دارای رتبه علمی-پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

JOURNAL OF
ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

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

هفته نامه

سال سی و هشتم/شماره ۵۷۲/هفته چهارم خرداد ۱۳۹۹

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

Weekly Vol. 38, No. 572, 4th Week, June 2020

مقاله‌های پژوهشی

مقایسه‌ی تأثیر تزریق زیرجلدی متوکلوپرامید، پتیدین و کتامین بر درد بعد از اعمال جراحی اصلاح فتق اینگوینال تحت بیهوشی عمومی در یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی..... ۲۵۲
داریوش مرادی فارسانی، زهرا اعظمیان جزی، سید مرتضی حیدری، بهزاد ناظم‌رعایا

کلون، بیان و تخلیص پروتئین نوترکیب هماگلوتینین ویروس آنفلوانزا H1N1 انسانی در رده‌ی یوکاریوتیک سلول حشره با استفاده از وکتور باکولوویروس..... ۲۶۰
نیلوفر راشدی، مرتضی تقی‌زاده، پریسا محمدی‌نژاد، مهدی مهدوی، رضا جلالی‌راد

گزارش مورد

بروز کونژکتیویت، هوردئولوم و شالازیون دوطرفه در ارتباط با مصرف ایزوترتینوین سیستمیک: یک گزارش موردی..... ۲۶۷
سمن افخمی اردکانی، شتیلا ترابی، یحیی شاهرخی

Original Articles

The Effect of Subcutaneous Injection of Metoclopramide, Pethidine, and Ketamine on Postoperative Pain after Inguinal Hernia Repair under General Anesthesia……259
Darioush Moradi-Farsani, Zahra Azamian-Jazi, Seyed Morteza Heydari, Behzad Nazemroaya

Cloning, Expression, and Purification of the Recombinant Hemagglutinin of Human Influenza Virus H1N1 in the Eukaryotic Insect Cells Using Baculovirus Vector……266
Niloufar Rashedi, Morteza Taghizadeh, Parisa Mohamadynejad, Mehdi Mahdavi, Reza Jalalirad

Case Report

Bilateral Chalazion, Conjunctivitis, and Hordeolum Associated with Systemic Consumption of Isotretinoin: A Case Report…269
Saman Afkhami-Ardakani, Shatila Torabi, Yahya Shahrokhi

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و هشتم، شماره (۵۷۲)، هفته چهارم خرداد ماه ۱۳۹۹

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی استان اصفهان

مدیر مسؤول: دکتر سید مرتضی حیدری **سردبیر افتخاری: دکتر رویا کلیشادی**

سردبیر: دکتر رضا خدیوی

صاحب امتیاز:
دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
Email: publications@mui.ac.ir
دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶
مدیر اجرایی: علی مرادی مسؤول دفتر: گلناز رجبی
تلفن: ۳۶۶۹۴۷۳۷-۰۳۱ **دورنگار:** ۳۷۹۲۲۲۹۱-۰۳۱
Email: jims@med.mui.ac.ir
وب سایت مجله: http://jims.mui.ac.ir

ناشر:
انتشارات وسنا (فرزانگان راداندیش)
Email: farapublications@gmail.com
http://farapub.com
تلفن: ۳۲۲۲۴۳۳۵-۰۳۱
دورنگار: ۳۲۲۲۴۳۸۲-۰۳۱
تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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 محمد رضا اخلاقی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر علی اخوان	استادیار، متخصص پرتودرمانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، فوق تخصص غدد، بیمارستان‌های دانشگاهی مرکز پزشکی کلیولند، آمریکا
۵- دکتر احمد اسماعیل‌زاده	استاد، دکترای تخصصی تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- دکتر افسون امامی نائینی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۷- دکتر شاهین امامی	گروه بیوشیمی، بیمارستان سن‌آنتونیو، پاریس، فرانسه
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، فوق تخصص بیماری‌های ایمونولوژی وآلرژی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر فریبا ایرجی	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۱- دکتر کن باست	استاد، متخصص ابتکارات درمانی، دانشگاه بریتیش کلمبیا، کانادا
۱۲- دکتر رضا باقریان سرارودی	دانشیار، دکترای تخصصی روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- دکتر مجید برکتین	استاد، متخصص روانپزشکی، فلوشیپ نوروسایکیاتری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۴- دکتر فرزین پور فرزاد	دکترای تخصصی زیست شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند
۱۵- دکتر مسعود پورمقدس	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر احمد چیت‌ساز	استاد، متخصص مغز و اعصاب، فلوشیپ بیماری‌های حرکتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۷- دکتر علی حکمت نیا	استاد، متخصص رادیولوژی، فلوشیپ رادیولوژی مغز واعصاب و کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۸- دکتر سید مرتضی حیدری	استاد، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۹- دکتر مجید خیراللهی	دانشیار، دکترای تخصصی ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر بهناز خانی	دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر مریم راداحمدی	دانشیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۳- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۴- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۵- دکتر محمدرضا شریفی	استاد، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۶- دکتر منصور شعله‌ور	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۷- دکتر رسول صالحی	استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر مسیح صبوری	استاد، متخصص جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر محمدرضا صفوی	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۰- دکتر خسرو عادلی	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۳۱- دکتر سعید عندلیب جورتانی	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لویس ویل، آمریکا
۳۲- دکتر زیبا فرج‌زادگان	استاد، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۳- دکتر رویا کلیشادی	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۵- دکتر عزیز گهری	استاد، متخصص جراحی پلاستیک، دانشگاه بریتیش کلمبیا، کانادا
۳۶- دکتر پروین محزونی	استاد، متخصص آسیب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۷- دکتر سید مهدی مدرس‌زاده	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۸- دکتر محمد مردانی	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۹- دکتر عطیه مغیثی	دانشیار، فوق تخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات دیابت و غدد داخلی مارینا، امریکا
۴۰- دکتر مرجان منصوریان	استادیار، دکترای تخصصی اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۱- دکتر محمدرضا نوربخش	استاد، متخصص فیزیوتراپی، دانشگاه جورجیای شمالی، آمریکا
۴۲- دکتر مصطفی هاشمی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
هفته نامه

راهنمای نگارش و ارسال مقاله علمی- پژوهشی

مجله علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی اصفهان، در Scopus نمایه شده و به صورت ماهنامه، تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد. این مجله اقدام به انتشار مقالات علمی در زمینه پژوهش‌های علوم پزشکی (پایه و بالینی) و رشته‌های وابسته به آن می‌نماید. مقالاتی در این مجله پذیرفته می‌شوند که علمی- پژوهشی بوده و پیش از این در جای دیگری منتشر نشده و یا حتی به طور همزمان به مجلات دیگر ارسال نگردیده باشند. این مجله مقالات به زبان فارسی شامل انواع پژوهشی اصیل، مروری، گزارش موردی، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را منتشر می‌نماید و بر روی وب سایت مجله به آدرس http://jims.mui.ac.ir قرار می‌دهد. مقالات ارسالی باید در فرمت پیشنهادی مجله ارسال گردند و به دست نوشته‌هایی که در خارج از فرمت ذکر شده در راهنمای نویسندگان ارسال گردند ترتیب اثر داده نخواهد شد.

هیأت تحریریه پس از دریافت مقالات اقدام به بررسی مقاله از لحاظ ساختاری و موضوعی می‌نماید و چنانچه مقاله در بررسی اولیه مورد تأیید باشد، برای داوری ارسال می‌شود. زمان فرایند داوری (از دریافت تا پذیرش نهایی آن) ۳ ماه کاری (بجز روزهای پنج شنبه و تعطیلات رسمی) می‌باشد. *لازم به ذکر است داوری و انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است.* لذا پس از انجام مراحل داوری و پذیرش مقاله و قبل از صدور نامه پذیرش، لازم است نویسندگان محترم فرایند مالی را تکمیل نمایند.

نحوه ارسال دست نوشته‌ها در سامانه

نویسندگان محترم پس از آماده سازی دست نوشته مطابق راهنمای نویسندگان، از طریق ثبت نام (Registration) در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی اصفهان به آدرس http://jims.mui.ac.ir، می‌توانند وارد صفحه شخصی خود شده و تمامی بخش‌ها را تکمیل و دست نوشته را ارسال نمایند.

توجه به نکات زیر در ارسال مقاله ضروری است:

- ارسال مقاله منحصرا از طریق ثبت نام در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی انجام می‌شود. لازم است فقط نویسنده مسؤول اقدام به سابمیت مقاله نماید و مقالاتی که توسط سایر نویسندگان یا اشخاص دیگر سابمیت شوند مورد بررسی قرار نخواهند گرفت.

- نویسنده‌ای که برای بار دوم اقدام به ارسال مقاله اصلاح شده خود می‌نماید، حتما باید از طریق صفحه شخصی قبلی خود اقدام نموده و به هیچ عنوان دوباره به عنوان کاربر جدید و با ایمیل جدید در سامانه ثبت نام نکند.

- وارد کردن اسامی تمامی نویسندگان در سامانه و در محل مربوط به وارد کردن اسامی نویسندگان مقاله به همراه کد ORCID، الزامی است.

- پس از ارسال مقاله، تغییر اسامی نویسندگان امکان‌پذیر نمی‌باشد.

- فایل‌هایی که نویسنده در مرحله اولیه ارسال می کنند شامل: (۱) فایل Word دست نوشته (۲) فایل Word صفحه عنوان (۳) فرم تعهدنامه، (۴) فرم مشخصات کامل نویسندگان (Cover letter) است که به ترتیب بایستی آپلود گردند.

- نویسندگان در قسمت ارسال فایل ها، با ارسال یک فایل تعهد نامه که به امضای همه نویسندگان رسیده است، حق انتشار مقاله را به مجله دانشکده پزشکی اصفهان واگذار می‌نمایند. در غیر این صورت مقاله در روند داوری قرار نخواهد گرفت.

- مقالات ارسالی باید دارای فایل مجزا (Cover letter) شامل یک نامه خطاب به سردبیر حاوی عنوان مقاله، اسم، آدرس و ایمیل نویسنده مسؤول، اسامی و ایمیل سایر نویسندگان باشد. در این نامه بایستی به صراحت اعلام گردد که دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد.

- در مرحله دوم بعد از این که دست نوشته از نظر همراستایی و فرمت مجله مورد ارزیابی اولیه قرار گرفت و تائیدیه دفتر مجله در خصوص قابل ارجاع بودن آن دست نوشته برای شروع فرایند داوری ارسال گردید، ضروری است ۵۰ درصد کل هزینه به منظور شروع فرآیند داوری به عنوان (Processing fee) بر اساس موارد ذکر شده در بخش هزینه انتشار راهنمای نویسندگان پرداخت گردد. این هزینه غیر قابل برگشت می باشد. سپس فایل مربوط به تصویر اسکن شده فیش پرداختی فقط با نام نویسنده مسؤول از طریق سایت به دفتر مجله ارسال گردد. لازم به ذکر است تنظیم دست نوشته بر اساس فرمت مجله، و پرداخت وجه اولیه فقط جهت ارسال به داوران بوده و دال بر پذیرش آن نمی‌باشد.

نحوه ارایه مقاله

از مؤلفان گرامی تقاضا می‌شود، در ارسال مقالات به نکات زیر توجه فرمایند:

- ارسال مقاله فقط از طریق سایت پذیرفته می شود.

- زبان رسمی مجله، فارسی است و مقالات فقط به زبان فارسی همراه با چکیده انگلیسی قابل پذیرش هستند.

- دست نوشته‌های به زبان‌های غیر از فارسی و ترجمه شده در این مجله منتشر نمی‌شود.

- مقالات باید پژوهشی و حاصل تحقیق نویسنده یا نویسندگان در زمینه علوم پزشکی (پایه و بالینی) و رشته‌های مرتبط بوده که پیش از این به انگلیسی یا فارسی در سایر مجلات منتشر نشده باشد و یا به طور همزمان به مجلات دیگر نیز ارسال نگردیده باشد.

- این مجله مقالات شامل انواع اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را در منتشر می‌نماید.

- فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین نیز توسط این مجله انتشار می یابد.

- **مقالات قابل انتشار در مجله علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی اصفهان شامل موارد زیر می‌باشند.**

الف- مقالات پژوهشی اصیل: مقالات علمی- پژوهشی با حداکثر حجم ۲۵۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مآخذ ۳۰ عدد می‌باشد.

ب ـ مقالات کوتاه پژوهشی: مقالات علمی کوتاه پژوهشی با حداکثر ۱۰۰۰کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مآخذ ۱۵ عدد می‌باشد.

ج- مقالات مروری ـ مقالات مروری (Review Article) از نویسندگان مجرب و صاحب مقالات پژوهشی در زمینه مورد بحث پذیرفته خواهد شد. اصول کلی نگارش مشابه سایر مقاله‌های پژوهشی است. این نوع مقالات با حداکثر ۷۰۰۰ کلمه می‌باشند. در فهرست منابع حداقل ۶ مرجع مورد استفاده می‌بایستی متعلق به نویسنده باشد (با حداقل چهار مقاله از شش مقاله به عنوان نویسنده اول و یا نویسنده مسؤول). برای ارسال مقالات مروری ضروری است که حتما از قبل با سردبیر مجله هماهنگی لازم صورت گرفته و سپس اقدام به ارسال دست نوشته نمایند در غیر اینصورت مجله از بررسی آن معذور است.

د- نامه به سر دبیر- نامه به سردبیر می‌تواند به‌صورت ارایه مشاهدات علمی یا نقد یکی از مقالات چاپ شده در این مجله باشد و با بحثی کوتاه، همراه با درج فهرست منابع نگاشته شود. نامه به سردبیر با حداکثر ۱۰۰۰کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مآخذ ۵ عدد می‌باشد. نقد مقاله برای نویسنده مسؤول مقاله مورد نقد، ارسال خواهد شد و همراه با پاسخ وی، در صورت تصویب شورای نویسندگان به چاپ خواهد رسید.

ه- تحقیقات کیفی- تحقیقات کیفی با حداکثر ۳۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مآخذ ۳۰ عدد می‌باشد.

ز- گزارش مورد- گزارش‌های موردی شامل گزارش موارد نادر یا جالب است و باید شامل چکیده، مقدمه، گزارش مورد، بحث، نتیجه‌گیری، سپاس‌گزاری و منابع باشد. گزارش مورد با حداکثر ۱۰۰۰کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۵، سقف منابع و مآخذ ۱۵ عدد می‌باشد.

تبصره ۱ـ مقالات ترجمه پذیرفته نمی‌شود.

تبصره ۲- ارسال دست نوشته یا مدارک با فرمت PDF به هیچ عنوان پذیرفته نیست.

تبصره ۳- مقاله‌های کارآزمایی بالینی پیش از ارسال برای انتشار، بایستی در یکی از مراکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی مانند مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران IRCT به آدرس زیر ثبت شده و کد ثبت آنها به‌همراه مقاله ارسال شود: http://www.irct.ir

- مقالات ارسالی باید دارای بخش‌های ذیل باشند و به دست نوشته‌هایی که خارج از فرمت ذکر شده ارسال گردند ترتیب اثر داده نخواهد شد.

- دست‌نوشته باید توسط نرم‌افزار MS Word در سایز A4 و فاقد هرگونه صفحه‌آرایی، فاصله خطوط ۱ برابر (Single) با حاشیه‌های ۲/۵ سانتی‌متری، به صورت یک ستونی، قلم B Zar و سایز ۱۱، قلم عنوان B Zar سایز ۱۱ Bold تهیه شوند. برای تایپ متن خلاصه انگلیسی و رفرنس‌ها از قلم Time New Roman سایز ۱۰ و جهت قلم عنوان لاتین نیز از قلم Time New Roman سایز ۱۰ Bold استفاده شود.

- معادلات باید به صورت خوانا با حروف و علائم مناسب با استفاده از Microsoft Word Equation تهیه شوند. واحدها بر حسب واحد بین‌المللی (SI) و معادلات به ترتیب شماره‌گذاری شوند.

- دست نوشته باید شامل دو فایل: (۱) فایل Word صفحه عنوان (۲) فایل Word دست نوشته (به ترتیب دارای چکیده، مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع) باشد. تأکید می‌گردد از ارسال فایل‌های متعدد حاوی جداول، تصاویر و غیره خودداری شود.

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 و تقدیر و تشکر (شامل تشکر از افراد، شماره طرح پژوهشی و یا پایان نامه، ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی) باشد. ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

-ذکر اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان به انگلیسی نیز در صفحه عنوان الزامی است.

تبصره ۱- عنوان مقاله معرف محتوای مقاله باشد و از ۲۰ واژه تجاوز نکند.

تبصره ۲- با توجه به سیستم الکترونیک مجله، مقاله مستقیما برای داور ارسال میگردد، لذا توجه شود که در فایل ورد پس از صفحه عنوان، مقاله فاقد اسامی نویسندگان باشد. در غیر این صورت تا اصلاح شدن فایل، ارسال مقاله برای داور متوقف می‌شود.

- چکیده: تمام مقالات اصلی باید دارای چکیده مقاله به دو زبان فارسی و انگلیسی با حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد. چکیده باید شامل بخش‌های مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث و واژگان کلیدی باشد. در پایان چکیده مقاله سه الی پنج کلمه کلیدی قرار می گیرد که بایستی تنها با استفاده از راهنمای MeSH از آدرس (http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html) استخراج گردند. چکیده انگلیسی بایستی دقیقاً معادل چکیده فارسی باشد و شامل بخش‌های Keywords, Conclusion ,Findings ,Methods ,Background باشد.

- 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.

– 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؛ شیوه تأمین روایی مشخص شود و توصیف دقیق فرآیند اجرایی برای رواسازی آن توضیح داده شود ،چگونگی تعیین روش‌های مورد استفاده برای تأمین پایایی پرسش‌نامه و گزارش نتایج آزمون‌های آماری به کار گرفته شده جهت تأمین پایایی توضیح داده شود. در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

– یافته‌ها: این بخش به صورت متن همراه با جدول‌ها، شکل‌ها و نمودارها ارائه می‌گردد. در این بخش فقط یافته‌ها ارائه می‌شود و باید از ذکر دلایل و استدلال‌های مرتبط با آن خودداری گردد. محتوای جداول نباید به صورت کامل در متن ارائه شوند، بلکه کافی است با ذکر شماره جدول، شکل و یا نمودار به آنها در میان متن اشاره شود. جدول‌ها، نمودارها و شکل‌ها هر کدام باید در یک صفحه جداگانه و پس از منابع، در پایان دست‌نوشته به ترتیب آورده شوند. همچنین باید جداول و نمودارها در فایل اصلی دست نوشته، علاوه بر ارجاع در متن، محل قرارگیری آن‌ها نیز جانمایی شده باشند.

– 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.

– جدول‌ها: جداول بدون حاشیه خارجی ارسال گردد. 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.جدول ها باید دارای زمینه سفید و بدون سایه و ترام باشد. جداول باید توسط نرم‌افزار MS Word و فاقد هرگونه صفحه آرایی، فاصله خطوط ۱ برابر (Single)، قلم B Zar و سایز ۱۰و قلم متغیرهای هر ستونB Zar و سایز ۱۰ Bold تهیه شوند. برای تایپ کلمات لاتین در جدول از قلمTime New Roman سایز ۹ استفاده شود.

– تصویر و نمودار: تصویر یا نمودار همراه ذکر عنوان آن در زیر و با فرمت JPG قابل قبول است. لازم است هر تصویر با کیفیت ۲۰۰ نقطه در اینچ و محدودیت حجم حداکثر ۵۰۰ کیلو بایت در نظر گرفته شود.

تبصره۱– اگر شکل یا جدولی از مرجع دیگری اخذ شده است، شماره مرجع در آخر عنوان جدول یا شکل نوشته شود و مشخصات مأخذ در بخش مراجع درج شود.

–تقدیر و تشکر: در این بخش تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند 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. همچنین ذکر نام سازمان(های) حمایت‌کننده یا تأمین‌کننده مالی پژوهش در این بخش ضروری است.

– در صورتی‌که دست نوشته حاصل از پایان‌نامه دانشجویی باشد حتما بایستی در قسمت تقدیر و تشکر شماره پایان‌نامه مصوب دانشگاه و نیز نام دانشگاه ذکر گردد.

– تبصره۱– ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

– منابع: نویسنده باید از صحت اشاره منابع ذکر شده به مطالب مورد استناد مطمئن باشد. ساختار منابع در این مجله بر اساس معاهده ونکوور (Vancouver) می‌باشد. تمامی منابع باید به زبان انگلیسی باشد، ترجمه متن منابع فارسی به عهده نویسنده است و در پایان آن عبارت [In Persian] خواهد آمد. موارد ذیل برای نمونه ذکر می‌گردد:

– اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

Zini F, Basiri Jahromi Sh. Study of fungal infections in patients with leukemia. Iran J Public Health 1994; 23(1-4): 89-103. [In Persian].

(نام نویسندگان با علامت کاما از هم جدا شود. ذکر اسامی نویسندگان تا نفر ششم الزامی است. اگر تعداد نویسندگان بیش از شش نفر باشد، پس از نام نفر ششم، از عبارت "et al." استفاده شود.)

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان کتاب (.) نوبت چاپ (.) محل نشر (:) ناشر (;) سال انتشار (.) p (.) شماره صفحات (.). مثال:

نمونه انگلیسی:

Romenes GJ. Cunningham's manual. 15th ed. New York, NY: Oxford Univ Press; 1987.

نمونه فارسی:

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

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

- منابع به صورت پایان‌نامه

نام خانوادگی نویسنده (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان پایان‌نامه (فاصله) [مقطع پایان‌نامه] (.) نام شهر، کشور (:) نام دانشکده (،) نام دانشگاه (;) سال انتشار

- منابع به صورت الکترونیکی- مجله الکترونیکی روی اینترنت

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان مقاله (.) نام اختصاری مجله الکترونیکی (فاصله) [online] (سال نشر (و ماه نشر در صورت لزوم) (؛) دوره (شماره) (:) [شماره صفحات یا قاب‌ها] (.) [روز، ماه و سال دسترسی cited] (;) Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال:

Mosharraf R, Hajian F. Occlusal morphology of the mandibular first and second premolars in Iranian adolescents. Inter J Dental Anthropol [Online] 2004; 5: [3 Screens] [cited 2006 Nov 13]; Available from: http://www.jida.syllabapress.com/abstractsijda5.shtml

منابع به صورت صفحه وب

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده [یا شرح پدیدآور] (.) عنوان (.) سال نشر در صورت دسترسی (:) [شماره صفحات یا قاب‌ها] [روز، ماه و سال دسترسی cited] (;) Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال:

Dentsply Co. BioPure (MTAD) Cleanser. [2 screens] [cited 2006 Nov 26]. Available from: www.store.tulsadental.com/catalog/biopure.html

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

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

- 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.

- پس از انتشار، نسخه ای برای نویسنده مسؤول ارسال نخواهد شد و شماره های مجله از طریق سایت برای نویسندگان و خوانندگان قابل دسترسی می‌باشد.

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

- 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.

- هزینه انتشار:

دست‌نوشته در ابتدا از نظر هم‌راستایی با اهداف و تنظیم در چهارچوب مجله مورد ارزیابی اولیه قرار می‌گیرد. در صورت عدم انطباق بلافاصله به نویسنده مسؤول برگشت داده می‌شود.

- این مجله مطابق دستورالعمل ذیل نسبت به اخذ هزینه فرآیند بررسی و پذیرش اقدام می‌نماید.

- برآورد هزینه توسط کارشناسان دفتر مجله محاسبه و از طریق پست الکترونیک برای نویسنده مسئول ارسال می‌گردد.

- شروع فرآیند بررسی صرفاً منوط به پرداخت هزینه اولیه به میزان ۵۰ درصد کل هزینه برآورد شده و ثبت فیش پرداختی در سایت مجله خواهد بود.

نکته مهم: با توجه به این که وجوه واریز شده غیرقابل برگشت می‌باشد، لازم است صرفا پس از دریافت ایمیل هزینه بررسی از طرف دفتر مجله، نویسنده مسؤول نسبت به واریز وجه اقدام کند.

جدول نحوه محاسبه هزینه‌های دریافتی

نوع مقاله	تعداد کلمات مجاز شامل کلیه بخش‌های مقاله، رفرنس‌ها، شکل‌ها و نمودارها (هر شکل برابر ۳۰۰ کلمه محاسبه می‌شود)	هزینه دریافتی* (هزار تومان)	هزینه دریافتی به ازای هر ۵۰۰ کلمه اضافی (هزار تومان)
نامه به سردبیر	۴۰۰	–	–
گزارش مورد	۱۰۰۰	۲۵۰	۱۰۰
کوتاه	۱۰۰۰	۲۵۰	۱۰۰
پژوهشی اصیل	۲۵۰۰	۵۰۰	۱۰۰
پژوهشی اصیل (مطالعات کیفی)	۳۰۰۰	۵۰۰	۱۰۰
مروری	۷۰۰۰	۵۰۰	۱۰۰

برای محاسبه هزینه مقاله، تعداد کل کلمات مقاله (شامل عنوان‌بندی، چکیده فارسی و انگلیسی، متن اصلی، منابع و جداول) با هم جمع می‌گردد. ضمناً به ازای هر نمودار یا تصویر، تعداد ۳۰۰ کلمه به تعداد کلمات مقاله اضافه می‌گردد.

- نویسنده مسؤول باید بعد از دریافت ایمیل پرداخت هزینه از طرف دفتر مجله مبنی بر پرداخت ۵۰ درصد کل هزینه، مبلغ مورد نظر را به شماره حساب ۴۹۷۵۷۶۱۰۰۷ بانک ملت به نام دانشگاه علوم پزشکی اصفهان واریز نماید. برای پرداخت از سایر بانک ها از شماره شبا "۵۸۰۱۲۰۰۰۰۰۰۰۰۴۹۷۵۷۶۱۰۰۷" و شماره شناسه "۸۴۱۱۳۰۰۰۰۰۰۰۰۲" استفاده گردد. نام نویسنده مسؤول، شماره مقاله و نوع هزینه بایستی روی فیش واریزی نوشته شود و سپس اسکن فیش با کیفیت بالا و خوانا از طریق سایت، به دفتر مجله ارسال شود.

نکته: درج شماره تماس ضروری (تلفن همراه، تلفن ثابت و ایمیل) نویسنده مسؤول در فایل مشخصات نویسندگان الزامی است.

نکته مهم: لازم به ذکر است پرداخت وجه اولیه فقط برای شروع و انجام فرآیند بررسی می‌باشد و تعهدی برای پذیرش مقاله ایجاد نمی‌کند. ضمنا این هزینه غیر قابل بازگشت خواهد بود.

- در صورت پذیرش نهایی ۵۰ درصد هزینه باقیمانده به عنوان هزینه انتشار دریافت خواهد شد.

- درج شماره مقاله، نام نویسنده مسؤول و نوع هزینه (هزینه بررسی یا هزینه پذیرش) روی فیش الزامی است.

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.

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

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

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

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

مقایسه‌ی تأثیر تزریق زیرجلدی متوکلوپرامید، پتیدین و کتامین بر درد بعد از اعمال جراحی اصلاح فتق اینگوینال تحت بیهوشی عمومی در یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی..... ۲۵۲

داریوش مرادی فارسانی، زهرا اعظمیان جزی، سید مرتضی حیدری، بهزاد ناظم‌رعایا

کلون، بیان و تخلیص پروتئین نوترکیب هماگلوتینین ویروس آنفلوانزا H1N1 انسانی در رده‌ی یوکاریوتیک سلول حشره با استفاده از وکتور باکولوویروس..... ۲۶۰

نیلوفر راشدی، مرتضی تقی‌زاده، پریسا محمدی‌نژاد، مهدی مهدوی، رضا جلالی‌راد

گزارش مورد

بروز کونژکتیویت، هوردئولوم و شالازیون دوطرفه در ارتباط با مصرف ایزوترتینوین سیستمیک: یک گزارش موردی..... ۲۶۷

سمن افخمی اردکانی، شتیلا ترابی، یحیی شاهرخی

DOI: 10.22122/jims.v38i572.10288 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هشتم/شماره‌ی ۵۷۲/هفته‌ی چهارم خرداد ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۱ تاریخ چاپ: ۱۳۹۹/۳/۲۸

مقایسه‌ی تأثیر تزریق زیرجلدی متوکلوپرامید، پتیدین و کتامین بر درد بعد از اعمال جراحی اصلاح فتق اینگوینال تحت بیهوشی عمومی در یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی

داریوش مرادی فارسانی[۱]، زهرا اعظمیان جزی[۲]، سید مرتضی حیدری[۳]، بهزاد ناظم‌رعایا[۱]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تأثیر تزریق زیرجلدی متوکلوپرامید، پتیدین و کتامین بر درد بعد از اعمال جراحی اصلاح فتق اینگوینال تحت بیهوشی عمومی و مقایسه‌ی آن با گروه شاهد انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی، تعداد ۱۰۴ نفر از بیماران انتخاب و به طور تصادفی به چهار گروه ۲۶ نفری تقسیم شدند. بیماران گروه ۱ معادل ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم کتامین، بیماران گروه ۲ معادل ۰/۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم پتیدین، بیماران گروه ۳ معادل ۰/۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم متوکلوپرامید و بیماران گروه شاهد، نرمال سالین به صورت زیرجلدی در محل برش جراحی دریافت کردند. بیماران در ۲۴ ساعت اول بعد از ورود به ریکاوری، از نظر شدت درد بر اساس معیار دیداری سنجش درد (Visual analog scale یا VAS)، متغیرهای همودینامیک، مدت زمان خروج لوله‌ی تراشه و ریکاوری، عوارض دارویی، مجموع مسکن مصرفی اضافی، زمان اولین نیاز به مسکن اضافی و رضایتمندی مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: میانگین VAS در بیشتر زمان‌های بعد از ورود به ریکاوری ($P < ۰/۰۵۰$) و میانگین مجموع مسکن مصرفی اضافی ($P = ۰/۰۰۷$) در دو گروه کتامین و پتیدین به طور معنی‌داری کمتر از دو گروه متوکلوپرامید و شاهد بود. میزان رضایت از بی‌دردی بعد از عمل در گروه پتیدین به طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: پتیدین و کتامین، اثر برابری در کاهش شدت درد بعد از عمل دارند، اما رضایتمندی بیماران از پتیدین بیشتر بود. متوکلوپرامید در مقایسه با دو داروی دیگر اثر کمتر و گاهی برابر با دارونما در کنترل درد پس از عمل داشته و همراه با عوارض بیشتری بوده است.

واژگان کلیدی: متوکلوپرامید؛ پتیدین؛ کتامین؛ اصلاح فتق اینگوینال؛ درد پس از عمل

ارجاع: مرادی فارسانی داریوش، اعظمیان جزی زهرا، حیدری سید مرتضی، ناظم‌رعایا بهزاد. **مقایسه‌ی تأثیر تزریق زیرجلدی متوکلوپرامید، پتیدین و کتامین بر درد بعد از اعمال جراحی اصلاح فتق اینگوینال تحت بیهوشی عمومی در یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۹؛ ۳۸ (۵۷۲): ۲۵۹-۲۵۲.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقدمه

مدیریت درد پس از عمل جراحی، یکی از مهم‌ترین وظایف یک متخصص بیهوشی است. اگر درد پس از عمل جراحی به خوبی کنترل نشود، می‌تواند منجر به ایجاد حساسیت محیطی و مرکزی و در نهایت ایجاد سندرم‌های درد مزمن شود (۱). همچنین، عدم کنترل مناسب درد باعث افزایش مدت زمان بستری در بیمارستان جهت کنترل درد حاد پس از عمل جراحی، بستری مجدد برای مدیریت درد، کاهش رضایتمندی بیمار و افزایش هزینه‌های درمانی می‌شود (۲).

اعمال جراحی عمده‌ی (Major) شکمی با درد پس از عمل شدیدی همراه هستند که همین امر، باعث تجویز دز بالایی از مسکن‌ها برای بهبود درد می‌شود (۳). در کنترل درد پس از جراحی، آگونیست‌های خالص گیرنده های اپیوئیدی مانند مرفین و پتیدین بسیار مؤثر هستند و به طور گسترده‌ای استفاده می‌شوند، اما این داروها همراه با عوارضی نظیرتهوع و استفراغ، خارش، احتباس

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

۲- دستیار، گروه قلب و عروق، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه بیهوشی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: زهرا اعظمیان جزی؛ دستیار، گروه قلب و عروق، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: azamianza@yahoo.com

ادراری، دپرشن تنفسی و ایلئوس هستند (۴، ۱).

یکی از پدیده‌های اصلی در انتقال درد التهابی، تحریک طناب نخاعی توسط گلوتامات و آمینواسیدهای آسپارتات با اثر بر گیرنده ی N-methyl-D-aspartate (NMDA) می‌باشد. مکانیسم اثر کتامین، بلوک گیرنده‌های NMDA و بلوک نورون‌های حسی است و در بی‌حسی‌های جراحی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). کتامین در کنترل درد حاد پس از جراحی مورد استفاده قرار گرفته است و می‌تواند از تبدیل درد حاد پس از عمل به دردهای مزمنی که پاسخ خوبی به درمان نمی‌دهند، پیش‌گیری کند (۲). تأثیر کتامین بر درد پس از عمل جراحی در مطالعات زیادی نشان داده شده است (۶). در مطالعه‌ی دیگری تزریق زیرجلدی کتامین قبل از برش جراحی، سبب کاهش نمره‌ی درد پس از جراحی ختنه شده است (۷).

در بعضی مطالعات، اثر ضد درد متوکلوپرامید را به مکانیسم‌های اپیوئیدهای اندوژن و افزایش سطح پرولاکتین ارتباط داده‌اند (۸). همچنین، این دارو با تأثیر بر غشای تحریک‌پذیر نورون‌ها، مسیر تحریکی اعصاب محیطی را به صورت برگشت پذیر بلوک می‌کند. اثر ضد درد این دارو بر سردرد نشان داده شده است (۹). در رابطه با استفاده ی زیرجلدی از متوکلوپرامید نیز تزریق زیرجلدی متوکلوپرامید در زنان باردار مبتلا به هایپرامزیس گراویداروم، در درمان تهوع و استفراغ آن‌ها مفید و ایمن بوده است (۱۰).

با وجود تحقیقات زیادی که در رابطه با عوامل مؤثر بر شدت درد بعد از اعمال جراحی صورت گرفته است، هنوز اجماع نظر کلی در این رابطه وجود ندارد و بر اساس تحقیق انجام شده، در رابطه با تزریق زیرجلدی پتیدین، کتامین و متوکلوپرامید و تأثیر آن بر درد پس از عمل جراحی به ویژه اعمال جراحی اصلاح فتق اینگوینال و نیز مقایسه ی بین این داروها، مطالعات کافی در دست نیست. از این رو، پژوهش حاضر با هدف مقایسه‌ی اثر تزریق زیرجلدی کتامین، پتیدین و متوکلوپرامید بر درد پس از اعمال جراحی اصلاح فتق اینگوینال تحت بیهوشی عمومی انجام شد.

روش‌ها

پژوهش حاضر، یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی دو سو کور، با کد اخلاق در پژوهش به شماره ی IR.MUI.REC.1396.3.609 و کد IRCT20150106020588N7 ثبت شده در مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران بود. در این مطالعه، تعداد ۱۰۴ نفر از بیماران ۶۵-۱۸ ساله با درجات بیهوشی I و II بر اساس معیارهای American Society of Anesthesiologists (ASA) کاندیدای اعمال جراحی اصلاح فتق اینگوینال انتخابی تحت بیهوشی عمومی، در بیمارستان الزهرای (س) اصفهان سال ۱۳۹۶ وارد مطالعه شدند.

حجم نمونه ی مورد نیاز مطالعه، با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مقایسه ی میانگین‌ها و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، توان آزمون ۸۰ درصد، انحراف معیار شدت درد بعد از عمل که ۱/۶۷ برآورد شد و حداقل تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها که ۱/۳ در نظر گرفته شد، تعداد ۲۶ نفر در هر گروه برآورد گردید. روش نمونه گیری در این مطالعه به شیوه ی آسان بود. بیماران بر اساس معیارهای ورود به مطالعه و با بررسی پرونده‌ی بیماران و مصاحبه با آن‌ها انتخاب شدند و از آنان، رضایت آگاهانه برای شرکت در مطالعه، گرفته شد.

معیارهای عدم ورود به مطالعه عبارت از هر گونه بیماری سیستمیک کنترل نشده، هر گونه حساسیت به داروهای پتیدین، متوکلوپرامید و کتامین، سابقه‌ی اعتیاد به مواد مخدر، الکل و سابقه‌ی درد مزمن در ۶ ماه گذشته، مصرف هر گونه داروی مسکن ظرف ۲۴ ساعت اخیر و سابقه‌ی ابتلا به پرفشاری خون، هایپرتیروئیدیسم و بیماری‌های سایکولوژیک بودند.

معیارهای خروج از مطالعه عبارت از وقوع شرایطی منجر به تغییر روش بیهوشی، بستری بیمار در بخش مراقبت‌های ویژه (Intensive care unit یا ICU)، فوت بیمار و عدم رضایت بیمار به ادامه‌ی شرکت در مطالعه بودند.

آزمودنی‌ها به طور تصادفی و بر اساس جدول اعداد تصادفی به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند. بیماران گروه ۱ میزان ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم کتامین، بیماران گروه ۲ میزان ۰/۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم پتیدین و بیماران گروه ۳ معادل ۰/۱۰ میلی گرم/کیلوگرم متوکلوپرامید که با نرمال‌سالین به حجم ۱۰ سی‌سی رسانده شد، دریافت کردند. بیماران گروه ۴ نیز ۱۰ سی‌سی محلول نرمال‌سالین استریل دریافت کردند. تزریق به صورت زیرجلدی درست قبل از بستن پوست در محل برش جراحی صورت گرفت. به منظور کورسازی مطالعه، بیماران از اختصاص به هر یک از گروه‌ها و نوع داروی دریافتی بی‌اطلاع بودند و دارو توسط یکی از متخصصین بیهوشی که در جریان مطالعه نبود، در سرنگ‌های مشابه و کدگذاری شده تهیه گردید و جهت تزریق در اختیار مجری طرح قرار داده شد. همچنین، فرد جمع‌آوری کننده‌ی داده‌ها، متفاوت از کسی بود که تزریق داروها را انجام می‌داد و ایشان نیز از نوع داروی تزریقی به بیمار، آگاه نبود.

به همه‌ی بیماران قبل از القای بیهوشی، میزان ۵ سی‌سی/کیلوگرم محلول رینگر لاکتات وریدی تزریق شد تا از افت شدید فشار خون جلوگیری شود. همه ی بیماران، به یک روش مشابه تحت بیهوشی عمومی قرار گرفتند. فنتانیل ۲ میکروگرم/کیلوگرم، میدازولام ۰/۰۳ میلی‌گرم/کیلوگرم، تیوپنتال سدیم ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و آتراکوریوم ۰/۵ میلی گرم/کیلوگرم و همگی به صورت وریدی تجویز

شدند. به منظور نگهداری بیهوشی از گاز ایزوفلوران با Minimum alveolar concentration (MAC) ۱/۲ درصد همراه با اکسیژن و Nitrous oxide (N_2O) هر کدام به میزان ۵۰ درصد استفاده شد. در پایان عمل جراحی، گاز ایزوفلوران قطع گردید و با اتمام پانسمان، N_2O نیز قطع شد و هم‌زمان، ریه‌ها توسط اکسیژن ۱۰۰ درصد با جریان ۴ لیتر/دقیقه تهویه گردید تا تهویه‌ی خود به خودی بیمار شروع شود و بلوک عصبی- ماهیچه‌ای توسط نئوستیگمین با دز ۰/۰۴ میلی‌گرم/کیلوگرم و آتروپین ۰/۰۲ میلی‌گرم/کیلوگرم، Reverse گردید و بیمار بیدار شد و لوله‌ی تراشه خارج گردید. پس از پایان جراحی، بیماران به ریکاوری و سپس به بخش منتقل شدند.

پس از ورود بیمار به ریکاوری (واحد مراقبت بعد از عمل)، شدت درد بر اساس معیار دیداری سنجش درد Visual analog scale یا VAS) و میانگین فشار خون شریانی Mean arterial pressure یا MAP)، ضربان قلب Heart rate یا HR) و تعداد تنفس Respiratory rate یا RR) در بدو ورود به ریکاوری، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد و ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۲۴ ساعت بعد از ورود به ریکاوری سنجیده و ثبت شد. در هر یک از زمان‌ها، اگر شدت درد بیمار بر اساس VAS بیش از ۳ بود، از دزهای بولوس وریدی مرفین به میزان ۰/۰۸ میلی‌گرم/کیلوگرم به عنوان مسکن اضافی استفاده می‌شد تا VAS بیمار به زیر ۳ برسد. همچنین، مدت زمان خروج لوله‌ی تراشه (از زمان قطع داروهای بیهوشی تا خروج لوله‌ی تراشه)، مدت زمان ریکاوری (بر اساس معیارهای جدول Modified Aldrete score) و همچنین، عوارض دارویی در ۴ گروه ثبت و بررسی گردید. در انتهای ۲۴ ساعت نیز مجموع مسکن مصرفی اضافی، زمان اولین نیاز به مسکن اضافی و رضایتمندی بیماران به صورت کاملا راضی، نسبتا راضی، راضی، نسبتا ناراضی و کاملا ناراضی ثبت گردید. شکل ۱ فلوچارت انجام مطالعه را نشان می‌دهد.

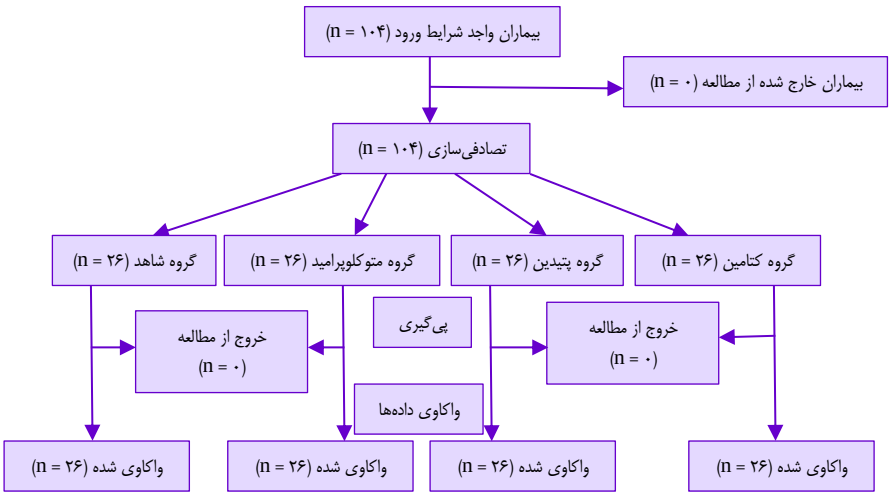
واکاوی آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) و آزمون‌های One-way ANOVA و Repeated measures ANOVA، χ^2 و Kruskal–Wallis در سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵۰$ انجام شد.

یافته‌ها

میانگین سن ($P = ۰/۱۴۰$) و نیز توزیع فراوانی جنس بیماران بین چهار گروه تفاوت معنی‌داری نداشت ($P = ۰/۸۹۰$) (جدول ۱).

در همه‌ی زمان‌ها، میانگین نمره‌ی شدت درد بین چهار گروه اختلاف معنی داری داشت ($P < ۰/۰۵۰$). در بدو ورود به ریکاوری، میانگین نمره‌ی شدت درد در دو گروه کتامین و پلازیل به طور معنی‌داری کمتر از دو گروه پتیدین و شاهد بود. ۲۴ ساعت بعد از ورود به ریکاوری میانگین نمره ی شدت درد در گروه کتامین کمتر از دو گروه پتیدین و پلازیل و در این دو گروه کمتر از گروه شاهد بود. در سایر زمان‌ها، میانگین نمره‌ی شدت درد در دو گروه کتامین و پتیدین به طور معنی‌داری کمتر از دو گروه پلازیل و شاهد بود (جدول ۲).

در همه‌ی زمان‌ها، میانگین MAP بین چهار گروه اختلاف معنی‌داری داشت ($P < ۰/۰۵۰$). میانگین MAP در بدو ورود به ریکاوری، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد و ۲، ۴، ۸ و ۲۴ ساعت بعد از ورود به ریکاوری در دو گروه پتیدین و کتامین به طور معنی‌داری کمتر از دو گروه شاهد و متوکلوپرامید بود. فقط در ۱۶ ساعت بعد از ورود به ریکاوری، میانگین MAP در گروه پتیدین کمتر از گروه کتامین و در گروه کتامین کمتر از دو گروه شاهد و متوکلوپرامید بود. میانگین HR تا ۱۶ ساعت بعد از ورود به ریکاوری بین چهار گروه تفاوت معنی داری داشت؛ به طوری که در گروه پتیدین و کتامین کمتر از دو گروه دیگر بود ($P < ۰/۰۵۰$)، اما ۲۴ ساعت بعد از ورود به ریکاوری بین چهار گروه اختلاف معنی‌داری نداشت ($P = ۰/۰۹۰$). میانگین تعداد تنفس در هیچ یک از زمان‌ها بین چهار گروه اختلاف معنی‌داری نداشت ($P < ۰/۰۵۰$).



شکل ۱. فلوچارت اجرای تحقیق

جدول ۱. شاخص‌های دموگرافیک در چهار گروه کتامین، پتیدین، متوکلوپرامید و شاهد

گروه / متغیر	شاهد	پتیدین	کتامین	متوکلوپرامید	مقدار P
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
سن (سال)	۴۲/۱ ± ۱۲/۸	۴۷/۵ ± ۱۳/۰	۴۲/۴ ± ۱۲/۳	۴۹/۲ ± ۱۵/۷	۰/۱۴۰
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
جنس					۰/۸۹۰
مرد	۲۱ (۸۰/۸)	۲۰ (۷۶/۹)	۲۱ (۸۰/۸)	۱۹ (۷۳/۱)	
زن	۵ (۱۹/۲)	۶ (۲۳/۱)	۵ (۱۹/۲)	۷ (۲۶/۹)	

آزمون One-way ANOVA برای مقایسه‌ی میانگین سن بیماران و χ^2 برای مقایسه‌ی توزیع فراوانی جنس بیماران استفاده شد.

میانگین مدت زمان خروج لوله‌ی تراشه در گروه کتامین به طور معنی داری بیشتر از سه گروه دیگر بود (P < ۰/۰۰۱). میانگین مدت زمان ریکاوری در گروه کتامین بیشتر از دو گروه پتیدین و متوکلوپرامید و در این دو گروه بیشتر از گروه شاهد بود (P < ۰/۰۰۱). میانگین مجموع مسکن مصرفی اضافی در دو گروه پتیدین و کتامین به طور معنی داری کمتر از دو گروه شاهد و متوکلوپرامید بود (P = ۰/۰۰۷). میانگین زمان اولین نیاز به مسکن اضافی بین چهار گروه اختلاف معنی‌داری نداشت (P = ۰/۵۸۰). فراوانی عوارض دارویی در گروه متوکلوپرامید به طور معنی داری از سه گروه دیگر و پس از آن در گروه شاهد نسبت به دو گروه دیگر بالاتر بود (P = ۰/۰۰۱).

میزان رضایت از بی دردی بعد از عمل در گروه پتیدین به طور معنی داری بیشتر از گروه کتامین و در گروه کتامین بیشتر از دو گروه شاهد و متوکلوپرامید بود (P < ۰/۰۰۱) (جدول ۳).

بحث

در تحقیق حاضر، میانگین نمره‌ی شدت درد در همه‌ی زمان‌ها به جز بدو ورود به ریکاوری و ۲۴ ساعت بعد، در دو گروه کتامین و پتیدین به طور معنی‌داری کمتر از دو گروه دیگر بود. میزان رضایت از بی‌دردی بعد از عمل در گروه پتیدین به طور معنی داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود. میانگین زمان اولین نیاز به مسکن اضافی بین چهار گروه اختلاف معنی‌داری نداشت، اما میانگین مجموع مسکن مصرفی اضافی در دو گروه پتیدین و کتامین به طور معنی‌داری کمتر از دو گروه دیگر بود.

در این تحقیق، میانگین MAP در همه‌ی زمان‌ها و میانگین HR تا ۱۶ ساعت بعد از ورود به ریکاوری در گروه پتیدین و کتامین کمتر از دو گروه دیگر بوده است. نشان داده شده است که کتامین در دز القای بیهوشی، فشار خون و ضربان قلب را افزایش می دهد، اما در دز پایین، فشار سیستولی و ضربان قلب را کاهش می دهد که علت آن کاهش تون سمپاتیک به دلیل بهبود درد در نظر گرفته می‌شود (۱۱).

مطالعات زیادی در رابطه با تأثیر کتامین بر درد پس از جراحی وجود دارد که نتایج آن‌ها با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر همسو می‌باشد. برای مثال، در مطالعه‌ی هنرمند و همکاران، کتامین وریدی تا ۲۴ ساعت و زیرجلدی تا ۶ ساعت بعد از عمل آپاندکتومی، نیاز به مسکن اضافی را کاهش داده است و نمره ی VAS نیز در دو گروه کتامین، کمتر از گروه شاهد بوده است. در این تحقیق، برخی نتایج با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر متفاوت بوده است؛ به طوری که در تحقیق آن ها زمان نیاز به اولین مسکن اضافی نیز به تأخیر افتاده و میانگین فشار خون شریانی و ضربان قلب با گروه شاهد تفاوتی نداشته است؛ در حالی که این دو متغیر همودینامیک در گروه کتامین مطالعه‌ی حاضر کاهش یافته است. همچنین، مدت زمان خروج لوله‌ی تراشه، در مطالعه‌ی آن‌ها بر خلاف مطالعه‌ی حاضر افزایش نیافته است (۱۲).

جدول ۲. میانگین نمره‌ی شدت درد در زمان‌های مختلف در چهار گروه کتامین، پتیدین، متوکلوپرامید و شاهد

گروه / متغیر	شاهد	پتیدین	کتامین	متوکلوپرامید	مقدار P
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
بدو ورود به ریکاوری	۰/۵۸ ± ۰/۱۰	۰/۵۴ ± ۰/۱۴	۰/۱۵ ± ۰/۰۷	۰/۲۷ ± ۰/۰۹	۰/۰۰۹
۳۰ دقیقه بعد	۰/۷۳ ± ۰/۰۹	۰/۴۶ ± ۰/۱۵	۰/۲۷ ± ۰/۰۹	۰/۸۸ ± ۰/۰۸	< ۰/۰۰۱
۶۰ دقیقه بعد	۰/۸۱ ± ۰/۱۰	۰/۵۰ ± ۰/۱۵	۰/۳۸ ± ۰/۱۴	۰/۸۸ ± ۰/۰۸	۰/۰۱۰
۲ ساعت بعد	۱/۰۴ ± ۰/۱۲	۰/۵۴ ± ۰/۱۶	۰/۵۴ ± ۰/۲۰	۱/۰۴ ± ۰/۱۵	۰/۰۲۰
۴ ساعت بعد	۱/۵۸ ± ۰/۱۸	۰/۴۶ ± ۰/۱۴	۰/۷۳ ± ۰/۲۷	۱/۶۲ ± ۰/۱۸	< ۰/۰۰۱
۸ ساعت بعد	۱/۸۵ ± ۰/۲۴	۰/۶۵ ± ۰/۲۱	۰/۷۳ ± ۰/۲۹	۱/۷۷ ± ۰/۲۵	< ۰/۰۰۱
۱۶ ساعت بعد	۰/۷۷ ± ۰/۱۱	۰/۲۷ ± ۰/۰۹	۰/۱۵ ± ۰/۰۷	۰/۶۵ ± ۰/۱۲	< ۰/۰۰۱
۲۴ ساعت بعد	۰/۸۵ ± ۰/۰۷	۰/۳۱ ± ۰/۰۹	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۳۸ ± ۰/۱۰	< ۰/۰۰۱

آزمون One-way ANOVA و آزمون تعقیبی Duncan برای مقایسه‌ی میانگین نمره‌ی شدت درد بین چهار گروه و در زمان‌های مختلف استفاده شد.

جدول ۳. میانگین مدت زمان خروج لوله‌ی تراشه، مدت زمان ریکاوری، مجموع مسکن مصرفی اضافی و زمان اولین نیاز به مسکن اضافی و توزیع فراوانی عوارض دارویی و میزان رضایت از بی‌دردی بعد از عمل در چهار گروه کتامین، پتیدین، متوکلوپرامید و شاهد

متغیر / گروه	شاهد	پتیدین	کتامین	متوکلوپرامید	مقدار P
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
مدت زمان خروج لوله‌ی تراشه	۲۱/۶ ± ۳/۷	۲۰/۵ ± ۴/۲	۳۶/۱ ± ۱۲/۹	۱۸/۱ ± ۳/۵	< ۰/۰۰۱
مدت زمان ریکاوری (دقیقه)	۸۲/۹ ± ۲۰/۴	۱۰۷/۱ ± ۱۷/۸	۱۲۲/۱ ± ۹/۴	۱۱۲/۹ ± ۱۴/۱	< ۰/۰۰۱
مجموع مسکن مصرفی اضافی (میلی‌گرم)	۴/۴ ± ۰/۹	۱/۱ ± ۰/۶	۱/۷ ± ۰/۷	۴/۰۴ ± ۰/۹	۰/۰۰۷
زمان اولین نیاز به مسکن اضافی (دقیقه)	۳۶۰ ± ۱۳۸/۶	۴۲۰ ± ۱۲۰	۴۴۰ ± ۹۷/۹	۴۰۰ ± ۱۱۸/۲	۰/۵۸۰
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
عوارض دارویی					۰/۰۰۱
هیچ	۲۱ (۸۰/۸)	۲۶ (۱۰۰)	۲۶ (۱۰۰)	۱۶ (۶۱/۵)	
تهوع و استفراغ	۵ (۱۹/۲)	۰ (۰)	۰ (۰)	۹ (۳۴/۷)	
سرگیجه، تهوع و استفراغ	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۳/۸)	
میزان رضایت از بی‌دردی بعد از عمل					< ۰/۰۰۱
کاملا ناراضی	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	
نسبتا ناراضی	۳ (۱۱/۵)	۱ (۳/۸)	۰ (۰)	۱۲ (۴۶/۲)	
راضی	۱۰ (۳۸/۵)	۱ (۳/۸)	۰ (۰)	۰ (۰)	
نسبتا راضی	۱۳ (۵۰/۰)	۳ (۱۱/۵)	۱۳ (۵۰/۰)	۱۰ (۳۸/۵)	
کاملا راضی	۰ (۰)	۲۱ (۸۰/۸)	۱۳ (۵۰/۰)	۴ (۱۵/۴)	

یکی از مهم‌ترین تفاوت‌های مطالعه‌ی هنرمند و همکاران با مطالعه‌ی حاضر نوع جراحی و وجود بیماری زمینه‌ای التهابی به عنوان علت جراحی (آپاندیسیت) در آزمودنی‌های تحقیق آن‌ها بوده است که احتمال می‌رود این تفاوت‌ها از این موضوع نشأت می‌گیرد.

در یک مطالعه‌ی مرور سیستماتیک که همسو با نتایج مطالعه‌ی حاضر است، چنین نتیجه‌گیری شد که کتامین باعث کاهش معنی‌دار شدت درد بعد از ۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از عمل در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. همه‌ی کارآزمایی‌های این مطالعه به جز یکی از آن‌ها، کاهش معنی‌داری در مصرف مرفین پس از عمل را گزارش کرده‌اند (۶).

در برخی مطالعات، کتامین در کاهش درد پس از عمل اثری نداشته است. برای مثال، در مطالعه ای تأثیر کتامین وریدی بر درد بعد از جراحی رادیکال پروستاتکتومی بررسی و مشاهده شد که شدت درد تفاوت معنی داری با گروه دارونما نداشته است (۱۳). علت تفاوت نتایج این مطالعات با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، می‌تواند تفاوت در نوع عمل جراحی باشد.

تأثیر پتیدین بر درد بعد از جراحی به طور تقریبی اثبات شده است و نتایج این تحقیقات، با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد.

برای مثال، در مطالعه‌ای اثر پتیدین و ترامادول بر درد پس از جراحی های قسمت تحتانی شکم نظیر جراحی اصلاح فتق اینگوینال، مقایسه شده است که در ۶ ساعت اول بعد از عمل، درد در گروه پتیدین کمتر بوده است (۴). در مطالعه ی دیگری که اثر مرفین، پتیدین و ترامادول را بر درد بعد از جراحی هیسترکتومی بررسی کرده است، اثر ضد درد و عوارض مرفین و پتیدین برابر بوده است (۱۴).

از مطالعات ناهمسو با مطالعه‌ی حاضر، می‌توان به مطالعه‌ی سریزدی و همکاران اشاره کرد که در آن، پتیدین وریدی در مقایسه با تجویز هم‌زمان کتورولاک وریدی و شیاف استامینوفن تأثیر کمتری بر کاهش شدت درد پس از جراحی قسمت تحتانی شکم و دستگاه تناسلی در کودکان داشته است. در این مطالعه، متغیرهای همودینامیک در بیشتر زمان‌ها بین دو گروه تفاوتی نداشته‌اند (۱۵).

در مطالعه‌ی Dich-Nielsen و همکاران، اثر کتامین با دز پایین و پتیدین به صورت تزریق عضلانی بر درد پس از جراحی توراسیک بررسی شده است و هر دو دارو اثر ضد درد خوبی داشته‌اند و نیاز به مسکن مصرفی اضافی بین دو گروه تفاوتی نداشته است، اما کتامین اثر ضد درد طولانی تری داشته است. در مطالعه‌ی حاضر، اثر کتامین در ۲۴ ساعت بعد نسبت به پتیدین بیشتر بوده است. در مطالعه ی پیش گفته، نیاز به مسکن مصرفی اضافی بین دو گروه تفاوتی نداشته که همسو با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر است. در رابطه با متغیرهای همودینامیک در این مطالعه، MAP در دو گروه بدون تغییر بوده است. HR در گروه کتامین تغییری نداشت و در گروه پتیدین پس از ۱ ساعت به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کتامین می‌شود که مغایر با نتایج مطالعه‌ی حاضر است (۱۱). دز داروهای این تحقیق از مطالعه‌ی حاضر (هر دو ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیشتر و تعداد

آزمودنی های آن ها کمتر بوده است که شاید بتوان با توجه به این موضوع، این تفاوت‌ها را توجیه کرد.

در مطالعه‌ی حاضر، متوکلوپرامید در بیشتر زمان‌ها، اثری بیش از دارونما نداشته است. با این حال، در برخی از مطالعات اثر ضد درد آن نشان داده شده است که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مغایرت دارد.

برای مثال، در مطالعه ی شعبانیان و همکاران تأثیر تزریق هم زمان متوکلوپرامید و لیدوکائین به صورت زیرجلدی در موضع اپیزیوتومی درجه‌ی ۲ و ۳ بررسی شد که نشان داده شد در همه‌ی زمان‌های بعد از زایمان نسبت به گروه شاهد، به طور معنی داری تأثیر بیشتری در کنترل درد داشته است. همچنین، در این مطالعه میانگین فشار خون شریانی و ضربان قلب در همه ی زمان ها نسبت به گروه شاهد کمتر بوده است (۱۶). شاید علت تفاوت نتایج این تحقیق با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، دز بیشتر متوکلوپرامید (۱۰ میلی‌گرم) یا تفاوت آزمودنی‌ها باشد. آزمودنی‌های تحقیق آن‌ها زنانی بوده‌اند که درد بسیار زیاد زایمان را تحمل کرده‌اند و تفاوت زیادی با آزمودنی‌های تحقیق ما دارند.

در مطالعه‌ی دیگری، تأثیر کتامین بر درد ناشی از تزریق پروپوفول بیش از متوکلوپرامید بوده است و این یافته، با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (۱۷).

در مطالعه‌ی حاضر، میانگین مدت زمان خروج لوله‌ی تراشه و ریکاوری در گروه کتامین به طور معنی داری بیشتر از سه گروه دیگر بود. احتمال می‌ورد این یافته‌ها به دلیل خاصیت آرام‌بخشی کتامین باشد (۱۸).

فراوانی تهوع و استفراغ در گروه متوکلوپرامید از سه گروه دیگر و پس از آن در گروه شاهد نسبت به دو گروه دیگر بالاتر بود. با این که متوکلوپرامید یک داروی ضد تهوع است، اما تهوع و استفراغ به عنوان عوارض جانبی آن هم ذکر شده است (۱۸). احتمال می‌رود علت بالاتر بودن میزان تهوع و استفراغ در گروه های متوکلوپرامید و شاهد، بیشتر بودن درد بیماران این دو گروه و همچنین، میزان دریافت بالاتر مرفین نسبت به دو گروه دیگر باشد (۱۹-۱۸).

از محدودیت های مطالعه‌ی حاضر، عدم قابلیت تعمیم نتایج به افراد با سن بالای ۶۵ سال و زیر ۱۸ سال و نیز افراد دارای درجات ASA ≤ ۳ بودند.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که پتیدین و کتامین به صورت تزریق زیرجلدی در موضع عمل، در بیشتر زمان های بعد از عمل جراحی اصلاح فتق اینگوینال، اثر برابری در کاهش شدت درد دارند، اما رضایتمندی بیماران از پتیدین بیشتر بوده است و همچنین، کتامین در مقایسه با پتیدین باعث افزایش مدت زمان خروج لوله‌ی تراشه و ریکاوری بیماران می‌شود. در این تحقیق، متوکلوپرامید در بیشتر زمان های بعد از عمل، اثری در کاهش شدت درد بیماران ندارد؛ به علاوه، میزان تهوع و استفراغ در این گروه بیشتر بوده است. بنابراین، تزریق زیرجلدی آن در موضع جراحی برای کنترل درد پس از عمل، مناسب به نظر نمی‌رسد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر، حاصل پایان‌نامه‌ی دکتری حرفه‌ای در رشته‌ی پزشکی عمومی است که با شماره‌ی ۳۹۶۶۰۹ در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی تصویب و با حمایت های این معاونت انجام شده است. از این رو، نویسندگان مقاله از زحمات ایشان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1. Imani F. Postoperative pain management. Anesth Pain Med 2011; 1(1): 6-7.
2. Allen CA, Ivester JR. Ketamine for pain management-side effects and potential adverse events. Pain Manag Nurs 2017; 18(6): 372-7.
3. Reeves M, Lindholm DE, Myles PS, Fletcher H, Hunt JO. Adding ketamine to morphine for patient-controlled analgesia after major abdominal surgery: A double-blinded, randomized controlled trial. Anesth Analg 2001; 93(1): 116-20.
4. Ekemen S, Yelken B, Ilhan H, Tokar B. A comparison of analgesic efficacy of tramadol and pethidine for management of postoperative pain in children: A randomized, controlled study. Pediatr Surg Int 2008; 24(6): 695-8.
5. Persson J. Ketamine in pain management. CNS Neurosci Ther 2013; 19(6): 396-402.
6. Elia N, Tramer MR. Ketamine and postoperative pain--a quantitative systematic review of randomised trials. Pain 2005; 113(1-2): 61-70.
7. Tan PH, Cheng JT, Kuo CH, Tseng FJ, Chung HC, Wu JI, et al. Preincisional subcutaneous infiltration of ketamine suppresses postoperative pain after circumcision surgery. Clin J Pain 2007; 23(3): 214-8.
8. Tavakoli A, Kazemi Mehrjerdi H, Haghighi A. Analgesic effects of metoclopramide following conventional ovariohysterectomy in bitches. Iran J Vet Surg, 2009; 04(1-2): 77-84.
9. Najjar M, Hall T, Estupinan B. Metoclopramide for Acute Migraine Treatment in the Emergency Department: An Effective Alternative to Opioids. Cureus 2017; 9(4): e1181.
10. Reichmann JP, Kirkbride MS. Reviewing the evidence for using continuous subcutaneous metoclopramide and ondansetron to treat nausea and vomiting during pregnancy. Manag Care 2012; 21(5): 44-7.
11. Dich-Nielsen JO, Svendsen LB, Berthelsen P. Intramuscular low-dose ketamine versus pethidine for

postoperative pain treatment after thoracic surgery. Acta Anaesthesiologica Scandinavica 1992; 36(6): 583-7.
12. Honarmand A, Safavi M, Karaky H. Preincisional administration of intravenous or subcutaneous infiltration of low-dose ketamine suppresses postoperative pain after appendectomy. J Pain Res 2012; 5: 1-6.
13. Katz J, Schmid R, Snijdelaar DG, Coderre TJ, McCartney CJ, Wowk A. Pre-emptive analgesia using intravenous fentanyl plus low-dose ketamine for radical prostatectomy under general anesthesia does not produce short-term or long-term reductions in pain or analgesic use. Pain 2004; 110(3): 707-18.
14. Unlugenc H, Vardar MA, Tetiker S. A comparative study of the analgesic effect of patient-controlled morphine, pethidine, and tramadol for postoperative pain management after abdominal hysterectomy. Anesth Analg 2008; 106(1): 309-12.
15. Saryazdi H, Aghadavoudi O, Shafa A, Baghban Nikoo M, Rezaei T. A comparative study of the analgesic effects of pethidine versus ketorolac and acetaminophen after lower abdominal and genital surgeries in children. J Isfahan Med Sch 2017; 34(412): 1556-62. [In Persian].
16. Shabanian S, Kalbasi S, Shabanian G, Khoram B, Ganji F. The effect of metoclopramide addition to lidocaine on pain of patients with grades II and III post-episiotomy repair. J Clin Diagn Res 2017; 11(4): QC11-QC14.
17. Chaudhary K, Gupta P, Gogia AR. A prospective, randomized, double-blind study to compare the efficacy of lidocaine + metoclopramide and lidocaine + ketamine combinations in preventing pain on propofol injection. J Anesth 2013; 27(3): 402-6.
18. MedScape. Drugs, OTCs & Herbals [Online]. [cited 2020]; Available from: URL: https://reference.medscape.com/drugs
19. Apfel CC, Turan A, Souza K, Pergolizzi J, Hornuss C. Intravenous acetaminophen reduces postoperative nausea and vomiting: a systematic review and meta-analysis. Pain 2013; 154(5): 677-89.

DOI: *10.22122/jims.v38i572.10288* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 38, No. 572, 4th Week, June 2020**

Received: 12.05.2019 Accepted: 31.05.2020 Published: 26.06.2020

The Effect of Subcutaneous Injection of Metoclopramide, Pethidine, and Ketamine on Postoperative Pain after Inguinal Hernia Repair under General Anesthesia

Darioush Moradi-Farsani[1], Zahra Azamian-Jazi[2], Seyed Morteza Heydari[3], Behzad Nazemroaya[1]

Original Article

Abstract

Background: The aim of this study was to investigate the effect of subcutaneous injection of metoclopramide, pethidine, and ketamine on postoperative pain after inguinal hernia repair under general anesthesia compared to control group.

Methods: In this clinical trial study, 104 patients were selected and randomly divided into four groups of 26 patients. The patients received subcutaneous injection of each drug at the incision site. In the first group, 0.5 mg/kg ketamine, in the second group, 0.75 mg/kg pethidine, in the third group, 0.1 mg/kg metoclopramide, and in the control group, normal saline were administered. We evaluated the pain intensity [by visual analog scale (VAS)], hemodynamic parameters, extubation and recovery time, drug complications, total rescue analgesic consumption, time to first analgesic request, and satisfaction score for the initial 24 hours after entrance to recovery.

Findings: The mean of VAS at the most of measuring times ($P < 0.050$) and the mean of total rescue analgesic consumption ($P = 0.007$) were significantly lower in the ketamine and pethidine groups compared to metoclopramide and control groups. The satisfaction score for postoperative analgesia in pethidine group was significantly higher than the other groups ($P < 0.001$).

Conclusion: Pethidine and ketamine have equal effects on postoperative pain; but the patients were more satisfied with pethidine. The effect of metoclopramide on the postoperative pain was lower than the other two drugs; moreover, its effect was equal to the placebo and was associated with more adverse reactions.

Keywords: Metoclopramide; Ketamine; Inguinal hernia; Postoperative pain

Citation: Moradi-Farsani D, Azamian-Jazi Z, Heydari SM, Nazemroaya B. **The Effect of Subcutaneous Injection of Metoclopramide, Pethidine, and Ketamine on Postoperative Pain after Inguinal Hernia Repair under General Anesthesia.** J Isfahan Med Sch 2020; 38(572): 252-9.

1- Assistant Professor, Department of Anesthesiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Resident, Department of Cardiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Professor, Department of Anesthesiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Zahra Azamian-Jazi, Resident, Department of Cardiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: azamianza@yahoo.com

DOI: 10.22122/jims.v38i572.12948 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هشتم/شماره‌ی ۵۷۲/هفته‌ی چهارم خرداد ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۵ تاریخ چاپ: ۱۳۹۹/۳/۲۸

کلون، بیان و تخلیص پروتئین نوترکیب هماگلوتینین ویروس آنفلوانزا H1N1 انسانی در رده‌ی یوکاریوتیک سلول حشره با استفاده از وکتور باکولوویروس

نیلوفر راشدی[۱]، مرتضی تقی‌زاده[۲]، پریسا محمدی‌نژاد[۳]، مهدی مهدوی[۴]، رضا جلالی‌راد[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ویروس آنفلوانزا H1N1 به عنوان عامل بیماری‌زا و تهدید کننده‌ی حیات انسان مطرح می‌شود. واکسیناسیون، از راه‌های مؤثر برای پیش‌گیری و مهار بیماری آنفلوانزا است. تولید پروتئین نوترکیب هماگلوتینین در سیستم بیانی باکولوویروس، در بستر سلول یوکاریوت حشره (Sf9) به عنوان یک راهکار مؤثر پیشنهاد شده است.

روش‌ها: توالی ژن هماگلوتینین ویروس آنفلوانزا H1N1 از National Center for Biotechnology Information (NCBI) استنتاج و پس از طراحی پرایمر اختصاصی، توالی با استفاده از هضم آنزیمی در پلاسمید pFastBacHTA کلون گردید و برای تولید یک بکمید نوترکیب به سلول DH10Bac انتقال داده شد. پس از استخراج پلاسمید مربوط و تأیید صحت کار، به داخل سلول حشره ترانسفکت گردید و بعد از بیان پروتئین توسط سلول Sf9، با روش Sodium dodecyl sulfate-Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) و Western blot، حضور پروتئین نوترکیب تأیید شد.

یافته‌ها: ژن هماگلوتینین با طول ۶۵۴ جفت‌باز در پلاسمید pFastBacHTA به کمک دو آنزیم BamHI و XhoI ساب کلون گردید. سلول حشره بعد از دریافت بکمید نوترکیب، پروتئینی به وزن تقریبی ۶۰ کیلودالتون را بیان نمود. پس از استخراج پروتئین، با روش‌های SDS-PAGE و Western blot تأیید انجام گرفت و با روش Lowry، غلظت پروتئین اندازه‌گیری شد.

نتیجه‌گیری: سیستم بیانی باکولوویروس برای تولید پروتئین‌هایی با ساختار پیچیده مفید است. به طور کلی، از این طرح می‌توان به این نتیجه رسید که این پروتئین در سلول حشره به میزان بالایی بیان می‌شود و به دلیل تشابه سیستم آن با سیستم انسانی، می‌تواند در آینده به عنوان جایگزین مناسب برای تخم‌مرغ‌های جنین‌دار در زمینه‌ی واکسیناسیون مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: ویروس آنفلوانزا نوع A؛ زیرگروه H1N1؛ هماگلوتینین، سلول Sf9، باکولوویروس

ارجاع: راشدی نیلوفر، تقی‌زاده مرتضی، محمدی‌نژاد پریسا، مهدوی مهدی، جلالی‌راد رضا. **کلون، بیان و تخلیص پروتئین نوترکیب هماگلوتینین ویروس آنفلوانزا H1N1 انسانی در رده‌ی یوکاریوتیک سلول حشره با استفاده از وکتور باکولوویروس.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۹؛ ۳۸ (۵۷۲): ۲۶۶-۲۶۰.

مقدمه

ویروس آنفلوانزا A، عضو مهمی از خانواده‌ی اورتومیکسوویروس‌ها بود که قادر به ایجاد عفونت در طیف وسیعی از میزبان‌ها می‌باشد (۱). این ویروس، دارای ژنوم RNA منفی و قطعه‌قطعه است که بر اساس آنتی‌ژن‌های سطحی هماگلوتینین (H1-H16) و نورآمینیداز (N1-N9) به زیرگونه‌های مختلفی تقسیم می‌شود (۳-۲). در ۱۰ آگوست ۲۰۱۰، سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization یا WHO)، همه‌گیری آنفلوانزای H1N1 را اعلام و بیان کرد که فعالیت

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- استادیار مدعو، گروه زیست‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران و استادیار، بخش تحقیق و توسعه، مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۴- استادیار مدعو، گروه زیست‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران و استادیار، مرکز تحقیقات واکسن‌های نوترکیب، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۵- استادیار مدعو، گروه زیست‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران و استادیار، مجتمع تولیدی- تحقیقاتی، انستیتو پاستور ایران، کرج، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: مرتضی تقی‌زاده؛ استادیار مدعو، گروه زیست‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

Email: taghizadeh.morteza@gmail.com

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

آنفلوانزای جهانی به الگوی فصلی معمولی برگشته است (۴). بیشتر سویه‌های ایجاد شده به درمان‌های ضد ویروسی پاسخ خوبی نمی‌دهند (۵). این ویروس، به علت انتشار جهانی و توانایی انطباق با میزبان‌های پستاندار، منجر به تغییرات ژنتیکی برای انتقال کارآمد از انسان به انسان شده است (۷-۶). واکسیناسیون، یک راه مؤثر برای پیش‌گیری و کنترل بیماری آنفلوانزا است (۸). در حال حاضر، دو نوع واکسن Split و زنده‌ی ضعیف شده رایج است که در تخم‌مرغ جنین‌دار تولید می‌شوند، اما به علت ایجاد آلرژی موضعی و سیستمی، چندان مطلوب نیستند و همچنین، استفاده از واکسن‌های تولیدی در رده‌ی سلولی پستاندارن به علت خاصیت سرطان‌زایی، کمتر مورد توجه قرار گرفته است. اغلب واکسن‌های توصیه شده توسط سازمان بهداشت جهانی، واکسن‌های غیر فعال (کشته شده) و یا زنده‌ی ضعیف شده هستند. در حال حاضر، ۹ مورد واکسن زنده‌ی ضعیف شده در حال استفاده هستند (۹). ۱۳ نوع واکسن غیر فعال نیز ساخته شده‌اند که اغلب از مشتقات بیماری‌زا نظیر پلی‌ساکاریدهای ساختاری هستند. تنها دو مورد از واکسن‌های موجود، نوترکیب می‌باشد. اولین واکسن نوترکیب، واکسن هپاتیت B به عنوان آنتی‌ژن خالص سطح ویروس (Hepatitis B surface antigen یا HBS Ag) از کشت مخمر (Saccharomyces cerevisiae) تولید شد. یکی از مزیت‌های واکسن‌های نوترکیب، عدم وجود ماده‌ی بیماری‌زا در آن‌ها می‌باشد. بنابراین، احتمال بیماری‌زایی ندارند (۹).

برای غلبه بر چالش‌های پیش‌گفته، بیوتکنولوژیست‌ها مسیرهای جدیدی را برای تولید واکسن‌های ایمن‌تر و مؤثرتر معرفی کرده‌اند (۱۱-۱۰). یکی از این مسیرهای پیشنهادی، استفاده از ذرات نوترکیب (Virus-like particles یا VLPs) به جای استفاده از واکسن‌های وابسته به تخم‌مرغ جنین‌دار است. در این مدل واکسن، نیاز به ویروس زنده نیست و عوارض آلرژی ندارد و همچنین، سرعت و کیفیت بالاتری ارایه می‌دهد (۱۳-۱۲). سیستم بیانی حشره (The Baculovirus expression vector system یا BEVS)، به عنوان ابزاری برای تولید سریع پروتئین‌های نوترکیب پیچیده کاربرد دارد. این بستر، به تازگی برای تولید واکسن نیز به کار می‌رود. باکولوویروس‌ها، عوامل بیماری‌زایی حشرات هستند. آن‌ها به دلیل محدوده‌ی میزبان باریک (۱۴) و عدم توانایی تکثیر در مهره‌داران، از جمله انسان، ایمن می‌باشند. یکی از بهترین رده‌های سلولی پذیرنده‌ی باکولوویروس، رده‌ی سلولی حشره Sf9 است. اولین واکسن انسانی تولید شده در سلول‌های حشرات، Cervarix بود که در سال ۲۰۰۷ توسط آژانس داروهای اروپایی (European Medicines Agency یا EMA) و سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA یا Food and Drug Administration) در سال ۲۰۰۹ مجوز گرفت (۹).

واکسن دوم، PROVENGE® است که برای مصارف انسانی از FDA مجوز دریافت کرد. این واکسن، یک محصول درمانی اتولوگ سرطان پروستات می‌باشد که در آن، (Prostate-specific antigen یا PSA) در سلول‌های Sf تولید می‌شود (۹).

امروزه، آنفلوانزا انتخاب جدیدی برای تولید واکسن با استفاده از سیستم Bac-to-Bac و سلول حشره در نظر گرفته می‌شود. در این مطالعه، یک باکولوویروس مونوسیسترونیک تولید شد که حاوی ژن هماگلوتینین ویروس آنفلوانزا A (H1N1) انسانی بود.

روش‌ها

این مطالعه با دریافت کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1398.046 در مصوبه‌ی اخلاق در پژوهش انجام پذیرفت. بدین منظور، سلول حشره Sf9 (مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران) و باکتری DH10BAC (انستیتو پاستور ایران) تهیه گردید.

به منظور استخراج از کیت کیاژن (AVL)، RNase (Roche)، کیت سنتز DNA complementary (cDNA) (Roche) و همسانه‌سازی ژن مورد از آنزیم‌های Xhol I (Jena Bioscience) و BamHI (Fermentas, JenaBioscience)، آنزیم Pfu پلی‌مراز (Roche)، Taq پلی‌مراز و T4 لیگاز (Fermentas) و در نهایت برای استخراج پلاسمید، کیت بیوفکت استفاده گردید.

ازدیاد ویروس آنفلوانزای سویه‌ی H1N1 در تخم‌مرغ SPF: ویروس آنفلوانزای سویه‌ی H1N1 روی تخم‌مرغ ۱۰ روزه‌ی Specific-Pathogen-Free (SPF) جهت انجام کشت تلقیح شد و پس از جداسازی تخم‌مرغ‌های مرده و زنده در نور، روزانه مایع کوریوآلانتوییک جمع‌آوری و پس از افزودن آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین در یخچال ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. این ویروس‌ها جمع‌آوری و پس از عیارسنجی به روش Egg infective dose 50 (EID50) برای تولید cDNA استفاده شد.

استخراج RNA ویروس: طبق دستورالعمل کیت کیاژن و در نهایت با اضافه‌کردن محلول‌ها و استفاده از کالوم فیلتردار، RNA ویروسی استخراج شد.

انجام Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) برای تولید cDNA: با استفاده از پرایمرهای عمومی U12 و U13، تولید cDNA انجام گردید. این پرایمر، دارای چندین عدد T در انتهای خود است. انتهای ژن‌های ویروس آنفلوانزا ۱۲ عدد نوکلئوتید اوراسیل می‌باشد. از این رو، این پرایمر می‌تواند به آن جا متصل شود و تمام ژن‌ها همانندسازی شوند. پرایمر ریورس U12 و پرایمر فوروارد U13 می‌باشد. با استفاده از تکنیک مورد نظر، خلوص قطعات به دست آمده زیاد خواهد شد؛ بدین معنا که cDNA به

دست آمده، به طور کامل از رشته‌ی سنس مثبت مورد نظر خواهد بود و از حضور سایر رشته‌های تولید شده جلوگیری می‌شود.

تکثیر ژن هماگلوتینین با استفاده از PCR: برای ازدیاد ژن و تأیید مولکولی، پرایمرهای فوروارد (حاوی جایگاه BamHI برای کلونینگ) و پرایمر ریورس (دارای جایگاه XhoI و کدون خاتمه) طراحی شدند. تراداف پرایمرهای طراحی شده در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. پرایمرهای اختصاصی جهت انجام واکنش (PCR) Polymerase chain reaction

نوع آغازگر	توالی	موقعیت ژنوم
HA Forward	5'-AAGCTCAGCAAATCCTACA-3'	۵۴۷-۵۲۹
HA Reverse	5'-TCCCTCACTTTGGGTCTT-3'	۷۱۶-۶۹۹

آزمایش PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی شده انجام گردید. واکنش توسط آنزیم Pfu پلی‌مراز و یون منیزیم (۲/۵ میلی‌مولار) و در دمای ۶۸ درجه‌ی سانتی‌گراد در ۳۰ چرخه تکرار گردید.

تولید بکمید نوترکیب: ابتدا قطعه‌ی تکثیر یافته از روی ژل آگارز تخلیص و پس از هضم توسط آنزیم‌های BamHI و Xhol I در وکتور بیانی pFastBACHTA وارد و داخل باکتری TOP10 کلون گردید. پس از تأیید، وکتور دهنده استخراج و به منظور ایجاد بکمید نوترکیب داخل سویه‌ی DH10Bac از باکتری Escherichia coli کلون گردید. بین عامل MiniTn7 پلاسمید دهنده و عامل Mini att-Tn7 بکمید، عمل جابه‌جایی (Transposition) صورت گرفت و کاست بیانی واجد ژن مورد نظر در درون بکمید قرار گرفت.

تغییر شکل (Transformation): برای انتقال وکتور حاوی ژن نوترکیب به داخل سلول باکتری، ابتدا باکتری مستعد DH10 به روش کلسیم کلرید تهیه و انتقال وکتور طبق شیوه‌نامه‌ی اجرا، انجام شد. پس از ازدیاد باکتری (تکثیر پلاسمید)، با استفاده از کیت بیوفکت، کلنی‌های سفید روی محیط Luria-Bertani agar (LB agar) برای استخراج پلاسمید جداسازی شد و پس از تخلیص، کیفیت و کمیت پلاسمید استخراجی با دستگاه نانودراپ و ژل آگارز ۱ درصد سنجیده شد.

کشت رده‌ی سلولی Sf9 و آلوده‌سازی (Transfection): برای آلوده‌سازی، رده‌ی سلولی Sf9 (رده‌ی سلولی تخمدان حشره Spodoptera frugiperda) از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خریداری شد و در محیط اختصاصی گریس (Gibco) کشت داده شد. سپس، با استفاده از روش الکتروپوریشن (Electroporation) پلاسمید وارد سلول‌های حشره Sf9 می‌شود. سلول‌های آلوده شده، در دمای ۲۶ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۶ روز انکوبه شدند تا ویروس در سلول حشره تکثیر و سپس، مورد آلودگی قرار گرفتند. قابل ذکر است که روش الکتروپوریشن نسبت به روش‌های دیگر انتقال (۱۵)، از نظر اقتصادی و زمان به صرفه‌تر و راحت‌تر می‌باشد.

تخلیص پروتئین بیان شده در سلول حشره: پس از ۱۰-۵ بار کشت سلول حشره و اطمینان از ازدیاد پروتئین مربوط و همچنین، بررسی اثرات سایتوپاتیک در زیر میکروسکوپ، با استفاده از کیت تخلیص پروتئین، پروتئین مورد نظر استخراج شده و غلظت آن با دستگاه نانودراپ اندازه‌گیری شد. محتویات فلاسک حاوی سلول آلوده به ویروس سانتریفیوژ شد و به رسوب باقی‌مانده، ۴ میلی‌لیتر از بافر لیز افزوده شد. سپس، محلول به دست آمده در میکروتیوپ برای انجام سونیکاسیون انتقال داده شد و عمل سونیکاسیون توسط دستگاه مربوط بر اساس شیوه‌نامه (۱۰ مرتبه با فواصل ۸ و ۱۰ ثانیه، ۸۰ امپلیتود) انجام گرفت. در مطالعات قبلی، تخلیص پروتئین مستقیم انجام شده است (۱۵).

اما در مطالعه‌ی حاضر، با انجام سونیکاسیون و استفاده از سرنگ با گیج ۲۱ تجزیه‌ی سلول قبل از تخلیص پروتئین تسهیل شد. پس از اتمام کار دستگاه، ژل Ni-NTA آماده در ستون ریخته شد. استفاده از این روش بسیار سریع، آسان و دقیق‌تر از روش‌های تخلیص دستی با ساخت بافر می‌باشد. پروتئین تغلیظ شده با روش فراپالایش (Ultrafiltration) بعد از تعیین غلظت با روش اسپکتروفوتومتری در ۲۸۰ نانومتر و بررسی کمی و کیفی با SDS-PAGE در ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند تا با روش Western blot مورد ارزیابی قرار گیرد. هدف از انجام آزمایش Western blot، تأیید بیان و ارزیابی آنتی‌ژنیسیته و خصوصیات ایمونولوژیک پیلین نوترکیب می‌باشد. پروتئین نوترکیب از ژل SDS-PAGE با سیستم انتقال نیمه خشک به کاغذ پلی‌وینیلیدین دی‌فلورید توسط دستگاه ماژور در شرایط نیمه‌خشک منتقل شد. برای کنترل انتقال پروتئین از رنگ پانسو استفاده و غشا به صورت نوارهای نازک حاوی پروتئین‌های منتقل‌شده بریده شد. مسدودسازی غشا با محلول آلبومین سرم گاوی به مدت ۱ ساعت انجام شد.

در مرحله‌ی بعد، غشا با آنتی‌بادی بر علیه 6 His taq با رقت استاندارد به مدت ۲ ساعت مجاور شدند. شستشو با بافر Tris نمکی محتوی ۰/۰۵ درصد توئین ۲۰ انجام شد. سپس، غشا با آنتی‌بادی ثانویه Anti mouse IgG و Anti Human IgG کونژوگه با پراکسید برای مدت ۲ ساعت مجاور شد. غشا پس از شستشو در مجاورت محلول سوبسترای کمیلومینسانت تحت شرایط استاندارد قرار گرفت و بلافاصله باندهای فلورسنت روی غشای رادیوگرافی ثبت و ظاهر گردید.

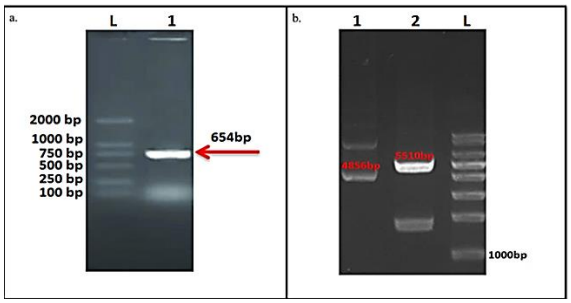
اندازه‌گیری پروتئین به روش Lowry: روش Lowry، یکی از روش‌های سنجش پروتئین است که در واقع اساس آن، روش Biuret

است. از معرف فولین برای شناسایی پروتئین استفاده می‌شود. در این روش، ۶ عدد لوله‌ی آزمایش برداشته شد. لوله‌ی اول به عنوان بلانک و در لوله‌های دیگر Bovine serum albumin (BSA) به ترتیب به مقادیر ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرولیتر اضافه گردید.

در مرحله‌ی بعد، همه‌ی لوله‌ها با اضافه شدن deionized distilled water (DDW) به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس، در لوله‌ی جدیدی، مقدار ۵۰ میکرولیتر آب‌مقطر و ۵۰ میکرولیتر نمونه‌ی مورد نظر اضافه گردید. در انتها، به همه‌ی لوله‌ها (۷ لوله) ۱۰۰ میکرولیتر آب‌مقطر اضافه و سپس مخلوط گردید. پس از ۱۰ دقیقه استراحت، بر روی همه‌ی لوله‌ها ۲۰۰ میکرولیتر محلول فولین افزوده و مخلوط شدند. در این مرحله، به مدت ۲۰ دقیقه در محیط تاریک انکوباسیون انجام شد و سپس، با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۷۵۰ نانومتر، مقادیر لوله‌ها مورد خوانش قرار گرفت.

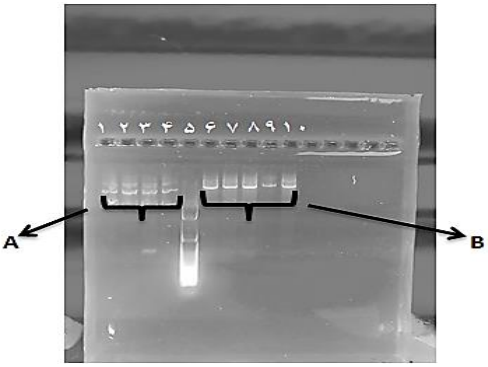
یافته‌ها

کلونینگ ژن هماگلوتینین در پلاسمید دهنده‌ی pFASTBAC HT A: پرایمرهای اختصاصی برای ژن هماگلوتینین طراحی شده و توسط آنزیم‌های XhoI و BamHI مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. پس از آن، با آزمون PCR بر روی ژل آگارز تأیید شد (شکل ۱-a). قطعه‌ی ژن (۶۵۴ جفت باز) توسط هضم آنزیمی با همان آنزیم‌ها وارد پلاسمید pFASTBAC HT A شد (شکل ۱-b).



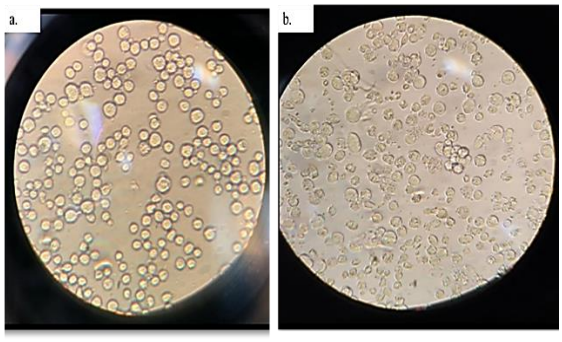
شکل ۱. a) باند ژن هماگلوتینین در ردیف ۱ به وزن حدود ۶۵۴ جفت‌باز، b) ردیف ۱ باند حاصل از پلاسمید و ردیف ۲ باند ۵۵۱۰ جفت‌باز پلاسمید حاوی ژن هماگلوتینین پس از هضم آنزیمی با XhoI و BamHI

تأیید بکمید نوترکیب و تعیین غلظت پلاسمید نوترکیب: پس از جداسازی کلنی‌های سفیدرنگ از محیط LB agar بکمید نوترکیب با استفاده از کیت استخراج و توسط آزمون PCR تأیید شد. وکتور شاتل بکمید دارای M13/pUC در فوروارد و سایت mini-att Tn7 در درون LacZ در ریورس است (شکل ۲). غلظت پلاسمید استخراج شده توسط اسپکتروفتومتر برابر ۱۹/۶۸ نانوگرم/میکرولیتر بود.



شکل ۲. Polymerase chain reaction (PCR) انجام شده با پرایمر اختصاصی. نشانگر وزن مولکولی در ردیف ۵ و ردیف‌های ۴-۱ (A)کلون خالی (فاقد ژن مورد نظر) با اندازه‌ی ۴۸۵۶ جفت‌باز و ردیف‌های ۱۰-۶ (B) ژن HA کلون شده در وکتور با اندازه‌ی ۵۵۱۰ جفت‌باز می‌باشد.

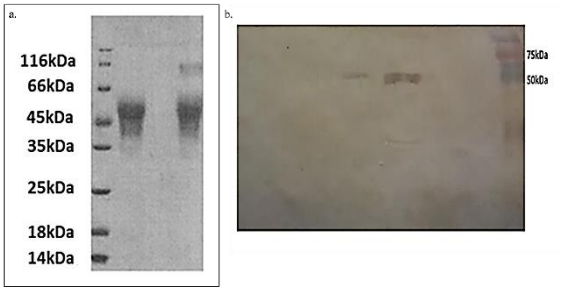
تأیید آلوده‌سازی و بررسی اثرات سایتوپاتیک: بکمید نوترکیب جداسازی شده، با روش الکتروپوریشن وارد سلول حشره شد و پس از مدت زمان مقرر انکوباسیون، از نظر اثرات سایتوپاتیک به طریقه‌ی میکروسکوپی، مورد بررسی قرار گرفت. حضور و تراکم کم سلولی، دیواره‌ی تخریب شده، معلق شدن سلول در محیط کشت و سلول‌های بزرگ شده، نشان دهنده‌ی تکثیر ویروس در سلول است (شکل ۳).



شکل ۳. نتایج سلول‌های حشره در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۱۰. شکل a، سلول Sf9 قبل از آلوده‌سازی (سلول‌های سالم). شکل b، سلول Sf9 آلوده شده با بکمید (سلول‌های آلوده شده با ویروس)

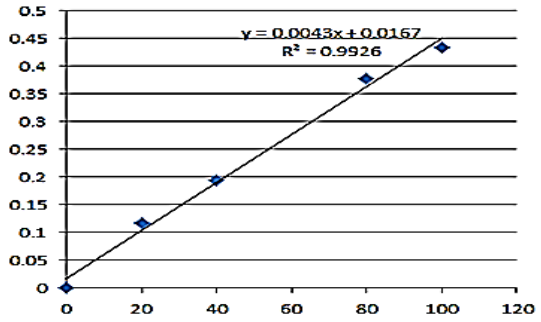
تعیین حضور پروتئین نوترکیب: سلول‌های آلوده با سانتریفیوژ جداسازی و پس از آن، برای تجزیه‌ی کامل سلولی سونیکاسیون گردیدند. پس از استخراج، الکتروفورز پروتئین با تکنیک SDS-PAGE روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۱۲ درصد انجام شد (شکل ۴-a). اندازه‌ی باند پروتئینی حدود ۶۲ کیلودالتون بود. ژل حاصل از مرحله‌ی SDS-PAGE برای انجام آزمون Western blot بر روی غشای

نیتروسلولز برده شد و مورد شناسایی قرار گرفت (شکل ۴-b).



شکل ۴. a) نمای باند پروتئین در آزمون Sodium dodecyl sulfate-Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)، b) بررسی و مشاهده‌ی پروتئین‌های تولید شده در سلول‌های Sf9 در روش Western blot. ردیف سمت راست نشانگر وزن مولکولی و به ترتیب باندهای حاصل از شاهد مثبت و نمونه‌ی اصلی سلول آلوده

تعیین غلظت پروتئین نوترکیب با روش Lowry: با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب نوری نمونه خوانده شد و در برنامه‌ی Excel با استفاده از فرمول زیر غلظت محاسبه گردید. مقدار پروتئین حاصل، معادل ۱۰/۶ میکروگرم بر ۱۰۰ میکرولیتر بود که معادل ۰/۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود. از طرفی چون رقت ۱/۲ بود، بنابراین عدد حاصل در ۲ ضرب می‌گردد و مقدار پروتئین مربوط معادل ۰/۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر می‌شود (شکل ۵).



$$y = 0.0043\,x + 0.0167$$

$$x = \frac{0.06 - 0.0167}{0.0043}$$

$$x = 10.06$$

شکل ۵. نمودار و معادله‌ی به دست آمده برای غلظت پروتئین

بحث

در چند دهه‌ی گذشته، تلاش‌های ارزشمندی صورت گرفته است تا روند تولید تسریع یابد. در این واکسن‌ها، تنها بخشی از ژن ویروس که قادر به تحریک مؤثر سیستم ایمنی بدن است، کلون و بیان می شود. همچنین، گزارش شده است که تولید پروتئین نوترکیب در سیستم پروکاریوتی، ایمنی خوبی در حیوانات آزمایشگاهی ایجاد می کند، اما به دلیل عمل گلیکوزیلاسیون و عدم وجود برخی تغییرات ترجمه، قادر به تولید آنتی‌بادی‌های محافظتی بلند مدت در انسان نیستند. یکی از موفق‌ترین راه‌های تولید هماگلوتینین در سیستم باکولوویروسی، سلول حشرات است که به بازار عرضه شده است. در این روش، مقادیر زیادی از هماگلوتینین در مدت زمان کوتاهی ترشح می‌شود و سطح بالاتری از هماگلوتینین نسبت به زمان تولید ویروس در تخمک ایجاد می‌کند؛ در نتیجه، واکسن ارزان و مؤثرتری ایجاد می‌کند. شیوه‌نامه‌ی جدید واکسن بسیار انعطاف پذیرتر از واکسن های فعلی است. بنابراین، تولید مشترک واکسن‌های جهانی با واکسن‌های فصلی، گام مؤثری در پیش‌گیری و کنترل آنفلوانزا در اپیدمی های سالانه است. سال‌های آینده، زمان مهیج برای تولید واکسن آنفلوانزا است (۱۶).

سیستم بیانی باکولوویروسی، به طور موفقیت‌آمیزی برای سنتز کپسیدهای ویروس‌های متعددی تا به حال استفاده شده است. Hu و همکاران، با استفاده از سیستم Baculovirus/insect cell دو ژن HA ویروس آنفلوانزای سویه‌ی H5N2 را بیان نمود (۱۷).

در تحقیق دیگری، Powers و همکاران، VLP ویروس واکسینال آنفلوانزای H1N1 را با سیستم باکولوویروس ساختند (۱۸). این نوع سیستم، حامل باکولوویروسی بود که روز به روز در حال پیشرفت است. در طی ۲۰ سال گذشته، سیستم باکلوویروسی یکی از پرکاربردترین سیستم‌های تولید پروتئین نوترکیب بوده است (۲۰-۱۹).

پروتئین‌های نوترکیب تولید شده در سیستم بیانی باکولوویروسی حشره، بین ۵۰-۱ درصد کل پروتئین‌های موجود در سلول را تشکیل می‌دهند (۲۰). قابل ذکر است که مطالعات انجام شده در زمینه‌ی این سیستم، بیانگر آن است که در آن، فرایندهای پس از ترجمه به خوبی انجام می‌شود؛ به طوری که پروتئین نوترکیب حاصل گلیکوزیله، فسفریله، پلیمریزه و استیله می‌شود و همچنین، فولدینگ مناسب پروتئین در آن‌ها تشکیل می‌شود (۲۰). در ضمن، شرایط سیتوپلاسمی سلول‌های حشرات به شکلی است که موقعیت لازم برای تشکیل باندهای دی‌سولفیدی را فراهم می‌کند. بنابراین، پروتئین تولید شده ساختار اصلی خود را حفظ می‌کند و می‌تواند مشابه پروتئین طبیعی عمل نماید (۲۱-۲۰). در این تحقیق، برای تولید پروتئین نوترکیب هماگلوتینین در سلول‌های حشرات از روشی که Luckow و Summers (۲۱) ابداع کرده بودند، استفاده شد.

Kitts و Possee، بیان و تخلیص پروتئین هماگلوتینین را نیز در سلول حشره بررسی کردند (۲۲)، اما در مطالعه‌ی حاضر، از سویه‌ی ایرانی آنفلوانزا استفاده گردید و سیستم بیانی در این مطالعه Bac-to-Bac بود که در نهایت، مقدار پروتئین بیشتر با پایداری و خلوص بیشتر تخلیص گردید که می‌تواند با بررسی‌های بیشتر به

عنوان جایگزین مناسبی برای ساخت واکسن آنفلوانزا در ایران باشد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی، واکسن‌های تجاری که در تخم‌مرغ جنین‌دار می‌باشند، حساسیت و آلرژی ایجاد می‌کنند. بنابراین، در افراد با سن بالا که سیستم ایمنی ضعیف‌تری دارند، تاثیری ندارد، اما بیان این پروتئین به دلیل این که در سلول حشره می‌باشد، این مشکل را نخواهد داشت. بنابراین، در سنین بالاتر مؤثرتر خواهد بود. از طرفی، چون سلول یوکاریوتی می‌باشد، به دلیل تشابه با سلول انسانی، می‌تواند مؤثر واقع شود. قابل ذکر است که بیماری آنفلوانزا یک بیماری مشترک بین انسان و پرندگان است. از این رو، وقتی این بیماری شیوع پیدا می‌کند، تخم‌مرغ‌های جنین‌دار کمتر می‌شوند و ساخت واکسن زمان‌بر خواهد بود، اما با بیان در سلول حشره، این مشکل حل خواهد شد و از لحاظ اقتصادی، مقرون به صرفه‌تر و مستلزم صرف زمان کمتر خواهد بود. این مطالعه، نشان داد پروتئین هماگلوتینین قادر به بیان بالا در سلول حشره می‌باشد. پس می‌تواند در آینده جایگزین مناسبی برای تخم‌مرغ‌های جنین‌دار برای تولید واکسن باشد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر با کد ۱۸۲۶۳۸ در پژوهشیار تأیید شده است. با سپاس فراوان از مؤسسه‌ی تحقیق واکسن و سرم‌سازی رازی که با پژوهشگران در این مطالعه همکاری نمودند.

References

1. Munster VJ, Fouchier RA. Avian influenza virus: of virus and bird ecology. Vaccine 2009; 27(45): 6340-4.
2. Alexander DJ. A review of avian influenza in different bird species. Vet Microbiol 2000; 74(1-2): 3-13.
3. Knipe D, Howley P, Cohen J, Griffin D, Lamb R, Martin M, et al. Fields virology. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2013.
4. Roos R. WHO says H1N1 pandemic is over. Minneapolis, MN: Center for Infectious Disease Research and Policy Office of the Vice President for Research, University of Minnesota; 2010.
5. Hussain M, Galvin HD, Haw TY, Nutsford AN, Husain M. Drug resistance in influenza A virus: the epidemiology and management. Infect Drug Resist 2017; 10: 121-34.
6. Ligon BL. Avian influenza virus H5N1: A review of its history and information regarding its potential to cause the next pandemic. Semin Pediatr Infect Dis 2005; 16(4): 326-35.
7. Hitchman RB, Possee RD, King LA. Baculovirus expression systems for recombinant protein production in insect cells. Recent Pat Biotechnol 2009; 3(1): 46-54.
8. Steel J. New strategies for the development of H5N1 subtype influenza vaccines: progress and challenges. BioDrugs 2011; 25(5): 285-98.
9. Cox MM. Recombinant protein vaccines produced in insect cells. Vaccine 2012; 30(10): 1759-66.
10. Berger I, Fitzgerald DJ, Richmond TJ. Baculovirus expression system for heterologous multiprotein complexes. Nat Biotechnol 2004; 22(12): 1583-7.
11. Bright RA, Carter DM, Daniluk S, Toapanta FR, Ahmad A, Gavrilov V, et al. Influenza virus-like particles elicit broader immune responses than whole virion inactivated influenza virus or recombinant hemagglutinin. Vaccine 2007; 25(19): 3871-8.
12. Kang SM, Pushko P, Bright RA, Smith G, Compans RW. Influenza virus-like particles as pandemic vaccines. Curr Top Microbiol Immunol 2009; 333: 269-89.
13. Ludwig C, Wagner R. Virus-like particles-universal molecular toolboxes. Curr Opin Biotechnol 2007; 18(6): 537-45.
14. Tinsley TW, Harrap KA. Viruses of Invertebrates. In: Fraenkel-Conrat H, editor. Newly Characterized Protist and Invertebrate Viruses. Boston, MA: Springer US; 1978. p. 1-101.
15. Wang K, Holtz KM, Anderson K, Chubet R, Mahmoud W, Cox MMJ. Expression and purification of an influenza hemagglutinin-one step closer to a recombinant protein-based influenza vaccine. Vaccine 2006; 24(12): 2176-85.
16. Song L, Nakaar V, Kavita U, Price A, Huleatt J, Tang J, et al. Efficacious recombinant influenza vaccines produced by high yield bacterial expression: a solution to global pandemic and seasonal needs. PLoS One 2008; 3(5): e2257.
17. Hu YC, Luo YL, Ji WT, Chulu JL, Chang PC, Shieh H, et al. Dual expression of the HA protein of H5N2 avian influenza virus in a baculovirus system. J Virol Methods 2006; 135(1): 43-8.
18. Powers DC, Kilbourne ED, Johansson BE. Neuraminidase-specific antibody responses to inactivated influenza virus vaccine in young and elderly adults. Clin Diagn Lab Immunol 1996; 3(5): 511-6.
19. Ahmad B, Li Z, Hanif Q, Hu Q, Wei X, Zhang L, et al. A Hybrid Peptide DEFB-TP5 Expressed in Methylotrophic Yeast Neutralizes LPS with Potent Anti-inflammatory Activities. Front Pharmacol 2020; 11: 461.
20. Soleimanjahi H, Fotouhi F. Baculoviruses and insect cells as powerful tools for gene expression. Tehran, Iran: Jahad Daneshgahi; 2009. [In Persian].
21. Luckow VA, Summers MD. Trends in the Development of Baculovirus Expression Vectors. Bio/Technology 1988; 6(1): 47-55.
22. Kitts PA, Possee RD. A method for producing recombinant baculovirus expression vectors at high frequency. Biotechniques 1993; 14(5): 810-7.

DOI: *10.22122/jims.v38i572.12948* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 38, No. 572, 4th Week, June 2020**

Received: 12.03.2020 Accepted: 04.06.2020 Published: 26.06.2020

Cloning, Expression, and Purification of the Recombinant Hemagglutinin of Human Influenza Virus H1N1 in the Eukaryotic Insect Cells Using Baculovirus Vector

Niloufar Rashedi[1], Morteza Taghizadeh[2], Parisa Mohamadynejad[3], Mehdi Mahdavi[4], Reza Jalalirad[5]

Original Article

Abstract

Background: The H1N1 influenza virus is a highly pathogenic virus that threatens human life. Vaccination is an effective way of preventing and controlling influenza. Production of recombinant hemagglutinin in the baculovirus expression system, in the insect eukaryotic cell substrate (Sf9), has been suggested as an effective strategy.

Methods: The H1N1 influenza virus hemagglutinin gene sequence was prepared from National Center for Biotechnology Information (NCBI). After designing a specific primer, the sequence was provided using restriction digestion, cloned into pFastBacHTA plasmid, and transferred to the DH10Bac cell to produce a recombinant bacmid. After extracting the relevant plasmid, it was transfused into the insect cell; and after the expression of the protein by Sf9 cell, the presence of recombinant protein was confirmed using sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Western blot methods.

Findings: The hemagglutinin gene (654 bp) was cloned in pFastBacHTA plasmid using the two enzymes of BamHI and Xhol. Sf9 cell expressed a protein weighing approximately 60 kDa after receiving the recombinant bacmid protein. The extracted protein was identified and confirmed using SDS-PAGE and Western blot methods; and protein concentration was measured by Lowry method.

Conclusion: The baculovirus system is useful for the production of proteins with complex structures. Generally, it can be concluded that this protein is highly expressed in insect cells. Due to the similarity of this system with the human system, it can be a suitable alternative for embryonic eggs in the future, and can be used in vaccination.

Keywords: Influenza A virus; H1N1 subtype; Hemagglutinins; Sf9 cells; Baculovirus

Citation: Rashedi N, Taghizadeh M, Mohamadynejad P, Mahdavi M, Jalalirad R. **Cloning, Expression, and Purification of the Recombinant Hemagglutinin of Human Influenza Virus H1N1 in the Eukaryotic Insect Cells Using Baculovirus Vector.** J Isfahan Med Sch 2020; 38(572): 260-6.

1- PhD Student, Department of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2- Invited Assistant Professor, Department of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran AND Assistant Professor, Department of Research and Development, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
3- Assistant Professor, Department of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
4- Invited Assistant Professor, Department of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran AND Assistant Professor, Recombinant Vaccine Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5- Invited Assistant Professor, Department of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran AND Assistant Professor, Production and Research Complex, Pasteur Institute of Iran, Karaj, Iran
Corresponding Author: Morteza Taghizadeh, Invited Assistant Professor, Department of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran; Email: taghizadeh.morteza@gmail.com

DOI: 10.22122/jims.v38i572.12847 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هشتم/شماره‌ی ۵۷۲/هفته‌ی چهارم خرداد ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۹ تاریخ چاپ: ۱۳۹۹/۳/۲۸

بروز کونژکتیویت، هوردئولوم و شالازیون دوطرفه در ارتباط با مصرف ایزوترتینوین سیستمیک: یک گزارش موردی

سمن افخمی اردکانی [۱]، شتیلا ترابی [۲]، یحیی شاهرخی [۳]

گزارش مورد

چکیده

مقدمه: عوارض زیادی نظیر عوارض چشمی، به دنبال مصرف ایزوترتینوین سیستمیک که برای درمان آکنه‌ی شدید استفاده می‌شود، گزارش شده است. در این مطالعه، یک مورد کنژکتیویت، هوردئولوم و شالازیون دوطرفه که در ارتباط با مصرف ایزوترتینوین خوراکی رخ داده است، گزارش می‌گردد.

گزارش مورد: بیمار خانم ۲۰ ساله‌ای بود که به دلیل آکنه‌ی شدید التهابی، تحت درمان با ایزوترتینوین خوراکی قرار گرفته و حدود ۴/۵ ماه پس از شروع درمان دچار کنژکتیویت، هوردئولوم و شالازیون دوطرفه شده بود. دو هفته پس از قطع درمان، علایم چشمی بیمار بهبود یافت، اما بار دیگر، پس از شروع ایزوترتینوین خوارکی (این نوبت با دز کمتر) کنژکتیویت بیمار عود کرد. به همین دلیل، ایزوترتینوین بیمار قطع شد.

نتیجه‌گیری: از آن جایی که وضعیت چشم بیمار دوطرفه بود، پس از قطع دارو، بیمار بهبود یافت و پس از شروع مجدد، بار دیگر بیماری عود نمود. به احتمال قوی، عوارض چشمی بیمار ثانویه به مصرف ایزوترتینوین است و یک یافته‌ی تصادفی نمی‌باشد.

واژگان کلیدی: ایزوترتینوین؛ آکنه؛ کنژکتیویت؛ هوردئولوم؛ شالازیون

ارجاع: افخمی اردکانی سمن، ترابی شتیلا، شاهرخی یحیی. **بروز کونژکتیویت، هوردئولوم و شالازیون دوطرفه در ارتباط با مصرف ایزوترتینوین سیستمیک: یک گزارش موردی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۹؛ ۳۸ (۵۷۲): ۲۶۹-۲۶۷.

مقدمه

ایزوترتینوین، یک ایزومر 13-cis از All-trans retinoic acid، یک رتینوئید صناعی خوراکی و از مشتقات ویتامین A می‌باشد (۱). شایع‌ترین عارضه‌ی وابسته به دز این دارو، التهاب لب‌ها (Cheilitis) است که در حدود ۹۰ درصد بیماران تحت درمان دیده می‌شود. همچنین، خشکی پوست و مخاطات و افزایش حساسیت به آفتاب نیز از سایر عوارض شایع این دارو می‌باشد (۲). از دیگر عوارض چشمی ناشی از مصرف ایزوترتینوین خوراکی، به مواردی همچون اختلال ترشح غدد میبومین، کراتوکونژکتیویت سیکا، کراتیت، افزایش اسمولاریته‌ی اشک و کاهش تحمل لنزهای تماسی اشاره شده است (۴-۳). شایع‌ترین عوارض چشمی مربوط به مصرف ایزوترتینوین شامل کنژکتیویت، هوردئولوم، شالازیون، بلفاریت، درد چشم و خشکی چشم (Dry eye) بود. کنژکتیویت حاد، ۱/۷ برابر در بیمارانی که ایزوترتینوین خوارکی مصرف می‌کردند، نسبت به گروه شاهد شایع‌تر بود (۵). در این گزارش موردی، یک مورد کنژکتیویت، هوردئولوم و شالازیون دوطرفه هم‌زمان در یک بیمار تحت درمان با ایزوترتینوین خوراکی گزارش می‌گردد.

گزارش مورد

بیمار خانم ۲۰ ساله مورد آکنه‌ی شدید التهابی بود که به دلیل مقاومت به درمان موضعی و داکسی سایکلین خوراکی، برای وی در ابتدا ایزوترتینوین خوراکی با دز ۲۰ میلی‌گرم روزی یک عدد و پس از ۳/۵ ماه به دلیل عدم بهبود ضایعات، دز دارو به میزان ۴۰ و ۲۰ میلی‌گرم یک روز در میان تغییر یافت. بیمار پس از حدود یک ماه، دچار سوزش و

۱- دستیار تخصصی، گروه بیماری‌های پوست، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۲- استادیار، گروه بیماری‌های پوست، مرکز تحقیقات سالک جلدی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۳- پزشک عمومی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: شتیلا ترابی؛ استادیار، گروه بیماری‌های پوست، مرکز تحقیقات سالک جلدی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

Email: torabish@mums.ac.ir

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

خارش لبه‌ی پلک و به دنبال آن، قرمزی اسکلرای هر دو چشم شد و پس از گذشت ۳۶ ساعت، دچار تورم، التهاب و گرمی پلک فوقانی بدون خروج چرک گردید، اما شکایتی از کاهش حدت بینایی نداشت (شکل ۱).

شکل ۱. نمای پلک‌های بیمار قبل از قطع درمان

در معاینه‌ی چشم‌ها، شواهد کنژکتیویت در هر دو چشم و التهاب پلک فوقانی در لبه‌ی مژه‌ها و متمرکز در قسمت Lateral با نمایی شبیه هوردئولوم یا شالازیون مشاهده شد. در مشاوره‌ی چشم‌پزشکی درخواست شده جهت بیمار، تشخیص کنژکتیویت، هوردئولوم و شالازیون دوطرفه به عنوان یکی از عوارض بسیار نادر ایزوترتینوین مطرح و توصیه به قطع دارو و استفاده از پماد اریترومایسین موضعی و قطره‌ی اشک مصنوعی شد. پس از دو هفته قطع دارو، علایم بیمار بهبود یافت. پس از گذشت یک ماه، ایزوترتینوین با دز کاهش یافته‌ی ۲۰ میلی‌گرم یک روز در میان برای بیمار شروع شد، اما به دلیل عود مجدد کنژکتیویت، مصرف دارو دوباره قطع شد.

بحث

این گزارش موردی نشان دهنده‌ی موردی از کنژکتیویت، هوردئولوم و شالازیون دوطرفه ثانویه به مصرف ایزوترتینوین خوراکی می‌باشد. اگر چه احتمال هم‌زمانی تصادفی این موارد وجود دارد، اما به دلیل دو طرفه بودن آن و برطرف شدن وضعیت چشم بیمار به دنبال قطع ایزوترتینوین خوراکی و عود مجدد آن به دنبال مصرف مجدد، به احتمال قوی وضعیت چشم بیمار ثانویه به مصرف ایزوترتینوین ایجاد شده است. نکته‌ی مهم دوطرفه بودن شالازیون می‌باشد که در حالت عادی واقعه‌ای نادر و نشان دهنده‌ی اختلال دوطرفه‌ی غدد میبومین است و اشاره به علتی سیستمیک همچون مصرف ایزوترتینوین دارد.

نتیجه‌گیری

اهمیت این گزارش موردی از این جهت می‌باشد که نیاز است به بیمارانی که قصد شروع ایزوترتینوین دارند، در زمینه‌ی علایم چشمی نیز هشدار داده شود تا در صورت نیاز ایزوترتینوین قطع و درمان لازم شروع گردد.

تشکر و قدردانی

در این مطالعه از هیچ منبع مالی ویژه ای استفاده نشده و هیچ کدام از نویسندگان تضاد منافعی در این مطالعه برای اعلان نداشتند. تصاویر استفاده شده در این گزارش موردی با رضایت آگاهانه‌ی کتبی بیمار مورد استفاده قرار گرفت.

References

1. Melnik BC. Apoptosis may explain the pharmacological mode of action and adverse effects of isotretinoin, including teratogenicity. Acta Derm Venereol 2017; 97(2): 173-81.
2. Pile HD, Sadiq NM. Isotretinoin. In: StatPearls. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing; 2020.
3. Almasaud JS, Alshammrie FF, Alruwaili WS, Alharbi RF, Alghafee GA. Ocular adverse effects in patients with systemic isotretinoin in King Khaled Hospital, Hail, Saudi Arabia, 2018-2019. EC Ophthalmology 2018; 10(10): 801-6.
4. Fraunfelder FT, Fraunfelder FW, Edwards R. Ocular side effects possibly associated with isotretinoin usage. Am J Ophthalmol 2001; 132(3): 299-305.
5. Neudorfer M, Goldshtein I, Shamai-Lubovitz O, Chodick G, Dadon Y, Shalev V. Ocular adverse effects of systemic treatment with isotretinoin. Arch Dermatol 2012; 148(7): 803-8.

DOI: *10.22122/jims.v38i572.12847* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 38, No. 572, 4th Week, June 2020**

Received: 12.03.2020 Accepted: 08.06.2020 Published: 26.06.2020

Bilateral Chalazion, Conjunctivitis, and Hordeolum Associated with Systemic Consumption of Isotretinoin: A Case Report

Saman Afkhami-Ardakani[1], Shatila Torabi[2], Yahya Shahrokhi[3]

Original Article

Abstract

Background: Several adverse effects (AEs) such as ocular AEs have been reported following systemic consumption of isotretinoin. Here, we report a case of bilateral chalazion, conjunctivitis, and hordeolum associated with systemic isotretinoin.

Case Report: A 20-year-old girl was treated with oral isotretinoin because of severe inflammatory acne, and developed bilateral chalazion, conjunctivitis, and hordeolum about 4.5 months after initiation of treatment. Two weeks after cessation of oral isotretinoin, patient's eye condition improved. However, after re-initiation of oral isotretinoin treatment with a reduced dose, her conjunctivitis relapsed; therefore, the treatment was once again terminated.

Conclusion: Since the patient's condition was bilateral, recovered after cessation of therapy; and once again, relapsed after re-initiation. It was most likely a complication of the medication and not a coincidence.

Keywords: Isotretinoin; Acne; Conjunctivitis; Hordeolum; Chalazion

Citation: Afkhami-Ardakani S, Torabi S, Shahrokhi Y. **Bilateral Chalazion, Conjunctivitis, and Hordeolum Associated with Systemic Consumption of Isotretinoin: A Case Report.** J Isfahan Med Sch 2020; 38(572): 267-9.

1- Resident, Department of Dermatology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
2- Assistant Professor, Department of Dermatology, Cutaneous Leishmaniasis Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
3- General Practitioner, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
Corresponding Author: Shatila Torabi, Assistant Professor, Department of Dermatology, Cutaneous Leishmaniasis Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran; Email: torabish@mums.ac.ir

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada; khosrow.adeli@sickkids.ca
2. **Ali Akhavan** MD, Assistant Professor of Radiation Oncology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran ali52akhavan@yahoo.com
3. **Mohammadreza Akhlaghi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; akhlaghi@med.mui.ac.ir
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran; aminr@sums.ac.ir
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran amra@med.mui.ac.ir
6. **Saeed A. Jortani** PhD, Professor of Pathology, University of Louisville, Louisville, KY, USA; sajort01@louisville.edu
7. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; bagherian@med.mui.ac.ir
8. **Majid Barekatain** MD, Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran barekatain@med.mui.ac.ir
9. **Ken Bassett** MD, PhD, Professor of Therapeutics Initiative, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada; bassett@chspr.ubc.ca
10. **Ahmad Chitsaz** MD, Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; chitsaz@med.mui.ac.ir
11. **Afsoon Emami-Naini** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; af_emami@med.mui.ac.ir
12. **Shahin Emami** Department of Biochemistry, Saint Antoine Hospital, Paris, France; shahin.emami@cgc.edu
13. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; esfandiari@med.mui.ac.ir
14. **Ahmad Esmaeilzadeh** PhD, Professor of Nutrition, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; esmaillzadeh@hlth.mui.ac.ir
15. **Ziba Farajzadegan** MD, Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; farajzadegan@med.mui.ac.ir
16. **Aziz Gahari** MD, Professor Plastic Surgery, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada; aziz.ghahary@ubc.ca
17. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; golshahi@med.mui.ac.ir
18. **Mostafa Hashemi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mostafahashemi60@gmail.com
19. **Saied Morteza Heidari** MD, Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m_heidari@med.mui.ac.ir
20. **Ali Hekmatnia** MD, Professor of Radiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; hekmatnia@med.mui.ac.ir
21. **Fariba Iraji** MD, Professor of Dermatology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; iraji@med.mui.ac.ir
22. **Faramarz Ismail-Beigi** MD, PhD, Professor of Endocrinology, University Hospitals Cleveland Medical Center, Cleveland, OH, USA; faramarz.ismail-beigi@case.edu
23. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; kelishadi@med.mui.ac.ir
24. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics and Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; khani@med.mui.ac.ir
25. **Majid Kheirollahi** PhD, Associate Professor of Genetics and Molecular Biology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mkheirollahi@med.mui.ac.ir
26. **Parvin Mahzooni** MD, Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mahzouni@med.mui.ac.ir
27. **Marjan Mansourian** PhD, Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; j_mansourian@hlth.mui.ac.ir
28. **Mohammad Mardani** MD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mardani@med.mui.ac.ir
29. **Mehdi Modarres-Zadeh** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; mmodarres51@yahoo.com
30. **Etie Moghisi** MD, Associate Professor of Endocrinology, Marina Diabetes and Endocrinology Center, Marina del Rey, CA, USA; emoghissi@gmail.com
31. **Mohammadreza Nourbakhsh** PhD, Professor of Physiotherapy, North Georgia College, Dahlonega, GA, USA; reza.nourbakhsh@ung.edu
32. **Farzin Pourfarzad** PhD, Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands; f.pourfarzad@erasmusmc.nl
33. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m_pourmoghadas@med.mui.ac.ir
34. **Maryam Radahmadi** PhD, Associate Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m_radahmadi@med.mui.ac.ir
35. **Hassan Razmju** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; razmju@med.mui.ac.ir
36. **Reza Rouzbahani** MD, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; rouzbahani@med.mui.ac.ir
37. **Masih Saboori** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; saboori@edc.mui.ac.ir
38. **Mohammad Reza Safavi** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; safavi@med.mui.ac.ir
39. **Rasoul Salehi** PhD, Assistant Professor of Genetics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; r_salehi@med.mui.ac.ir
40. **Mansour Sholevar** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; sholevar@med.mui.ac.ir
41. **Mohammadreza Sharifi** MD, PhD, Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; sharifi@med.mui.ac.ir
42. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran; masoud_soheilian@yahoo.com

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 38, No. 572, 4th Week June 2020

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman**: Saied Morteza Heidari MD** Emerita Editor-in-Chief**: Roya Kelishadi MD**

Editor-in-Chief**: Reza Khadivi MD**

Owner:
Isfahan University of Medical Sciences
Email: publications@mui.ac.ir

Office:
P.O. Box 81744-176, Isfahan, Iran
Tel/fax: +98 31 37922291
Email: jims@med.mui.ac.ir
Website: http://jims.mui.ac.ir
Executive Manager: Ali Moradi, Office Secretary: Golnaz Rajabi

Publisher:

Vesnu Publications

Email: farapublications@gmail.com
http://farapub.com

Tel/fax: +98 31 32224382
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.