): 598-613.
25. Peters L, Meister G. Argonaute proteins: mediators of RNA silencing. *Mol Cell* 2007; 26(5): 611-23.
26. Liu J, Carmell MA, Rivas FV, Marsden CG, Thomson JM, Song JJ, et al. Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi. *Science* 2004; 305(5689): 1437-41.
27. Meister G, Landthaler M, Patkaniowska A, Dorsett Y, Teng G, Tuschl T. Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs. *Mol Cell* 2004; 15(2): 185-97.
28. Okamura K, Ishizuka A, Siomi H, Siomi MC. Distinct roles for Argonaute proteins in small RNA-directed RNA cleavage pathways. *Genes Dev* 2004; 18(14): 1655-66.
29. Pillai RS, Artus CG, Filipowicz W. Tethering of human Ago proteins to mRNA mimics the miRNA-mediated repression of protein synthesis. *RNA* 2004; 10(10): 1518-25.
30. Vasudevan S, Steitz JA. AU-rich-element-mediated upregulation of translation by FXR1 and Argonaute 2. *Cell* 2007; 128(6): 1105-18.
31. Behm-Ansmant I, Rehwinkel J, Doerks T, Stark A, Bork P, Izaurralde E. mRNA degradation by miRNAs and GW182 requires both CCR4:NOT deadenylase and DCP1:DCP2 decapping complexes. *Genes Dev* 2006; 20(14): 1885-98.
32. Jakymiw A, Lian S, Eystathiou T, Li S, Satoh M, Hamel JC, et al. Disruption of GW bodies impairs mammalian RNA interference. *Nat Cell Biol* 2005; 7(12): 1267-74.
33. Liu J, Rivas FV, Wohlschlegel J, Yates JR, III, Parker R, Hannon GJ. A role for the P-body component GW182 in microRNA function. *Nat Cell Biol* 2005; 7(12): 1261-6.
34. Rehwinkel J, Behm-Ansmant I, Gatfield D, Izaurralde E. A crucial role for GW182 and the DCP1:DCP2 decapping complex in miRNA-mediated gene silencing. *RNA* 2005; 11(11): 1640-7.
35. Pillai RS, Bhattacharyya SN, Artus CG, Zoller T, Cougot N, Basyuk E, et al. Inhibition of translational initiation by Let-7 MicroRNA in human cells. *Science* 2005; 309(5740): 1573-6.
36. Mathonnet G, Fabian MR, Svitkin YV, Parsyan A, Huck L, Murata T, et al. MicroRNA inhibition of translation initiation in vitro by targeting the cap-binding complex eIF4F. *Science* 2007; 317(5845): 1764-7.
37. Thermann R, Hentze MW. *Drosophila* miR2 induces pseudo-polysomes and inhibits translation initiation. *Nature* 2007; 447(7146): 875-8.

38. Wakiyama M, Takimoto K, Ohara O, Yokoyama S. Let-7 microRNA-mediated mRNA deadenylation and translational repression in a mammalian cell-free system. *Genes Dev* 2007; 21(15): 1857-62.
39. Olsen PH, Ambros V. The lin-4 regulatory RNA controls developmental timing in *Caenorhabditis elegans* by blocking LIN-14 protein synthesis after the initiation of translation. *Dev Biol* 1999; 216(2): 671-80.
40. Seggerson K, Tang L, Moss EG. Two genetic circuits repress the *Caenorhabditis elegans* heterochronic gene *lin-28* after translation initiation. *Dev Biol* 2002; 243(2): 215-25.
41. Maroney PA, Yu Y, Fisher J, Nilsen TW. Evidence that microRNAs are associated with translating messenger RNAs in human cells. *Nat Struct Mol Biol* 2006; 13(12): 1102-7.
42. Nottrott S, Simard MJ, Richter JD. Human let-7a miRNA blocks protein production on actively translating polyribosomes. *Nat Struct Mol Biol* 2006; 13(12): 1108-14.
43. Petersen CP, Bordeleau ME, Pelletier J, Sharp PA. Short RNAs repress translation after initiation in mammalian cells. *Mol Cell* 2006; 21(4): 533-42.
44. Zamore PD, Tuschl T, Sharp PA, Bartel DP. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals. *Cell* 2000; 101(1): 25-33.
45. Llave C, Xie Z, Kasschau KD, Carrington JC. Cleavage of Scarecrow-like mRNA targets directed by a class of Arabidopsis miRNA. *Science* 2002; 297(5589): 2053-6.
46. Yekta S, Shih IH, Bartel DP. MicroRNA-directed cleavage of HOXB8 mRNA. *Science* 2004; 304(5670): 594-6.
47. Orban TI, Izaurralde E. Decay of mRNAs targeted by RISC requires XRN1, the Ski complex, and the exosome. *RNA* 2005; 11(4): 459-69.
48. Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(11): 4034-9.
49. Giraldez AJ, Mishima Y, Rihel J, Grocock RJ, van Dongen S, Inoue K, et al. Zebrafish MiR-430 promotes deadenylation and clearance of maternal mRNAs. *Science* 2006; 312(5770): 75-9.
50. Eulalio A, Rehwinkel J, Stricker M, Huntzinger E, Yang SF, Doerks T, et al. Target-specific requirements for enhancers of decapping in miRNA-mediated gene silencing. *Genes Dev* 2007; 21(20): 2558-70.
51. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(33): 12481-6.
52. Perry MM, Moschos SA, Williams AE, Shepherd NJ, Larner-Svensson HM, Lindsay MA. Rapid changes in microRNA-146a expression negatively regulate the IL-1beta-induced inflammatory response in human lung alveolar epithelial cells. *J Immunol* 2008; 180(8): 5689-98.
53. Tili E, Michaille JJ, Cimino A, Costinean S, Dumitru CD, Adair B, et al. Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/TNF-alpha stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock. *J Immunol* 2007; 179(8): 5082-9.
54. O'Connell RM, Taganov KD, Boldin MP, Cheng G, Baltimore D. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104(5): 1604-9.
55. Haasch D, Chen YW, Reilly RM, Chiou XG, Koterski S, Smith ML, et al. T cell activation induces a noncoding RNA transcript sensitive to inhibition by immunosuppressant drugs and encoded by the proto-oncogene, BIC. *Cell Immunol* 2002; 217(1-2): 78-86.
56. van den Berg A, Kroesen BJ, Kooistra K, de JD, Briggs J, Blokzijl T, et al. High expression of B-cell receptor inducible gene BIC in all subtypes of Hodgkin lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 37(1): 20-8.
57. Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV, Couttet P, Soond DR, et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science* 2007; 316(5824): 608-11.
58. Thai TH, Calado DP, Casola S, Ansel KM, Xiao C, Xue Y, et al. Regulation of the germinal center response by microRNA-155. *Science* 2007; 316(5824): 604-8.
59. Vigorito E, Perks KL, Abreu-Goodger C, Bunting S, Xiang Z, Kohlhaas S, et al. microRNA-155 regulates the generation of immunoglobulin class-switched plasma cells. *Immunity* 2007; 27(6): 847-59.
60. Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science* 2004; 303(5654): 83-6.
61. Li QJ, Chau J, Ebert PJ, Sylvester G, Min H, Liu G, et al. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection. *Cell* 2007; 129(1): 147-61.
62. de Yébenes VG, Belder L, Pisano DG, Gonzalez S, Villasante A, Croce C, et al. miR-181b negatively regulates activation-induced cytidine deaminase in B cells. *J Exp Med* 2008; 205(10): 2199-206.

63. Fazi F, Rosa A, Fatica A, Gelmetti V, De Marchis ML, Nervi C, et al. A minicircuitry comprised of microRNA-223 and transcription factors NFI-A and C/EBPalpha regulates human granulopoiesis. *Cell* 2005; 123(5): 819-31.
64. Fukao T, Fukuda Y, Kiga K, Sharif J, Hino K, Enomoto Y, et al. An evolutionarily conserved mechanism for microRNA-223 expression revealed by microRNA gene profiling. *Cell* 2007; 129(3): 617-31.
65. Zhou B, Wang S, Mayr C, Bartel DP, Lodish HF. miR-150, a microRNA expressed in mature B and T cells, blocks early B cell development when expressed prematurely. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104(17): 7080-5.
66. Xiao C, Calado DP, Galler G, Thai TH, Patterson HC, Wang J, et al. MiR-150 controls B cell differentiation by targeting the transcription factor c-Myb. *Cell* 2007; 131(1): 146-59.
67. Yu D, Tan AH, Hu X, Athanasopoulos V, Simpson N, Silva DG, et al. Roquin represses autoimmunity by limiting inducible T-cell costimulator messenger RNA. *Nature* 2007; 450(7167): 299-303.
68. Liston A, Lu LF, O'Carroll D, Tarakhovskiy A, Rudensky AY. Dicer-dependent microRNA pathway safeguards regulatory T cell function. *J Exp Med* 2008; 205(9): 1993-2004.
69. Zhou X, Jeker LT, Fife BT, Zhu S, Anderson MS, McManus MT, et al. Selective miRNA disruption in T reg cells leads to uncontrolled autoimmunity. *J Exp Med* 2008; 205(9): 1983-91.
70. Nakasa T, Miyaki S, Okubo A, Hashimoto M, Nishida K, Ochi M, et al. Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Rheum* 2008; 58(5): 1284-92.
71. Pauley KM, Satoh M, Chan AL, Bubb MR, Reeves WH, Chan EK. Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res Ther* 2008; 10(4): R101.
72. Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, Sanchez-Pernaute O, Kolling C, Gay RE, et al. Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58(4): 1001-9.
73. Dai Y, Huang YS, Tang M, Lv TY, Hu CX, Tan YH, et al. Microarray analysis of microRNA expression in peripheral blood cells of systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2007; 16(12): 939-46.
74. Dai Y, Sui W, Lan H, Yan Q, Huang H, Huang Y. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in renal biopsies of lupus nephritis patients. *Rheumatol Int* 2009; 29(7): 749-54.
75. Kosik KS. The neuronal microRNA system. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7(12): 911-20.
76. Landgraf P, Rusu M, Sheridan R, Sewer A, Iovino N, Aravin A, et al. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing. *Cell* 2007; 129(7): 1401-14.
77. Berezikov E, Thummel F, van Laake LW, Kondova I, Bontrop R, Cuppen E, et al. Diversity of microRNAs in human and chimpanzee brain. *Nat Genet* 2006; 38(12): 1375-7.
78. Giraldez AJ, Cinalli RM, Glasner ME, Enright AJ, Thomson JM, Baskerville S, et al. MicroRNAs regulate brain morphogenesis in zebrafish. *Science* 2005; 308(5723): 833-8.
79. Bernstein E, Kim SY, Carmell MA, Murchison EP, Alcorn H, Li MZ, et al. Dicer is essential for mouse development. *Nat Genet* 2003; 35(3): 215-7.
80. Kim J, Inoue K, Ishii J, Vanti WB, Voronov SV, Murchison E, et al. A MicroRNA feedback circuit in midbrain dopamine neurons. *Science* 2007; 317(5842): 1220-4.
81. Schaefer A, O'Carroll D, Tan CL, Hillman D, Sugimori M, Llinas R, et al. Cerebellar neurodegeneration in the absence of microRNAs. *J Exp Med* 2007; 204(7): 1553-8.
82. Davis TH, Cuellar TL, Koch SM, Barker AJ, Harfe BD, McManus MT, et al. Conditional loss of Dicer disrupts cellular and tissue morphogenesis in the cortex and hippocampus. *J Neurosci* 2008; 28(17): 4322-30.
83. Damiani D, Alexander JJ, O'Rourke JR, McManus M, Jadhav AP, Cepko CL, et al. Dicer inactivation leads to progressive functional and structural degeneration of the mouse retina. *J Neurosci* 2008; 28(19): 4878-87.
84. Schrott GM, Tuebing F, Nigh EA, Kane CG, Sabatini ME, Kiebler M, et al. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature* 2006; 439(7074): 283-9.
85. Visvanathan J, Lee S, Lee B, Lee JW, Lee SK. The microRNA miR-124 antagonizes the anti-neural REST/SCP1 pathway during embryonic CNS development. *Genes Dev* 2007; 21(7): 744-9.
86. Makeyev EV, Zhang J, Carrasco MA, Maniatis T. The MicroRNA miR-124 promotes neuronal differentiation by triggering brain-specific alternative pre-mRNA splicing. *Mol Cell* 2007; 27(3): 435-48.

miRNA, Biogenesis and Mechanisms of Regulations

Naeim Ehtesham¹, Mahdiyeh Modi¹, Majid Kheirollahi PhD²

Review Article

Abstract

miRNAs (microRNAs) were discovered in 1993 in *Caenorhabditis elegans* as one of the most important gene expression regulatory factors. This regulatory role includes many of the important intracellular processes like genesis, differentiation, proliferation and apoptosis. miRNAs are among mRNAs and like them are transcribed by RNA polymerase II and then cap and polyA tail are added to them. The resulted pri-miRNA converts to mature miRNA by two sequential trimming reactions. miRNAs exerts their regulatory effects by translation repression, translation activation and mRNA degradation. miRNAs have an important role in regulation of immune and nervous systems and disorder in their expression can lead to separate disease in both systems.

Keywords: miRNA, Biogenesis, Regulations mechanism

Citation: Ehtesham N, Modi M, Kheirollahi M. **miRNA, Biogenesis and Mechanisms of Regulations.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(296): 1259-68

1- MSc Student, Pediatric Inherited Diseases Research Center, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Pediatric Inherited Diseases Research Center, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

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

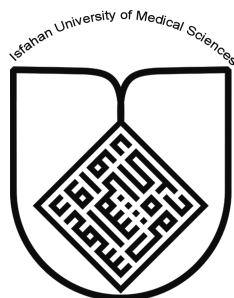
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

INSTRUCTION TO AUTHORS

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

Editorial Board (In alphabetical order)

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



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 296, 1st week, October 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 indexers

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

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

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