



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گلستان
معاونت تحقیقات و فن آوری

فراز

دوفصلنامه علمی کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی گلستان
بهار و تابستان ۱۳۹۰، دوره ۱۳، شماره ۱ (پی درپی ۲۳)

صاحب امتیاز و ناشر: معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان

مدیر مسؤول: دکتر محمدجعفر گلعلی پور

سر دبیران: دکتر علیجان تبرایی

فریبا باقریه

مدیر اجرایی: سامیه غنا

گروه اجرایی: محمدزمان مجنون و مبینا رضانی

مدیر روابط عمومی: مریم ملاح

سرپرست معاونت تحقیقات و فناوری، استاد گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

سرپرست کمیته تحقیقات و استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده فن آوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

دانشجوی مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

دانشجوی پرستاری / دانشجوی مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

دانشجوی پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

هیئت تحریریه این شماره (به ترتیب حروف الفباء)

- (استادیار عضو هیئت علمی گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشیار عضو هیئت علمی گروه پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشیار عضو هیئت علمی گروه پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (استادیار عضو هیئت علمی گروه تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (مری، کارشناس ارشد اپیدمیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (استادیار گروه پزشکی مولکولی، دانشکده فن آوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)

- دکتر علیجان تبرایی
- دکتر اکرم ثناگو
- دکتر لیلا جویباری
- دکتر سمیرا عشقی نیا
- رسول محمدی
- دکتر یعقوب یزدانی

- (دانشجوی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی دکتری تخصصی پزشکی مولکولی، دانشکده فن آوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی هوشبری، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده فن آوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (پزشک عمومی و دانشجوی دکتری تخصصی پزشکی مولکولی، دانشکده فن آوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی، دانشکده فن آوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده فن آوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)

- آرزو باخویش
- بیتا جوان
- امین حسن زاد
- نوید خوشبخت
- عادلہ رافتی
- امیرحسین سلیمی
- عطیه شربتی
- دکتر آرش طهماسبی فر
- معصومه قاسمی
- مریم کوچکی
- ندا کیهان ور
- محمدزمان مجنون
- مهین نومی

هیئت تحریریه افتخاری این شماره

- (استادیار گروه نانویوتکنولوژی، دانشکده فن آوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (استادیار عضو هیئت علمی گروه آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی دکتری تخصصی پزشکی مولکولی، دانشکده فن آوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)
- (دانشجوی دکتری تخصصی پزشکی مولکولی، دانشکده فن آوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)

- دکتر پوریا گیل
- دکتر اسماعیل نعیمی طبعی
- ایوب خسروی
- ماریه سقایان

تنظیم و صفحه آرایی: مرضیه نعمتی (کارشناس مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان)

طراحی جلد: محسن اقبال (دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان)

چاپ: شگفت نشانی: گرگان، خیابان شهداء، جنب لاله ۱۲، تلفن 0171-2222701

شمارگان: 1000 نسخه

تلفن و نمابر: 0171 – 4424377

نشانی وب سایت دانشگاه: www.goums.ac.ir

پست الکترونیکی فراز: farazjournal@goums.ac.ir

نشانی: گرگان، کیلومتر ۲ جاده گرگان به ساری، مجموعه آموزش عالی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

(شادروان فلسفی) معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه، کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه

راهنمای نگارش مقالات

مجله فراز، نشریه علمی کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گلستان، از دانشجویان و محققین محترمی که تمایل دارند، مقاله خود را برای چاپ به این مجله ارسال نمایند، دعوت می‌نماید موارد زیر را مورد توجه قرار دهند:

- ۱ عنوان کامل مقاله، نام نویسنده(گان) (نویسنده مسؤول با علامت * مشخص شود)، نشانی نویسنده مسؤول شامل: شهر، دانشگاه، پست الکترونیکی و تلفن آورده شود.
- ۱ در مقالات تحقیقی خلاصه مقاله و متنی مشتمل بر مقدمه، روش بررسی، یافته‌ها، بحث، نتیجه‌گیری و تشکر و قدردانی ارسال گردد. خلاصه مقاله باید حداکثر ۲۵۰ کلمه بوده و به تفکیک حاوی قسمتهای زمینه و هدف، روش بررسی، یافته‌ها، نتیجه‌گیری و کلید واژه‌ها باشد.
- ۱ مقاله بایستی در یک طرف کاغذ به قطع A4 و به فاصله ۲ سانتی‌متر از طرفین کاغذ، یک خط در میان به وسیله نرم‌افزار Word تحت ویندوز با رعایت کامل اصول آئین نگارش فارسی تایپ شوند.
- ۱ تصاویر ارسالی وضوح مناسبی داشته باشند.
- ۱ منابع به ترتیب اشاره در متن شماره‌گذاری و در انتهای مقاله نگارش شوند. در متن مقاله باید از به کار بردن کلمات انگلیسی که معادل فارسی قابل فهمی دارند، خودداری گردد.
- ۱ تمام و یا قسمتی از مقالات ارسالی نبایستی در مجله‌ای به زبان فارسی و انگلیسی چاپ شده باشند. در صورتی که مقاله قبلاً در کنفرانس‌های علمی ارایه شده است، مراتب با ذکر مشخصات کامل کنفرانس مربوطه اعلام گردد.
- ۱ رفرنس‌ها براساس فرمت Vancouver نوشته شوند.
- ۱ نقل، اقتباس، چاپ و انتشار مطالب صرفاً با ذکر کامل نام مجله، مجاز است.
- ۱ مجله در رد، قبول، ویرایش، تلخیص و اصلاح مقالات، آزاد است. مقالات ارسالی، مسترد نخواهد شد.
- ۱ ترتیب درج مقالات تابع مقررات خاص خود مجله است و به درجه علمی و شخصیت نویسندگان آن بستگی ندارد.
- ۱ مسؤولیت صحت و سقم مندرجات مقاله به عهده نویسنده است.
- ۱ ترجمه مطالب جدید و جالب ترجیحاً از سال ۲۰۱۱ به بعد مورد پذیرش چاپ قرار می‌گیرد.

نشانی مجله فراز :

گرگان، کیلومتر ۲ جاده گرگان به ساری، مجموعه آموزش عالی دانشگاه علوم پزشکی گلستان
(شادروان فلسفی) معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه، کمیته تحقیقات دانشجویی

تلفن و نمابر : ۰۱۷۱ - ۴۴۲۴۳۷۷

وب سایت دانشگاه: www.goums.ac.ir

پست الکترونیکی: farazjournal@goums.ac.ir

مقاله پژوهشی

- n بررسی فاکتور نکرورددهنده‌ی تومور آلفا (TNF- α) و گیرنده‌ی ترشحی آن (sTNFR1) در پلاسمای بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی فعال و بهبودیافته 5
- * احسان سیدان جاسبی، دکتر محمود ناطقی رستمی، دکتر علی خامسی پور، اکرم میرامین محمدی، دکتر محسن آقایی
- n بررسی انواع روشهای درمان جراحی سرطان پستان در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی ساری 14
- * دکتر نسرين رحمانی، سیدعباس هاشمی، محمد رئیسیان
- n بررسی شیوع اختلالات روانی و عوامل مرتبط با آن در زنان باردار مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی شهرستان کوهدشت، سال - 1389
- * مرادعلی زارعی پور، دکتر رویا صادقی، مرضیه پاکی فر، عزتاله بازوند

گزارش مورد - پژوهشی

- n شیرخوار سه ماهه مبتلا به هیپوکالمی به دنبال رنال توبولار اسیدوز 24
- * نوشین فرزید، سامیه غنا، دکتر اکرم ثناگو، دکتر لیلا جویباری
- n بروز هایپرترمی بدخیم در عمل جراحی تثبیت آرنج 28
- * سید علی موسوی مهاجر، امین حسن زاد، دکتر محمد احمدی

ترجمه

- n نقش فاکتورهای ژنتیکی در بیماری های قلبی - عروقی 32
- * ایوب خسروی
- n چای سیاه در کوتاه مدت، باعث کاهش فشارخون می شود 37
- * سمیه اصغری
- n آیا میتوان با آزمایش خون بیماری آلزایمر را پیش بینی کرد؟ 38
- * سمیه اصغری
- n نوزادان بستری در بخش مراقبت های ویژه چندبار باید حمام شوند؟ 40
- * سامیه غنا
- n آیا می دانید ذرت بوداده غنی از آنتی اکسیدان است؟ 41
- * زهرا آرخی

گردآوری

- n تشخیص پیش از تولد و تشخیص پیش از لانه گزینی (PND و PGD) 42
- * معصومه قاسمی
- n پروبیوتیک 47
- * نوید خوشبخت
- n نانوبادی ها، ریز ابزارهای امیدبخش در ایمونوتراپی 50
- * آرمینا علاقه بند بهرامی
- n ژن درمانی نابینایی مادرزادی Leber (قسمت اول) 58
- * ماریه سقائیان

چکیده پایان نامه

- n بررسی اثر عصاره زنجبیل بر حجم باقیمانده معده در بیماران با تهویه مکانیکی بستری در بخش های مراقبت ویژه 64
- * میترا حکمت افشار
- n بررسی فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم به متی سیلین در بیماران شهر گرگان 65
- * حمید واعظ

سخن سردبیر

روند پیشرفت رو به جلو علمی کشور در سالهای اخیر در راستای هدف گذاری نظام جمهوری اسلامی ایران در روند توسعه پایدار همه جانبه بر پایه دانایی محوری و پژوهش در علوم مختلف می باشد. افزایش شمار دانشجویان و گسترش روزافزون دوره های تحصیلات تکمیلی طی سالیان اخیر، فضا و بستر لازم را برای افزایش تحقیقات و بهبود کیفیت مجلات علمی بعنوان ابزاری موثر در ارائه نتایج پژوهش ها فراهم نموده است. مجله علمی دانشجویی فراز با هدف ارائه مجموعه تحقیقات و فعالیتهای عمدتاً دانشجویی در حوزه های مختلف علوم پزشکی منتشر می گردد تا محیط مناسبی برای ارائه مباحث تخصصی محققین باشد. ما برآن هستیم تا با استفاده از ارتباط مستمر با محققین و دانشجویان گرامی و دریافت مقالات علمی و نظرات، امکان فضایی مناسب و با کیفیت را همراه با سرعت برای انتشار مجله علمی فراز فراهم آوریم. در اینجا لازم می دانم ضمن پوزش از تاخیر در انتشار به موقع شمارگان اخیر امیدواریم با همت عالی دانشجویان گرامی کمیته تحقیقات و پشتیبانی حوزه معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه و کسب نظرات ارزشمند خوانندگان محترم نسبت به انتشار منظم و با کیفیت مجله نائل آئیم.

دکتر علیجان تبرائی

مهر ۱۳۹۱

هین سخن تازه بگو تا دو جهان تازه شود...

فراز بعد از یک سال تأخیر آمد تا سخنی تازه از جنس خواستن، سعی و کمال بگوید. چهارده سال از عمر فراز میگذرد و در طی این مسیر پرفراز و نشیب دوستانی بودند که به یاری اندیشه، قلم و همت والایشان فراز به فراز رسید. از تمام آن عزیزان سپاسگذاریم و امیدواریم حال که چند صباحی قرعه به نام ما افتاده بتوانیم با کمک شما دانشجویان و پژوهشگران گرامی سخنی تازه بگوییم و طرحی نو دراندازیم. از جناب آقای دکتر محسن اعرابی معاونت سابق تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان، سرکار خانم مریم پاک منش کارشناس کمیته تحقیقات دانشجویی، سرکار خانم عطیه شربتی دبیر کمیته تحقیقات دانشگاه، جناب آقای دکتر آرش طهماسبی فر دبیر کمیته تحقیقات دانشکده فن آوریهای نوین و جناب آقای نوید خوشبخت دبیر کمیته تحقیقات دانشکده پزشکی، به خاطر راهنمایی های دلسوزانه و زحمات بی دریغشان بی نهایت سپاسگزاریم.

فریبا باقریه

مقاله پژوهشی

بررسی فاکتور نکروزدهندهی تومور آلفا ($TNF-\alpha$) و گیرندهی ترشحی آن ($sTNFR1$) در پلاسمای بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی فعال و بهبود یافته

احسان سیدان جاسبی^۱، دکتر محمود ناطقی رستمی^{۲*}، دکتر علی خامسی پور^۳، اکرم میرامین محمدی^۴، دکتر محسن آقایی^۵
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم
۲. دکتری تخصصی انگل شناسی پزشکی گروه بهداشت عمومی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قم
۳. دکتری تخصصی ایمنی شناسی پزشکی، مرکز آموزش و پژوهش بیماری های پوست و جدام، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴. کارشناس ارشد قارچ شناسی پزشکی، مرکز آموزش و پژوهش بیماری های پوست و جدام، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۵. پزشک عمومی مرکز بهداشت قمرو، دانشگاه علوم پزشکی قم

* نویسنده مسؤول: دکتر محمود ناطقی رستمی، پست الکترونیکی Rostami52@yahoo.com

نشانی: قم، میدان روح اله، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی قم

چکیده

زمینه و هدف: فاکتور نکروزدهندهی تومور آلفا ($TNF-\alpha$) از سایتوکاین های مهم پیش التهابی در تنظیم پاسخ ایمنی است که نقش آن در لیشمانیوز جلدی (سالک) نامعلوم و دارای تناقض است. در این مطالعه تغییرات سطح پلاسمایی $TNF-\alpha$ و گیرنده شماره ۱ آن ($sTNFR1$) در روند بهبود سالک بررسی شده است.

روش بررسی: از داوطلبان مهمترین کانونهای سالک استان قم (قمرو و قنات)، جمعاً ۳۳ نمونه خون گرفته شد (۱۳ شاهد سالم و در دو نوبت از ۱۰ بیمار مبتلا به سالک فعال و سالک بهبود یافته پس از درمان با گلوکانتیم). نمونه پلاسما از خون جدا شده و میزان ترشح $TNF-\alpha$ و $sTNFR1$ با روش الایزا بررسی شد.

یافته ها: غلظت $TNF-\alpha$ از سالک فعال ($513/25 \pm 308$ pg/ml) تا بهبود آن ($243/5 \pm 207$ pg/ml) اندازه گیری شد. میزان $TNF-\alpha$ در گروه مبتلا به سالک فعال بطور معنی داری بیش از گروه شاهد سالم بود ($P=0.01$) و پس از بهبود در مقایسه با زخم فعال کاهش معنی داری نشان داد ($P=0.002$). اختلاف معنی داری بین گروهها از نظر میزان ترشح $sTNFR1$ وجود نداشت. اما غلظت $sTNFR1$ در هر گروه از داوطلبان به طور معنی داری بیش از میزان $TNF-\alpha$ در همان گروه بود (سالک فعال $P=0.023$ ، بهبود یافته $P=0.000$ و شاهد سالم $P=0$).

نتیجه گیری: کاهش ترشح $TNF-\alpha$ پس از درمان سالک نشان می دهد که بهبود بالینی و کنترل زخم سالک با کاهش $TNF-\alpha$ ارتباط دارد. تغییرات گیرنده ترشحی $sTNFR1$ درحین بهبود زخم سالک روند یکنواختی را نشان نمی دهد اما بالا بودن ترشح آن ممکن است از بروز اثرات پاتولوژیک $TNF-\alpha$ جلوگیری کنند.

کلید واژه ها: لیشمانیوز جلدی، $TNF\alpha$ ، $sTNFR1$ ، الایزا

مقدمه

لیشمانیوز یک بیماری عفونی انگلی است که توسط تک یاخته‌ای از راسته کیتوپلاست‌داران و از جنس لیشمانیا ایجاد می‌شود. این بیماری بسته به گونه انگل و نوع پاسخ ایمنی میزبان اشکال بالینی مختلفی دارد و سالانه تقریباً ۲ میلیون مورد جدید از آن در سطح جهان بروز می‌یابد که بخش عمده آن از نوع لیشمانیوز جلدی (سالک) است. دو شکل عمده بیماری، یعنی سالک و لیشمانیوز احشایی (کالاآزار) عمدتاً در ۱۴ کشور از ۲۲ کشور منطقه مدیترانه شرقی (Eastern Mediterranean Regional Office (EMERO)) از جمله ایران مشاهده می‌شود (۱، ۲). علی‌رغم تلاش‌های فراوان دست‌اندرکاران بهداشتی در دهه‌های اخیر، تاکنون کنترل مخزن ناقل چندان مؤثر نبوده، درمان در عمل با مشکلات عدیده‌ای از جمله عدم پاسخ و مقاومت دارویی مواجه شده، و واکسنی کارآمد برای لیشمانیوز انسانی وجود ندارد؛ به همین دلیل در سال‌های اخیر سازمان جهانی بهداشت لیشمانیوز را به عنوان یک بیماری گرمسیری فراموش شده (Neglected Tropical Disease) مطرح کرده است. (۱، ۳، ۴).

یافته‌های ایمنی‌شناسی در لیشمانیوز عمدتاً از مطالعه بر روی مدل‌های حیوانی به ویژه نژادهای خالص موش بدست آمده و نشان داده شده است که در مدل‌های موشی بین حساسیت و مقاومت به عفونت لیشمانیا مازور به ترتیب با دو زیرگروه Th1 و Th2 از لنفوسیت‌های CD4+ T وابستگی وجود دارد (۵). مطالعات نشان داده است که بهبودی عفونت ناشی از لیشمانیا در سویه‌های مقاوم موشی نظیر C57BL/6 به خاطر تولید سایتوکاین‌های فعال‌کننده ماکروفاژ مثل IFN- γ بود که شاخص پاسخ Th1 است. افزایش نابودی انگل‌های درون ماکروفاژ از طریق افزایش تولید نیتریک اکساید نتیجه‌ی فعال‌سازی ماکروفاژ است. در مقابل حساسیت موش BALB/C به عفونت ناشی از لیشمانیا به علت تولید سایتوکاین‌های مهارکننده فعالیت ماکروفاژها نظیر IL-4 و IL-10 بوده که از مشخصه‌های پاسخ Th2 است (۶، ۷). علی‌رغم اطلاعات فراوانی که در مورد پاسخ ایمنی در مدل موش وجود دارد، یافته‌های ایمنی‌شناسی در لیشمانیوز انسانی محدود و ناقص است و پاسخ ایمنی در افراد مبتلا به سالک، گوناگون و متفاوت است. از این‌رو شناخت هرچه بیشتر پاسخ ایمنی میزبان در برابر عفونت لیشمانیا کمکی برای شناخت بهتر ماهیت پیچیده این بیماری

است تا در طراحی، تولید و ارزیابی واکسن و پیشرفت درمان‌های ضد لیشمانیوز مورد توجه قرار گیرد (۸). در بیماران دارای ضایعه مزمن سالک، تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی ممکن است افزایش یابد (۹) از جمله سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، فاکتور نکروزدهنده‌ی تومور آلفا (TNF- α) است که دارای توانایی ایجاد آپوپتوز در سلول‌های توموری است. دامنه‌ی وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی در پاسخ ایمنی به TNF- α نسبت داده می‌شود. از جمله این فعالیت‌ها اثرات مفید در ایجاد التهاب و پاسخ ایمنی حفاظت‌کننده ضد بسیاری از عوامل بیماری‌زا (Pathogens) است. از طرف دیگر افزایش بیش از حد TNF- α می‌تواند اثرات مخربی از جمله کاشکسی ناشی از تومور و همچنین بیماری‌های خود ایمن علیه میزبان به همراه داشته است (۱۰). TNF- α از سایتوکاین‌های اصلی فعال‌کننده‌ی ماکروفاژ برای تولید نیتریک اکساید است که در نابودی انگل‌های درون سلولی مؤثر است (۱۱). از سال‌های گذشته مطالعاتی در لیشمانیوز مدل حیوانی نشان داد که TNF- α نقش مهمی در دفاع میزبان بازی می‌کند (۱۲)، همچنین بالابودن نسبی تیترا TNF- α در سرم بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی فعال و برخی از بیماری‌های دیگر نظیر جذام نشان داده شده است (۱۳، ۱۴). این سایتوکاین دارای دو گیرنده است و تحقیقات بر روی مدل‌های تراریخته‌ی حیوانی با نقص در گیرنده‌های TNF- α حاکی از اهمیت بیشتر گیرنده شماره ۱ نسبت به شماره ۲ در شرایط عفونت است (۱۵، ۱۶) و ارتباطی بین افزایش سطح سرمی TNFR1 (Soluble tumor necrosis factor receptor-1) با حفاظت در برابر ارگاناسم‌های داخل سلولی پلاسمودیوم برجه‌ای و حساسیت به لیستریا مونوسایتوژنز و لیشمانیا مازور وجود دارد (۱۷). هر چند نقش TNF- α و گیرنده‌ی آن در پاسخ ایمنی در برابر سالک تا حدودی بررسی شده است اما نتایج گزارش شده محدود و دارای تناقض‌هایی بوده است (۱۸). این مطالعه با هدف مقایسه‌ی سطح سرمی TNF- α و TNFR1 در بیماران مبتلا به سالک فعال (Active Cutaneous Leishmaniasis) ACL و افراد بهبودیافته از سالک (Healed Cutaneous Leishmaniasis) HCL انجام شده است تا با بررسی تغییرات این سایتوکاین در شرایط پیش و پس از بهبود از سالک، به رفع ابهامات موجود در مورد نقش TNF- α و گیرنده آن کمک کند.

روش بررسی

طراحی مطالعه، ملاحظات اخلاقی و داوطلبان

در این مطالعه مقطعی از مهرماه ۱۳۸۹ تا بهمن ماه سال ۱۳۸۹، از بیماران مهمترین مناطق اندمیک سالک استان قم یعنی دو بخش قمروود و قنات نمونه گیری صورت گرفت. طرح بوسیله کمیته اخلاق مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست و جدام، دانشگاه علوم پزشکی تهران و دانشگاه علوم پزشکی قم بررسی و تصویب شد. مجموعاً ۳ گروه از داوطلبان مورد مطالعه قرار گرفتند: ۱- بیماران مبتلا به سالک فعال که در شرایط پیش از درمان استاندارد با گلوکانتیم بودند، شامل ۱۰ بیمار دارای زخم(های) جلدی که ابتلای آنها به سالک به روش های انگل شناسی (آزمایش میکروسکوپی ترشحات زخم به روش رنگ آمیزی گیمسا و کشت انگل در محیط اختصاصی NNN) مورد تایید قرار گرفت. ۲- افراد بهبودیافته از سالک که در شرایط پس از درمان استاندارد با گلوکانتیم و بهبود بالینی زخم بودند، شامل ۱۰ فرد از گروه اول که زخم(های) جلدی آنها قبلاً تأیید شده و بهبودیافته بودند.

۳- گروه شاهد شامل ۱۳ فرد سالم و بدون سابقه بیماری که از منطقه غیر اندمیک انتخاب شدند (جدول ۱).

منفی بودن آزمایش های تایید سالک، سابقه ای واکسن لیشمائیوز، مصرف داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی و کورتون، شرایط بارداری یا شیردهی، شرکت در برنامه های ارزیابی دارو واکسن و یا وجود بیماری دیگری علاوه بر سالک از جمله بیماری های عفونی یا نقص سیستم ایمنی، از شرایط عدم ورود داوطلبان به تحقیق بود. پس از آگاه کردن داوطلبان دارای معیارهای ورود از جنبه های مختلف طرح، از افراد مایل به شرکت در طرح رضایتنامه آگاهانه دریافت و اطلاعات ایشان در پرسشنامه ای که در قالب فرم گزارش مورد (CRF) و براساس اصول کارآزمایی مطلوب (Good clinical practice (GCP)) تهیه شده بود، ثبت گردید.

خون گیری و جداسازی پلاسما

از هر داوطلب در شرایط استریل خون وریدی هپارینه گرفته شد. نمونه های خون جمع آوری شده در لوله های فالتکن، ابتدا بوسیله پیت استریل به نسبت ۱:۱، با بافر فسفات PBS (pH: 7.2) مخلوط گردید. سپس پلاسمای خون بوسیله سانتریفیوژ با دور 600 g به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جدا شد. فاز رویی که شامل پلاسما است با یک پیت استریل داخل لوله فالتکون جدید ریخته شد و تا زمان انجام بررسی و اندازه گیری غلظت $TNF-\alpha$ و $sTNFR1$ در دمای $-70^{\circ}C$ نگهداری شد.

جدول ۱ - اطلاعات دموگرافیک گروه های داوطلبان مورد مطالعه

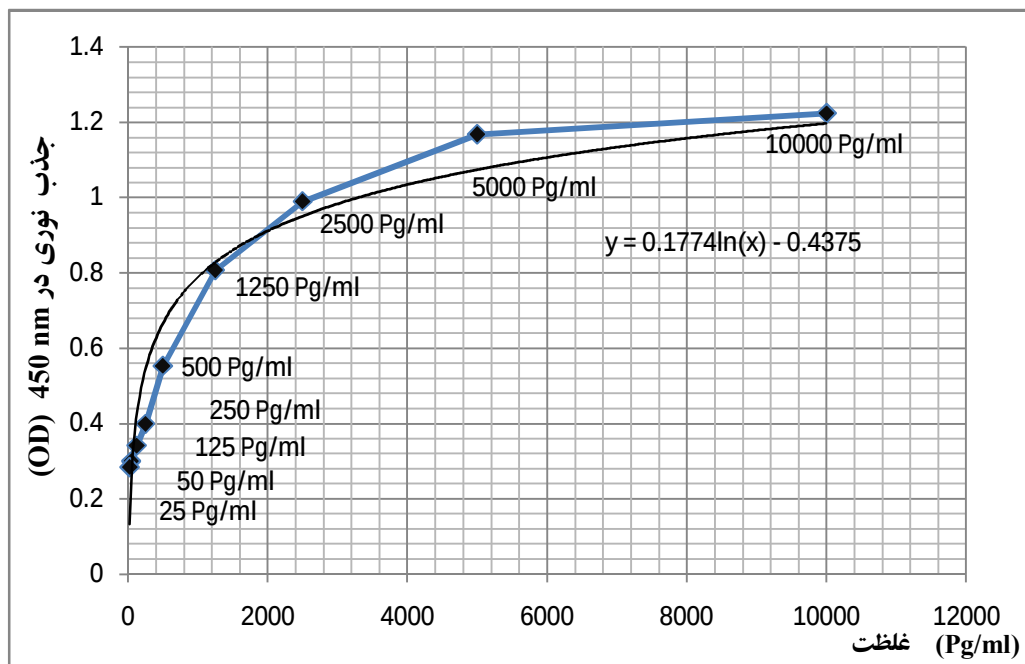
ویژگی	گروه بیماران مبتلا به سالک تعداد(درصد)	گروه بهبود یافته از سالک تعداد(درصد)	گروه شاهد سالم تعداد(درصد)	جمع تعداد(درصد)
تعداد داوطلبان	۱۰ (۳۰/۳)	۱۰ (۳۰/۳)	۱۳ (۳۹/۴)	۳۳ (۱۰۰)
جنس				
زن	۳ (۲۷/۳)	۳ (۲۷/۳)	۵ (۴۵/۴)	۱۱ (۱۰۰)
مرد	۷ (۳۱/۸)	۷ (۳۱/۸)	۸ (۳۶/۴)	۲۲ (۱۰۰)
سن: میانگین $\pm$ انحراف معیار (سال)	۳۵/۸ $\pm$ ۱۲	۳۵/۸ $\pm$ ۱۲	۳۵/۵ $\pm$ ۱۱	۳۵/۷ $\pm$ ۱۱
سر و گردن	۳ (۱۲/۵)	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق
تنه	۱ (۴/۱)	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق
محل ضایعات				
دست	۱۳ (۵۴/۲)	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق
پا	۷ (۲۹/۲)	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق
جمع	۲۴ (۱۰۰)	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق
تعداد ضایعات: میانه (دامنه)	۲/۵ (۱-۶)	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق
اندازه ضایعات:	۱۳/۰۴ $\pm$ ۸	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق	غیر قابل اطلاق
میانگین $\pm$ انحراف معیار (میلی متر)				

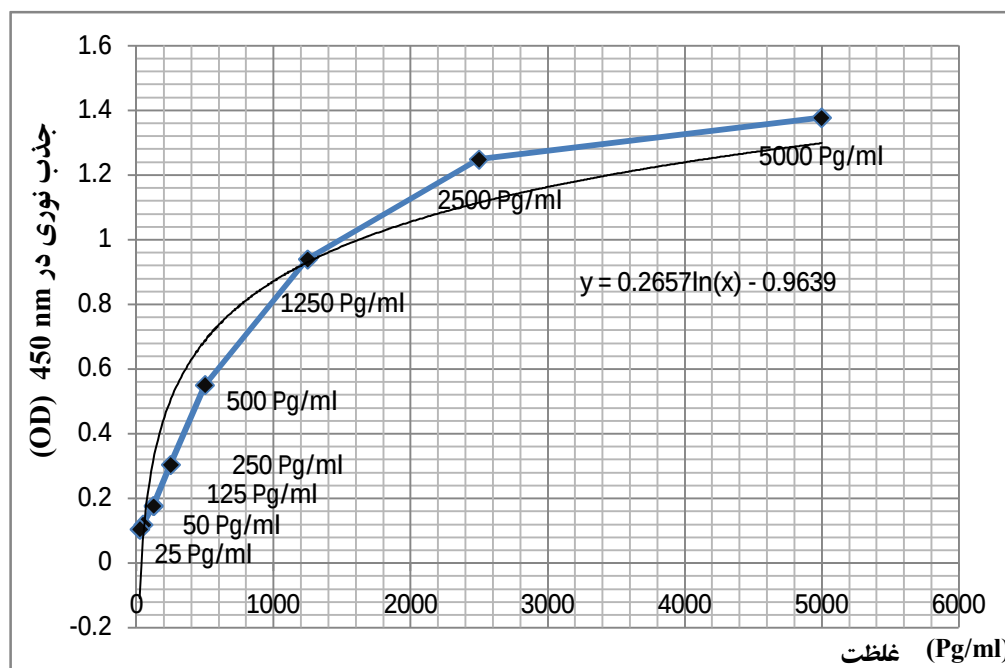
اندازه‌گیری $TNF-\alpha$ و sTNFR1 به روش الایزا

در این مطالعه اندازه‌گیری غلظت $TNF-\alpha$ و sTNFR1 به روش ساندویچ الایزا و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت (R&D Systems; USA) انجام شد. محدوده تشخیص و حساسیت کیت ۵/۵ پیکوگرم در میلی‌لیتر برای $TNF-\alpha$ و ۱/۲ پیکوگرم در میلی‌لیتر برای sTNFR1 بود. به طور خلاصه ابتدا ۵۰ میکرولیتر آنتی‌بادی پوشاننده ضد $TNF-\alpha$ و sTNFR1 انسان که به وسیله بافر فسفات‌های PBS (pH: 7.2) رقیق شده بود، بصورت جداگانه به هر چاهک در پلیت ۹۶ خانه‌ای مخصوص الایزا (Greiner; Germany) اضافه شده و پلیت به مدت یک شب در دمای اتاق قرار گرفت. سپس به هر چاهک ۱۵۰ میکرولیتر از محلول مسدود کننده (Blocking) (1% BSA in PBS, pH 7.4) افزوده و پلیت ۱ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. در مرحله بعد نمونه پلاسمای خون یا استاندارد ($TNF-\alpha$ و sTNFR1 انسانی نو ترکیب) به چاهک‌ها اضافه شده و پلیت و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. سپس ۵۰ میکرولیتر آنتی‌بادی کونژوگ به بیوتین در محلول رقیق‌کننده (همان ترکیب محلول مسدود کننده) که ضد $TNF-\alpha$ و sTNFR1 انسان است، افزوده شده و پلیت به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد.

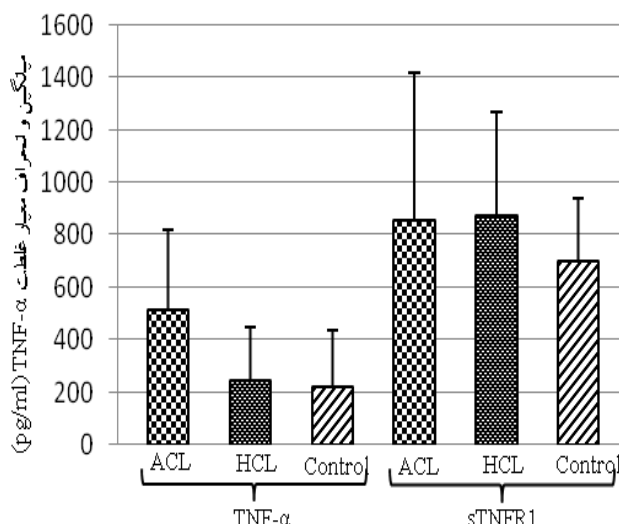
سپس ۵۰ میکرولیتر HRP متصل به استرپتاویدین (Streptavidin-Horseradish Peroxidase) رقیق‌شده به نسبت ۱:۱۰۰ با محلول رقیق‌کننده، اضافه شد و پلیت به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. در مرحله‌ی بعد ۵۰ میکرولیتر TMB (3,3',5,5'-tetra-methylbenzidine) به عنوان سوبسترا افزوده شده و پلیت به مدت ۱ ساعت در شرایط تاریکی و در دمای اتاق قرار داده شد. پس از متوقف کردن واکنش آنزیمی با ۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۲ نرمال، جذب نوری (Optical Density) رنگ حاصله با دستگاه الایزا خوان (Bio-TEK; USA) در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد.

منحنی استاندارد $TNF-\alpha$ و sTNFR1 بر اساس رقت‌های سریال استاندارد هر یک و OD آنها رسم شد (شکل ۱ و ۲) و در نهایت، غلظت آنتی ژن‌های مورد اندازه‌گیری ($TNF-\alpha$ و sTNFR1 انسانی) بر اساس مقایسه مقادیر OD نمونه‌های پلاسما با منحنی استاندارد بدست آمد.

شکل ۱ - منحنی استاندارد $TNF-\alpha$ انسانی



شکل ۲ - منحنی استاندارد *sTNFR1* انسانی



نمودار ۱ - غلظت *TNF-α* و *sTNFR1* در پلاسمای داوطلبان
 ACL: گروه بیماران مبتلا به سالک فعال، HCL: گروه بهبودیافته از سالک، Control: گروه شاهد سالم

براساس آنالیز آماری میزان ترشح $TNF-\alpha$ در گروه دارای زخم فعال افزایش معنی داری در مقایسه با گروه شاهد سالم نشان می دهد ($P=0.01$). در مقایسه بین گروه دارای زخم فعال و گروه بهبودیافته، غلظت $TNF-\alpha$ ترشحاتی در گروه دارای زخم فعال افزایش معنی داری در مقایسه با گروه بهبودیافته نشان می دهد ($P=0.002$). این درحالی است که سطح $TNF-\alpha$ بین گروه بهبودیافته با گروه شاهد سالم اختلاف معنی داری را نشان نداده است. از نظر میزان گیرنده ترشحاتی $sTNFR1$ اختلاف

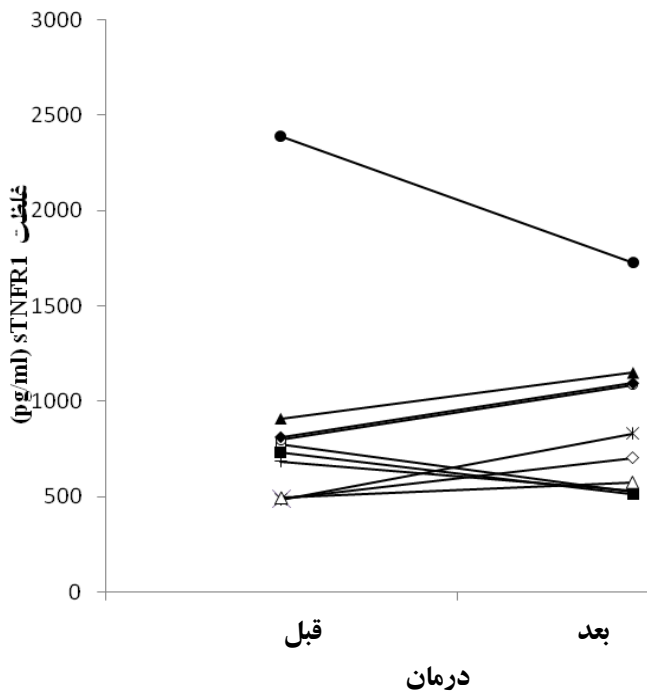
آنالیز آماری

داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS Version 14.0، تجزیه و تحلیل شد. اختلاف میانگین در نمونه ها به وسیله ی Mann-Whitney U-test مورد آزمون قرار گرفت. اگر مقدار P کمتر از 0.05 بود اختلاف معنی دار در نظر گرفته می شد.

یافته ها

اطلاعات داوطلبان در جدول ۱ مشاهده می شود. از مجموع ۳۳ نمونه خون گرفته شده ۶۶/۶۷٪ مربوط به مرد و ۳۳/۳۳٪ آن مربوط به زن بود. بالاترین تعداد ضایعه سالک که در بیماران مشاهده شد ۶ ضایعه بود و بیشترین ناحیه ی درگیر بیماران با ضایعه های سالک، دست ها (۵۴/۲٪) بودند. متوسط اندازه ی ضایعه جلدی ۱۳/۰۴ میلی متر بدست آمد. میانگین و انحراف معیار غلظت $TNF-\alpha$ در پلاسمای سه گروه از داوطلبان مورد مطالعه بدین شرح است: گروه دارای زخم فعال سالک $513/25 \pm 308$ pg/ml، گروه بهبود یافته ها از سالک $223/55 \pm 212$ pg/ml و گروه شاهد سالم $243/5 \pm 207$ pg/ml. همچنین میانگین و انحراف معیار غلظت $sTNFR1$ در مبتلایان به زخم فعال سالک $857/25 \pm 559$ pg/ml، در افراد بهبود یافته از این بیماری 874 ± 393 pg/ml و در گروه افراد شاهد سالم 700 ± 240 pg/ml است (نمودار ۱).

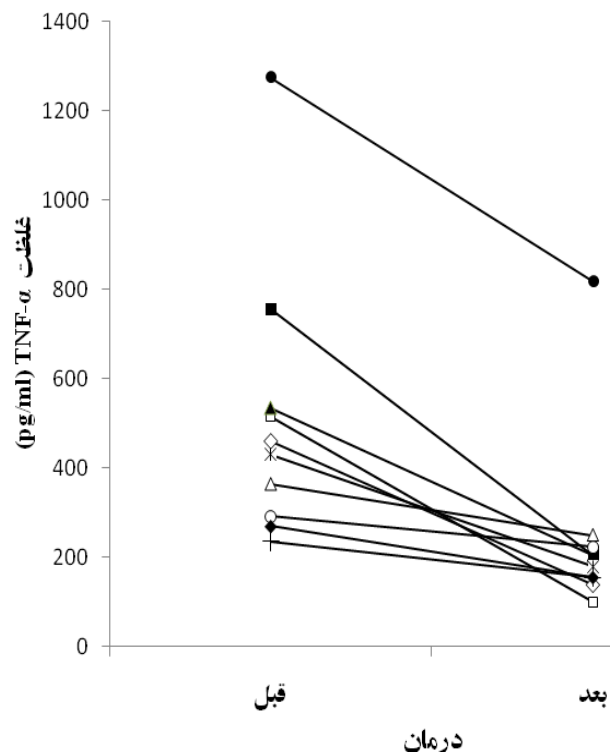
معنی داری بین گروه‌ها وجود نداشت. در عین حال مقایسه سطح $TNF-\alpha$ و $sTNFR1$ نشان می‌دهد که میزان گیرنده ترشحی در هر گروه بطور معنی داری بیش از میزان $TNF-\alpha$ در همان گروه است (گروه دارای زخم فعال $P=0.023$ ، گروه بهبودیافته $P=0.000$ و گروه شاهد سالم $P=0.000$). مقایسه‌ی سطح $TNF-\alpha$ و $sTNFR1$ بین گروه دارای سالک با گروه بهبودیافته در افرادی انجام شده است که طی دو دوره‌ی پیش و پس از درمان از آنها خون‌گیری به عمل آمد و نمودارهای ۲ و ۳ سیر تغییرات مقادیر ترشحی این سایتوکاین و گیرنده آن را برای هر فرد در روند بهبود بیماری نشان می‌دهد. بیشترین میزان $TNF-\alpha$ در نمودار ۲ مربوط به همان فردی است که بیشترین میزان $sTNFR1$ در نمودار ۳ را نیز نشان می‌دهد.



نمودار ۳ - تغییرات سطح $sTNFR1$ داوطلبان پیش و پس از درمان در سالک

بحث و نتیجه‌گیری

$TNF-\alpha$ سایتوکاین پیش التهابی قدرتمندی در پاسخ ایمنی است و طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیک را بر عهده دارد. تولید بیش از حد یا نامناسب $TNF-\alpha$ ممکن است در بیماری‌های التهابی مزمن نقش داشته است (۱۹). این سایتوکاین در رابطه با عفونت ناشی از عامل بیماری‌زای درون سلولی لیشرمانیا ماژور اهمیت دارد (۱۲). نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد که میزان ترشح $TNF-\alpha$ در سیر بیماری سالک، از مرحله‌ی فعال تا بهبودی، قابل ردیابی است. در این مطالعه از داوطلبان دو نمونه خون‌گیری شده است و اندازه سایتوکاین $TNF-\alpha$ پس از بهبود سالک در همان بیمارانی اندازه‌گیری شده که بعنوان گروه دارای زخم فعال نیز این سایتوکاین در آنها مورد بررسی قرار گرفته بود. بنابراین سیر تغییرات سایتوکاین در هر بیمار پیش و پس از بهبود زخم پایش شده است. این نکته که مقایسه‌ی میزان سایتوکاین $TNF-\alpha$ گروه دارای سالک با گروه بهبود یافته در افراد یکسانی صورت گرفته است، حائز اهمیت است چون روند تغییرات پاسخ ایمنی فرد طی دوره این بیماری (از سالک فعال تا بهبود زخم) ارزیابی شده است. معمولاً در مطالعات مشابه،



نمودار ۲: تغییرات سطح $TNF-\alpha$ داوطلبان پیش و پس از درمان در سالک

بررسی‌های ایمنی‌شناسی در گروه‌های جداگانه از داوطلبان صورت می‌پذیرد و با توجه به پراکندگی وسیع نتایج اندازه سایتوکاین‌ها در نمونه‌های انسانی، نتایج حاصل از این گونه مطالعات براحتی امکان مقایسه ندارند و سیر تغییرات را بدقت نشان نمی‌دهند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که غلظت $TNF-\alpha$ پیش از درمان بیماران دارای زخم فعال نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بوده ($P=0.01$) و پس از درمان بیماران بوسیله‌ی دوره درمان استاندارد با مگلو مین آنتیمونات (گلوکانتیم) و بهبود بالینی، در تمام بیماران کاهش معنی‌داری داشته است ($P=0.002$) هرچند که میزان این کاهش سایتوکاین در بین بیماران، مختلف بوده است. بنابراین بهبود بالینی زخم با میزان $TNF-\alpha$ ارتباط معکوس داشته است. مشابه با این نتایج، تحقیقی بر روی مبتلایان به کالآزار در برزیل نشان داده است که سطح سایتوکاین $TNF-\alpha$ پس از درمان با مگلو مین آنتیمونات و بهبود بالینی، کاهش می‌یابد (۲۰). همچنین تحریک سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی با آنتی‌ژن لیشمانیا در لیشمانیوز جلدی و مخاطی انسان نشان داده است که مقدار $TNF-\alpha$ بعد از درمان کاهش می‌یابد (۲۱). مشخص گردیده است که بین آسیب بافتی در بیماران مبتلا به لیشمانیوز ناشی از لیشمانیا برازیلیسیس و ترشح مقادیر بالای $TNF-\alpha$ ارتباط وجود دارد (۲۲). همچنین تحقیق بر روی عفونت ناشی از لیشمانیا دنووانی در مدل حیوانی حاکی از آن است که $TNF-\alpha$ با تخریب بافتی و تغییرات ساختاری عملکردی طحال مرتبط است (۲۳). با استفاده از $TNF-\alpha$ نو ترکیب به عنوان تیمار، اثر این سایتوکاین در عفونت ناشی از توکسوپلازما گوندی و تریپانوزوما کروزوی در مدل حیوانی بررسی و اظهار شد که $TNF-\alpha$ باعث افزایش میزان مرگ و میر می‌گردد (۲۴). استفاده از آنتی‌بادی منوکلونال ضد $TNF-\alpha$ در مدل حیوانی عفونت تریپانوزوما کروزوی باعث بلوکه شدن و مهار $TNF-\alpha$ شده که با بهبودی ایمنی حفاظتی و کاهش کاشکسی همراه بود (۲۵). تحقیقات در مورد نقش $TNF-\alpha$ همیشه یکسان و موافق با یکدیگر نبوده است گزارشهایی نیز مبنی بر ارتباط این سایتوکاین با حفاظت و بهبودی سالک وجود دارد (۱۲، ۲۶). نقش $TNF-\alpha$ به همراه $IFN-\gamma$ و $IL-12$ در توسعه‌ی پاسخ ایمنی سلولی محافظت‌کننده لنفوسیت‌های $CD4+ T$ ($Th1$) و کنترل عفونت لیشمانیا در موش نشان داده شده است (۲۷، ۲۸). همچنین مطالعه بر روی

عفونت تجربی ناشی از انگل لیشمانیا دنووانی و لیشمانیا ماژور در مدل موشی مقاوم C57BL/6، مشخص کرده است که موشهای با نقص در ژن $TNF-\alpha$ توانایی تولید این سایتوکاین را از دست داده و به عفونت با لیشمانیا ماژور حساس بوده و نتیجه‌ی حاصله مرگ حیوان است (۲۹، ۳۰). $TNF-\alpha$ در اوایل عفونت لیشمانیا، سایتوکاینی تعیین‌کننده در پاسخ ایمنی است به طوری که در کنترل اولیه انگل‌های درون سلولی لیشمانیا مورد نیاز بوده و باعث تشکیل گرانولوما و فراخوانی سلول‌های ایمنی در پاسخ اولیه در برابر عفونت می‌شود (۲۹). شواهد و دلایل حاکی از آن است که $TNF-\alpha$ در شکل‌گیری پاسخ التهابی اولیه در برابر لیشمانیا نقش دارد ولی این نقش کافی نیست (۲۸) به نظر می‌رسد که $TNF-\alpha$ با دیگر اجزای شبکه‌ی سایتوکاینی برای ایجاد واکنش التهابی موثر در اوایل پاسخ ایمنی تعامل دارد. از طرفی ممکن است حضور تداوم یافته‌ی $TNF-\alpha$ نیز در بروز آسیب‌های پاتولوژیک ناشی از لیشمانیوز انسانی دخیل است و این سایتوکاین مانند شمشیری دو لبه، هم به نفع بدن و هم به زیان عمل کند. مطالعه بر روی ۹۶ بیمار مبتلا به سالک ناشی از لیشمانیا برازیلیسیس نشان داده است که اندازه‌ی زخم‌های سالک ارتباط مستقیمی با سطح $TNF-\alpha$ حاصل از تحریک آنتی ژن لیشمانیا دارد و هر چه زخم بزرگتر است در مقابل سطح این سایتوکاین بالاتر است (۳۱). در مورد گیرنده محلول $TNF-\alpha$ ($sTNFR1$) نتایج مطالعه‌ی ما نشان می‌دهد که سطح این گیرنده در گروهی از بیماران (۶۰٪ از بیماران) پس از درمان در مقایسه با زخم فعال افزایش یافته بود و در گروه دیگری (۴۰٪ درصد از بیماران) پس از درمان در مقایسه با زخم فعال کاهش نشان داده بود. این روند نشان می‌دهد که تغییرات یکسانی از $sTNFR1$ در سیر بهبود زخم سالک اتفاق نمی‌افتد. در عین حال، همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود در خصوص تمامی گروه‌های داوطلبان، مقدار متوسط $sTNFR1$ در هر گروه بطور معنی‌داری بیشتر از مقدار متوسط $TNF-\alpha$ در همان گروه است. مشابه با یافته‌ی ما، بررسی مقادیر $TNF-\alpha$ و گیرنده‌ی آن در پلاسمای افراد مبتلا به بیماری انگلی مالاریا ناشی از پلاسمودیم فالسیپاروم مشخص نموده است که $TNF-\alpha$ در بیماری‌زایی ناشی از این بیماری نقش دارد هرچند که گیرنده‌ی آن عامل تعیین‌کننده‌ی نبوده است (۳۲). اندازه‌گیری $sTNFR1$ می‌تواند در تعیین شدت آسیب‌های عروقی ناشی از سندرم جلدی-مخاطی گره‌های لنفاوی مفید

بیماران ارتباط داشته است. تغییرات sTNFR1 با سیر بهبود زخم سالک روند یکنواختی را نشان نمی‌دهد در عین حال به نظر می‌رسد برهمکنش TNF/sTNFR سازوکاری برای مهار اثرات پاتولوژیک TNF- α و تنظیم فعالیت‌های التهابی این سایتوکاین در بیماران مبتلا به لیشمانیوز بوده است. پیشنهاد می‌شود برای بررسی بیشتر نقش TNF- α ، سنجش این سایتوکاین‌ها در کشت سلولی لنفوسیت‌های خون محیطی در برابر تحریک با آنتی ژن انگل لیشمانیا انجام شود.

تشکر و قدردانی

این طرح مصوب مرکز آموزش و پژوهش بیماریهی پوست و جدام، دانشگاه علوم پزشکی تهران و مرکز بیولوژی سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قم است و هزینه طرح توسط این دو مرکز پرداخت شده است.

References

- 1- Piscopo TV, Mallia AC. Leishmaniasis. Postgrad Med J 2006;82(972):649-57
2. Postigo JAR. Leishmaniasis in the World Health Organization Eastern Mediterranean Region. Int J Antimicrob Agents 2010;36:S62-S5.
3. Control of the leishmaniasis. World Health Organ Tech Rep Ser 2010(949):xii-xiii,1-186.
4. Santos DO, Coutinho CER, Madeira MF, Bottino CG, Vieira RT, Nascimento SB, et al. Leishmaniasis treatment—a challenge that remains: a review. Parasitol Res 2008;103(1):1-10.
5. Locksley RM, Heinzel FP, Holaday BJ, Mutha SS, Reiner SL, Sadick MD. Induction of Th1 and Th2 CD4+ subsets during murine Leishmania major infection. Res Immunol 1991;142(1):28-32.
6. Bogdan C, Gessner A, Rölinghoff M. Cytokines in leishmaniasis: a complex network of stimulatory and inhibitory interactions. Immunobiology 1993;189(3-4):356-96.
7. Cummings HE, Tuladhar R, Satoskar AR. Cytokines and Their STATs in Cutaneous and Visceral Leishmaniasis. infection 2010;26:29.
8. Nylen S, Gautam S. Immunological perspectives of leishmaniasis. J Glob Infect Dis 2010;2(2):135-46.
9. Melby P, Andrade-Narvaez F, Darnell B, Valencia-Pacheco G, Tryon V, Palomo-Cetina A. Increased expression of proinflammatory cytokines in chronic lesions of human cutaneous leishmaniasis. Infect Immun 1994;62(3):837.
10. Pfeffer K. Biological functions of tumor necrosis factor cytokines and their receptors. Cytokine Growth Factor Rev 2003;14(3-4):185-91.
11. Muñoz Fernández M, Fernández MA, Fresno M. Synergism

واقع شود (۳۳). اینکه میزان متوسط sTNFR1 بیش از TNF- α در همان گروه بود از این جنبه اهمیت دارد که ترشح sTNFR1 اتصال آن به TNF- α از افزایش بیش از حد اثرات TNF- α جلوگیری به عمل می‌آورد و ممکن است از بوجود آمدن اثرات پاتولوژیک در لیشمانیوز جلدی نیز حفاظت ایجاد کند که این مطلب با کاهش مقادیر TNF- α پس از بهبود و بالابودن میزان sTNFR1 قابل مشاهده است. نشان داده شده است که در واقع sTNFR1 به شکل رقابتی TNF- α محلول را از محیط جداسازی کرده و از دسترس گیرنده‌های متصل به غشاء خارج می‌کند، این مکانیزم باعث تنظیم فعالیت سایتوکاین التهابی TNF- α می‌شود (۳۴).

بنابر یافته‌های فوق، تعیین سطح TNF- α که میانجی‌کننده قدرتمند و تاثیرگذار در پاسخ ایمنی است، ممکن است فاکتوری با اهمیت در تعیین وضعیت زخم سالک باشد. به نظر می‌رسد کاهش TNF- α با بهبود زخم ناشی از لیشمانیا در

between tumor necrosis factor α and interferon γ on macrophage activation for the killing of intracellular Trypanosoma cruzi through a nitric oxide dependent mechanism. Eur J Immunol 1992;22(2):301-7.

12. Liew F, Parkinson C, Millott S, Severn A, Carrier M. Tumour necrosis factor (TNF alpha) in leishmaniasis. I. TNF alpha mediates host protection against cutaneous leishmaniasis. Immunology 1990;69(4):570.

13. Barral-Netto M, Badaro R, Barral A, Almeida R, Santos S, Badaro F, et al. Tumor necrosis factor (cachectin) in human visceral leishmaniasis. J Infect Dis 1991;163(4):853-57.

14. Sarno E, Grau G, Vieira L, Nery J. Serum levels of tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta during leprosy reactional states. Clin Exp Immunol 1991;84(1):103-08.

15. Steinshamn S, Bemelmans M, Van Tits L, Bergh K, Buurman WA, Waage A. TNF receptors in murine Candida albicans infection: evidence for an important role of TNF receptor p55 in antifungal defense. J Immunol 1996;157(5):2155.

16. Pfeffer K, Matsuyama T, Kundig TM, Wakeham A. Mice deficient for the 55 kd tumor necrosis factor receptor are resistant to endotoxic shock, yet succumb to L. monocytogenes infection. Cell 1993;73(3):457-67.

17. Garcia I, Miyazaki Y, Araki K, Araki M, Lucas R, Grau GE, et al. Transgenic mice expressing high levels of soluble TNF - R1 fusion protein are protected from lethal septic shock and cerebral malaria, and are highly sensitive to Listeria monocytogenes and Leishmania major infections. Eur J Immunol 1995;25(8):2401-7.

18. Körner H, McMorran B, Schlüter D, Fromm P. The role of TNF in parasitic diseases: still more questions than answers. Int J Parasitol 2010;40(8):879-88.

19. Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and

receptor families. *N Engl J Med* 1996 27;334(26):1717-25.

20. Medeiros IM, Reed S, Castelo A, Salomao R. Circulating levels of sTNFR and discrepancy between cytotoxicity and immunoreactivity of TNF-alpha in patients with visceral leishmaniasis. *Clin Microbiol Infect* 2000;6(1):34-7.

21. Ribeiro-de-Jesus A, Almeida R, Lessa H, Bacellar O, Carvalho E. Cytokine profile and pathology in human leishmaniasis. *Braz J Med Biol Res* 1998;31(1):143-8.

22. Gaze S, Dutra W, Lessa M, Lessa H, Guimaraes L, De Jesus A, et al. Mucosal Leishmaniasis Patients Display an Activated Inflammatory T - cell Phenotype Associated with a Nonbalanced Monocyte Population. *Scand J Immunol* 2006;63(1):70-8.

23. Engwerda CR, Ato M, Cotterell SEJ, Mynott TL, Tschannerl A, Gorak-Stolinska P, et al. A role for tumor necrosis factor- α in remodeling the splenic marginal zone during *Leishmania donovani* infection. *Am J Pathol* 2002;161(2):429.

24. Black C, Israelski D, Suzuki Y, Remington J. Effect of recombinant tumour necrosis factor on acute infection in mice with *Toxoplasma gondii* or *Trypanosoma cruzi*. *Immunology* 1989;68(4):570.

25. Truysens C, Torrico F, Angelo-Barrios A, Lucas R, Heremans H, De Baetselier P, et al. The cachexia associated with *Trypanosoma cruzi* acute infection in mice is attenuated by anti-TNF-alpha, but not by anti-IL-6 or anti-IFN-gamma antibodies. *Parasite Immunol* 1995;17(11):561.

26. Kemp K, Theander T, Hviid L, Garfar A, Kharazmi A, Kemp M. Interferon-gamma-and tumour necrosis factor-alpha-producing cells in humans who are immune to cutaneous leishmaniasis. *Scand J Immunol* 1999;49:655-9.

27. Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B,

Brooker S. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis* 2007;7(9):581-96.

28. Ritter U, Lechner A, Scharl K, Kiafard Z, Zwirner J, Körner H. TNF controls the infiltration of dendritic cells into the site of *Leishmania major* infection. *Med Microbiol Immunol* 2008;197(1):29-37.

29. Murray HW, Jungbluth A, Ritter E, Montelibano C, Marino MW. Visceral leishmaniasis in mice devoid of tumor necrosis factor and response to treatment. *Infect Immun* 2000;68(11):6289.

30. Wilhelm P, Ritter U, Labbow S, Donhauser N, Rölinghoff M, Bogdan C, et al. Rapidly fatal leishmaniasis in resistant C57BL/6 mice lacking TNF. *J Immunol* 2001;166(6):4012.

31. Oliveira F, Bafica A, Rosato AB, Favali CB, Costa JM, Cafe V, et al. Lesion size correlates with *Leishmania* antigen-stimulated TNF-levels in human cutaneous leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 2011;85(1):70-3.

32. McGuire W, D'Alessandro U, Stephens S, Olaleye B, Langerock P, Greenwood B, et al. Levels of tumour necrosis factor and soluble TNF receptors during malaria fever episodes in the community. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998;92(1):50-3.

33. Furukawa S, Matsubara T, Umezawa Y, Okumura K, Yabuta K. Serum levels of p60 soluble tumor necrosis factor receptor during acute kawasaki disease. *J Pediatr* 1994;124(5):721-5.

34. McDermott MF, Aksentjevich I, Galon J, McDermott EM, Ogunkolade BW, Centola M, et al. Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell* 1999;97(1):133-44.

مقاله پژوهشی

بررسی انواع روشهای درمان جراحی سرطان پستان در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی ساری

نسرین رحمانی^۱، سیدعباس هاشمی*^۲، محمد رئیسبان^۲
۱. استادیار گروه جراحی عمومی-دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۲. دانشجوی پزشکی-کمیته تحقیقات دانشجویی-دانشگاه علوم پزشکی مازندران

* نویسنده مسؤول: سیدعباس هاشمی، پست الکترونیکی abbas.hashemi30@gmail.com
نشانی: ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران کمیته تحقیقات دانشجویی

چکیده

زمینه و هدف: بیماریهای پستان از جمله شایعترین علل مراجعه زنان به پزشک است. براساس آمار ارائه شده سرطان پستان شایعترین بدخیمی زنان در ایران به شمار می آید. بر همین اساس این مطالعه به بررسی انواع روشهای درمان جراحی و شیوع انواع پاتولوژیک سرطان پستان در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی ساری میپردازد.

روش بررسی: این تحقیق مطالعه ای است توصیفی- تحلیلی که با هدف بررسی انواع روشهای درمان جراحی و ویژگیهای پاتولوژیک سرطان پستان در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی ساری انجام گرفته است. نمونه ها از بین زنان مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی از مهرماه سال ۱۳۸۵ تا آبان ۱۳۹۰ انتخاب شدند.

یافته ها: در گزارش پاتولوژی ۶۶ بیمار بررسی شده ۷ بیمار دارای کارسینوم مهاجم داکتال و ۵۹ بیمار مبتلا به کارسینوم مهاجم لوبولار بودند. شایعترین نوع درمان جراحی صورت گرفته **Modified Radical Mastectomy** بود که در ۴۷ بیمار انجام شد. بعد از آن **Partial Mastectomy** و **Total Mastectomy** به ترتیب در ۱۱ و ۸ بیمار انجام گرفت.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد که بیشتر این بیماران (۷۱/۲۱ درصد) تحت عمل جراحی **Modified Radical Mastectomy** قرار گرفتند که به نظر میرسد بهترین روش درمان بیماران مبتلا، درمان با روش **Modified Radical Mastectomy** است. انجام مطالعات بیشتر بر روی تعداد بیشتری از بیماران به صورت مطالعات آینده نگر توصیه می گردد.

کلید واژه ها: سرطان، پستان، درمان جراحی

مقدمه

Modified Radical Mastectomy بود که در ۴۷ بیمار انجام شد. بعد از آن Partial Mastectomy و Total Mastectomy به ترتیب در ۱۱ و ۸ بیمار انجام گرفت. (جدول ۱)

جدول ۱: انواع روشهای درمان جراحی صورت گرفته در این مطالعه

نوع روش جراحی	تعداد	درصد
Total Mastectomy	۸	۱۲/۱۲
Modified Radical Mastectomy	۴۷	۷۱/۲۱
Partial Mastectomy	۱۱	۱۶/۶۶

بحث و نتیجه گیری

براساس گزارشات وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی سرطان سومین علت مرگ در ایران است (۹ و ۱۰). در عین حال سرطان پستان فراوانترین بدخیمی زنان در ایران گزارش شده است (۷). در حال حاضر روشهای درمانی متفاوتی برای سرطان پستان ارائه شده است که یکی از آنها جراحی و خارج کردن این تومورها است. بر همین اساس در این مطالعه به بررسی انواع روشهای درمان جراحی در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی ساری پرداختیم.

در مطالعه‌ای که توسط دکتر مهری سیروس وهمکاران انجام شد به بررسی زنان بالای ۲۰ سال مراجعه کننده به مرکز ماموگرافی بیمارستان سیدالشهداء اصفهان بین سالهای ۱۳۸۲ تا ۱۳۸۶ پرداختند. براساس نتایج حاصل از این تحقیق توده‌های پستان در میان زنان ایرانی ۴۰ تا ۴۹ سال متداول بوده و شایعترین نوع بدخیمی در آنها کارسینوم مهاجم داکتال بوده است (۱۱). اما در مطالعه حاضر کارسینوم مهاجم داکتال در ۱۱/۶ درصد بیماران گزارش گردید.

در تحقیقی Elshekh وهمکارانش که در بیمارستان الکساندر، شهر آتن یونان انجام دادند فراوانی توده‌های خوش خیم ۷۴/۱ درصد و توده‌های بدخیم ۲۵/۹ درصد گزارش شد. در بین توده‌های تشخیص داده شده بیشترین فراوانی مربوط به فیروادنوم بوده است که ۶۰ درصد توده‌ها را شامل میشد (۱۲). در تحقیقی که توسط بارتون انجام شد مشخص شد ۱۶ درصد از زنان ۴۰ تا ۶۹ سال مراجعه کننده به درمانگاه با شکایات

بیماریهای پستان از جمله شایعترین علل مراجعه زنان به پزشک است. بطور معمول توده‌های پستان در معاینه توسط خود بیمار یا بوسیله پزشک معاینه کننده یافت می‌شوند. توده‌های پستان در دو دسته خوش خیم و بدخیم قرار میگیرند. توده‌های پستان از این جهت مهم هستند که ریسک سرطان پستان در این توده‌ها با بالا رفتن سن افزایش می‌یابد. سالیانه در حدود ۱۷۸۴۸۰ زن آمریکایی مبتلا به سرطان پستان می‌شوند که از این تعداد، ۴۰۴۶۰ نفر در اثر این بیماری فوت میکنند (۱). سرطان پستان شایعترین تومور بدخیم زنان در آمریکا و دومین علت مرگ ناشی از بدخیمی‌ها در زنان و شایعترین دلیل مرگ زنان ۴۵ تا ۵۵ سال است (۳ و ۲). فراوانی نسبی سرطان پستان در اکثر کشورهای منطقه خاورمیانه شرقی بین ۱۵ درصد تا ۲۵ درصد کل بدخیمی‌ها بوده و در این میان کمترین بروز را در ایران و پاکستان دارا است (۴ و ۵ و ۶). براساس گزارشات سرطان پستان شایعترین سرطان زنان در ایران به حساب می‌آید (۷). در عین حال زنان ایرانی در مقایسه با دیگر مناطق صنعتی یک دهه زودتر به سرطان پستان مبتلا میشوند (۸). این مطالعه به بررسی انواع روشهای درمان جراحی و شیوع انواع پاتولوژیک سرطان پستان در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی ساری می‌پردازد.

روش بررسی

این تحقیق مطالعه‌ای است توصیفی - تحلیلی که با هدف بررسی انواع روشهای درمان جراحی و ویژگیهای پاتولوژیک سرطان پستان در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی ساری انجام شده است. نمونه‌ها از بین زنان مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی از مهرماه سال ۱۳۸۵ تا آبان ۱۳۹۰ انتخاب شدند. نتایج حاصله توسط نرم افزار SPSS, CHICAGO, IL نسخه ۱۵ مورد آنالیز قرار گرفتند.

یافته‌ها

در این مطالعه ۶۶ بیمار مبتلا به سرطان پستان که مورد جراحی قرار گرفتند بررسی شدند. در گزارش پاتولوژی ۷ بیمار دارای کارسینوم مهاجم داکتال و ۵۹ بیمار مبتلا به کارسینوم مهاجم لوبولار بودند. بیماران در بازه سنی ۴۰ تا ۶۵ سال قرار داشتند. شایعترین نوع درمان جراحی صورت گرفته

برهمن اساس انجام مطالعات بیشتر بر روی موارد بیشتری از بیماران توصیه می‌گردد.

پیشنهاد ما انجام معاینه‌های سالیانه در گروه‌های پرخطر و در سنین بالا توسط پزشک است.

تشکر و قدردانی

از کلیه کارکنان بایگانی بیمارستان امام خمینی ساری که در انجام این کار همکاری داشته‌اند قدردانی می‌گردد.

پستانی مختلف به مدت ۱۰ سال مورد پیگیری و بررسی قرار گرفتند، که ۴۰ درصد موارد منجر به مراجعه مربوط به توده پستان بود و بدخیمی پستان در ۱۱ درصد از زنان با شکایت توده و ۴ درصد از زنان با سایر شکایات پستان ثبت شد (۸). در مطالعه حاضر شایعترین بدخیمی ثبت شده کارسینوم مهاجم لوبولار بوده که در ۸۹/۳ درصد بیماران گزارش گردید. در عین حال این مطالعه نشان داد که بیشتر این بیماران ۷۱/۲۱ درصد تحت عمل جراحی Modified Radical Mastectomy قرار گرفتند که به نظر می‌رسد بهترین درمان بیماران مبتلا درمان با روش Modified Radical Mastectomy است.

از جمله محدودیتهای این مطالعه تعداد کم بیماران بررسی شده است که نتایج این تحقیق را غیرقابل تعمیم کرده‌است.

References

1. Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) Cancer Statistics Review, 1975-2002, based on SEER data submission 2004 [on-line]. Available at: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2002/ Accessed March, 15, 2006.
2. Ferlay J, Pisani P, Parkin DM (eds). Globocan 2000. IARC cancer base no. 5. Lyon, International Agency for Research on Cancer Press, 2001.
3. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2010. [Cited 14 Apr 2011.] Available from URL: <http://globocan.iarc.fr/>
4. Summary report on cancer incidence in Iran. Tehran, Islamic Republic of Iran, Iranian Center for Prevention and Control of Disease, Ministry of Health and Medical Education, Treatment and Education, 2000.
5. Ferlay J, Parkin DM, Curado MP *et al.* Cancer Incidence in Five Continents, Volumes I-IX: IARC CancerBase No. 9. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2010. [Cited 14 Apr 2011.] Available from URL: <http://ci5.iarc.fr/>
6. Hirabayashi Y, Zhang M. Comparison of time trends in breast

cancer incidence (1973-2002) in Asia, from cancer incidence in five continents, Vols IV-IX. Jpn J Clin Oncol 2009; 39: 411-12.

7. Sadjadi A, Nouraie M, Mohagheghi MA, Mousavi-Jarrahi A, Malekezadeh R, Parkin DM. Cancer occurrence in Iran in 2002, an international perspective. Asian Pac J Cancer Prev. 2005; 6: 359 - 363.

8. Barton MB, Elmore JG, Fletcher SW. Breast symptoms among women enrolled in a health maintenance organization: frequency, evaluation, and outcome. Ann Intern Med 1999; 130: 651.

9. Goya M. Iranian Annual Cancer Registration Report 2005/2006. Ministry of Health and Medical Education, Health Deputy, Center for Disease Control and Prevention [In Persian]; 2007.

10. Naghavi M, Abolhassani F, Pourmalek F, Lakeh M, Jafari N, Vaseghi S, et al. The burden of disease and injury in Iran 2003. Popul Health Metr. 2009; 7: 9.

11. دکتر مهری سیروس، دکتر آزاده ابراهیمی. اپیدمیولوژی توده های پستان زنان در اصفهان. نشریه جراحی ایران، دوره ۱۶، شماره ۳، سال ۱۳۸۷

12- Iglehart j, kaelin c, Disease of the breast in town sent jR Evers company, 2001:556- 88.

مقاله پژوهشی

بررسی شیوع اختلالات روانی و عوامل مرتبط با آن در زنان باردار مراجعه کننده به

مراکز بهداشتی درمانی شهرستان کوهستان، سال ۱۳۸۹

مرادعلی زارعی پور^۱، رویا صادقی^{۲*}، مرضیه پاکی فر^۳، عزت اله بازوند^۴

۱. کارشناسی ارشد آموزش بهداشت، ارتقاء سلامت، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

۲. استادیار، گروه آموزش بهداشت و ارتقاء سلامت، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳. کارشناس روانشناسی عمومی

۴. کارشناس بهداشت عمومی

* نویسنده مسئول: رویا صادقی، پست الکترونیکی: sadeghi_roya@yahoo.co.uk

نشانی: تهران، خیابان انقلاب، قدس، عباس شفیعی، پلاک ۲۱، صندوق پستی ۱۴۱۷۸۶۳۱۸۱، ساختمان شماره ۲، دانشکده بهداشت

چکیده

زمینه و هدف: اگرچه حاملگی یک پدیده فیزیولوژیک و طبیعی است، زنان در دوران بارداری در معرض تغییرات جسمی - روانی قابل ملاحظه‌ای قرار میگیرند. پیامدهای این تغییرات نه تنها سلامت مادر بلکه جنین و نه فقط حال بلکه آینده این دو را نیز تحت تاثیر قرار میدهد. مطالعه حاضر با هدف تعیین شیوع اختلالات روانی و عوامل مرتبط با آن در زنان باردار با استفاده از پرسشنامه سلامت عمومی مذکور صورت گرفته است.

روش بررسی: این مطالعه مقطعی در مورد ۲۵۰ نفر از زنان بارداری که جهت انجام مراقبت‌های دوران بارداری در پاییز سال ۱۳۸۹ به مراکز بهداشتی درمانی شهرستان کوهستان استان لرستان مراجعه کرده بودند، انجام گرفته است. نمونه‌گیری به روش خوشه‌ای انجام یافت. ابزار گردآوری اطلاعات پرسشنامه GHQ ۲۸ بود. یافته‌ها با استفاده از آزمون آماری کای دو مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: یافته‌های پژوهش نشان می‌دهد ۳۱/۶ درصد زنان باردار با میانگین سنی 26.41 ± 1.6 مشکوک به اختلالات روانی هستند. براساس نتایج میزان شیوع اختلالات روانی در سه ماهه اول ۳۴/۴ درصد، سه ماهه دوم ۲۳/۱ درصد و سه ماهه سوم ۴۰/۲ درصد است. بین اختلالات روانی دوران حاملگی با عوامل فردی روانی و اقتصادی - اجتماعی رابطه معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.05$)، همچنین یافته‌ها نشان داد که در نمونه‌های دچار اختلال، ۴۲/۴ درصد از افسردگی، ۲۵/۶ درصد از اضطراب، ۲۴/۴ درصد از اختلال جسمانی و ۲۴ درصد از اختلال در عملکرد اجتماعی رنج میبرند. همچنین بین اختلالات روانی و سن، میزان تحصیلات، رتبه بارداری، بارداری ناخواسته و تعداد فرزندان ارتباط معناداری وجود دارد ($p < 0.05$)

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش بیانگر بالابودن اختلالات روانی در زنان باردار است و موید این مطلب است که این نوع مطالعات ضمن آگاهی از تغییرات وضعیت سلامتی زنان باردار و عوامل مؤثر بر آن، میتواند در زمینه‌های آموزشی و پیشگیری از بروز اختلالات روانی برنامه ریزان و مدیران مراکز ارائه خدمات را یاری رساند.

کلید واژه‌ها: اختلالات روانی، زنان باردار، پرسشنامه سلامت عمومی (GHQ-28)

مقدمه

وضعیت روانی مادر باردار در دوران بارداری تاثیر زیادی بر سلامت جسمی و روانی او و جنین دارد. توجه نداشتن به وضعیت روانی مادر باردار می تواند با عواقب وخیمی همراه باشد. طبق تحقیقات، افسردگی شدید مادر باردار، احتمال شکایات دوران بارداری، مرده زایی، تصمیم به خودکشی و احتمال تولد نوزاد با وزن کم را افزایش میدهد (۱). در پاره ایی از موارد اختلالات روانی در مادر مانع از مراقبت کامل او از خودش، جنین و یا نوزاد شده و با عواقب متاثرکننده ایی همراه بوده است (۲). تاثیر این اختلالات میتواند تا مدتها باقی بماند. بیش فعالی و کمبود توجه در کودکانی که از مادران مبتلا به اختلالات روانی متولد شده اند و همچنین پایین آمدن بهره هوشی در کودکان (بوژه پسر) در سن ۱۱ سالگی از مادرانی که در دوران بارداری به افسردگی دچار بوده اند گزارش شده است (۳). اهمیت این موضوع زمانی روشنتر میشود که بدانیم تنها تعداد اندکی از زنانی که از افسردگی دوران بارداری رنج میبرند در جریان مراقبتهای این دوران قبل و یا بعد از تولد نوزاد خود شناسایی میشوند (۴ و ۵). بهمین دلیل گروهی از صاحب نظران افسردگی را بیماری مخفی و غیر آشکار می دانند (۶) و گروهی دیگر معتقدند که این بیماری در گروه زیادی از زنان درمان نشده باقی میماند (۷).

اگرچه علت بروز این اختلالات روشن نیست ولی بررسی ها علل مختلف ژنتیکی، بیوشیمیایی، غدد درون ریز، روانی و اجتماعی را در بروز آنها دخیل می دانند (۱) آمادگی روانی همانند آمادگی جسمی برای باردار شدن، زایمان و پرورش کودک از اهمیت زیادی برخوردار است. در زمینه اختلالات روانی دوران بارداری مطالعات متعددی صورت گرفته است در بررسیهای که با استفاده از پرسشنامه سلامت عمومی (GHQ) انجام شده است میزان شیوع اختلالات روانی بطور متفاوتی گزارش شده است. بطور مثال این شیوع در مطالعه ای که بر ۲۷۳ زن باردار در اوایل دوران بارداری ۴۴/۳ درصد گزارش شده است (۸) در حالیکه مطالعه ای که روی ۱۰۸ زن باردار ژاپنی انجام شد این اختلالات در سه ماهه اول و سوم حاملگی بترتیب ۱۷ درصد و ۱۳ درصد گزارش شده است (۹)

برخی مطالعات موید بالاتر بودن شیوع اختلالات در سه ماهه سوم بارداری است. در مطالعه ای که علایم افسردگی را در هفته های ۱۸ و ۳۲ بارداری و همچنین در ۸ هفته بعد از زایمان مقایسه کرده است نشان داده که احتمال بروز افسردگی در هفته ۳۲ بیشتر از ۸ هفته بعد از زایمان است (۱۰).

در ایران نیز مطالعه ای که در شهرکرد بر روی ۲۶۷ مادر باردار مراجعه کننده برای انجام مراقبتهای دوران بارداری انجام شد میزان شیوع اختلالات روانی در سه ماهه اول ۲۹/۷ درصد، سه ماهه دوم ۲۸/۶ درصد و سه ماهه سوم ۳۹/۶ درصد است (۱۱). اگرچه در مراکز بهداشتی درمانی کشور، مراقبت های دوران بارداری انجام میشود ولی توجه به مراقبتهای جسمی در مرکز توجه قرار دارد. این در حالی است که سلامت جسم در گرو سلامت روان و سلامتی روان مادر ضامن سلامت خانواده و فرزند است که او پرورش میدهد. شیوع اختلالات روانی و وسعت نیاز مردم کشور به خدمات بهداشت روانی و همچنین محرومیت نسبی مردم روستاها و شهرهای متوسط و کوچک از خدمات بهداشت روانی، اهمیت پرداختن به این موضوع این تحقیق را مطرح می سازد. طبیعی است که توفیق در حل این مشکلات مستلزم شناسایی عوامل مختلف فردی خانوادگی فرهنگی اجتماعی و اقتصادی است تا با اجرای مداخلات لازم به پیشگیری از اختلالات روانی پرداخته نسل آینده سالمتری داشته باشیم.

روش بررسی

پژوهش حاضر یک مطالعه مقطعی از نوع توصیفی-تحلیلی است که با تکمیل پرسشنامه روی ۲۵۰ زن باردار مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی شهرستان کوهدشت در پاییز سال ۱۳۸۹ تکمیل شده است. شهرستان کوهدشت یکی از ۹ شهرستان استان لرستان در فاصله ۸۵ کیلومتری از مرکز استان (خرم آباد) قرار دارد. کلیه زنان باردار شرکت کننده در این بررسی جهت انجام مراقبتهای بارداری مراجعه کرده و مورد مطالعه قرار گرفتند. نمونه گیری بصورت خوشه ای چند مرحله ای انجام شده است. ابتدا ۹ مرکز بهداشتی شهری و روستایی بعنوان خوشه های مورد بررسی مشخص شد. این خوشه ها شامل ۴ مرکز شهری و ۵ مرکز روستایی است. لازم بذکر است که هریک از مراکز روستایی

از ابعاد (علایم جسمانی، اضطراب، عملکرد اجتماعی، افسردگی) عدد ۲ در نظر گرفته شده است لذا افرادی که در هریک از ابعاد نمره کمتر از ۲ گرفتند سالم و افرادی که نمره ۲ و بیشتر گرفتند، مشکوک به اختلال مذکور در نظر گرفته شد.

جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات از آمار توصیفی (میانگین و انحراف معیار و تنظیم جداول توزیع فراوانی مطلق و نسبی) و استنباطی (کای دو) استفاده شد. از آمار توصیفی جهت تعیین و همچنین از نرم افزار رایانه ای SPSS استفاده گردید. P-value کمتر از ۰/۰۵ ($P < 0.05$) معنی دار تلقی گردید. و در کلیه مراحل تحقیق ملاحظات اخلاقی رعایت گردید.

یافته ها

در این پژوهش ۲۵۰ زن باردار با میانگین سنی $25/22 \pm 5/52$ مورد مطالعه قرار گرفتند. میانگین سنی زنان مشکوک به اختلالات روانی $26/41 \pm 6/1$ سال بوده است با در نظر گرفتن خط برش ۶، ۳۱/۶ درصد مشکوک به اختلالات سلامت روانی بودند. در زنان مشکوک به اختلال روانی نمرات ابعاد مختلف GHQ، شامل علایم افسردگی ۴۲/۴ درصد، علایم اضطرابی ۲۵/۶ درصد، اختلال جسمانی ۲۴/۴ درصد و اختلال در عملکرد اجتماعی ۲۴ درصد بود. این یافته ها نشانگر این است که زنان باردار در این مطالعه بیشتر از علائم افسردگی رنج می بردند (جدول ۱).

جدول ۱: شیوع اختلالات روان به تفکیک ۴ بعد سلامت (اختلال جسمانی، اضطراب، اختلال در عملکرد اجتماعی، افسردگی) و کل

نوع اختلال	سالم (درصد/تعداد)	مشکوک به اختلال روانی (درصد/تعداد)	جمع
اختلال جسمانی	۱۸۷ (۷۵/۶)	۶۳ (۲۴/۴)	۲۵۰
اضطراب	۱۸۶ (۷۴/۴)	۶۴ (۲۵/۶)	۲۵۰
اختلال در عملکرد اجتماعی	۱۹۰ (۷۶)	۶۰ (۲۴)	۲۵۰
افسردگی	۱۴۴ (۵۷/۶)	۱۰۶ (۴۲/۴)	۲۵۰
کل	۱۷۱ (۶۸/۶)	۷۹ (۳۱/۶)	۲۵۰

چند خانه بهداشت را تحت پوشش داشته است و در مجموع اطلاعات از زنان باردار در ۶۲ روستا تهیه شده است. در مرحله بعد داخل هر خوشه انتخابی، نمونه گیری تصادفی ساده انجام شده است تا نمونه با افراد حایز شرایط تکمیل شود. شرایط انتخاب افراد در نمونه میبایستی ضمن باردار بودن ساکن در مناطق مورد نظر باشند و ظرف شش ماهه گذشته حادثه غمباری نظیر طلاق و یا مرگ عزیزان برای ایشان اتفاق نیفتاده باشد. پس از رایحه توضیحات لازم به زنان واجد شرایط و کسب اطلاع از آمادگی آنان برای شرکت در مطالعه، پرسشنامه توسط خود زنان باردار و در صورت بیسواد بودن توسط پرسشگر تکمیل شد.

ابزار گردآوری داده ها پرسشنامه بود که با توجه به اهداف در دو قسمت عمده تدوین گردید؛ قسمت اول پرسشنامه که توسط گروه تحقیق طراحی شده بود مشتمل بر ۲۰ سوال بود که اطلاعات فردی جامعه مورد مطالعه را بدست می آورد. پرسشنامه مشخصات فردی شامل متغیرهای سن میزان تحصیلات و شغل مادر باردار و همسر وی، قسمت دوم پرسشنامه استاندارد سلامت عمومی (GHQ-۲۸) بود. پرسشنامه GHQ-۲۸ یک وسیله معتبر اندازه گیری اختلالات روانی است که در تعداد متفاوت سوال طراحی شده است. در این بررسی پرسشنامه ۲۸ سوالی مورد بررسی قرار گرفت. در این پرسشنامه اختلالات در چهار بعد است که شامل ابعاد اختلال جسمانی، اضطراب، اختلال در عملکرد اجتماعی و افسردگی قابل سنجش هستند. در مطالعات مختلف شاخصهای اعتبار آن مورد ارزیابی قرار گرفته است و میزان حساسیت آن ۸۸-۸۴ درصد و ویژگی آن ۸۲-۷۹ درصد برآورد شده است (۱۳-۱۲). در امتیاز گذاری گزینه های انتخابی توسط گروه هدف از روش سنتی Bimodal استفاده شده است که گزینه ها بصورت (۰-۱-۱) امتیاز داده شده و حداکثر نمره آزمودنی با این روش برابر ۲۸ است. نمره برش در مطالعه حاضر با احتساب کل ابعاد ۶ در نظر گرفته شده است در نتیجه افرادی که از این پرسشنامه امتیاز ۶ یا بیشتر آورده اند به عنوان مشکوک به اختلال و افرادی امتیازشان از ۶ پایین تر بوده است سالم محسوب شده اند. همچنین نمره برش در ارتباط با هریک

در گروه مادران بیسواد بالاترین شیوع اختلالات (۶۶/۷ درصد) در مقایسه با مادران با تحصیلات بیشتر دیده شد. در گروه مادرانی که دو فرزند و یا بیشتر داشتند، بیشترین (۴۷/۱ درصد) و گروهی که فاقد فرزند بودند، کمترین (۲۶/۲ درصد) شیوع اختلالات روانی را گزارش دادند. مادران در وضعیت اقتصادی خوب، کمترین (۳۳/۳ درصد) و با وضعیت بد و نامساعد، بیشترین (۴۴/۲ درصد) میزان اختلالات رانشان دادند (جدول ۲).

بیش از نیمی از زنان (۵۲/۴ درصد) دارای تحصیلات ابتدایی و راهنمایی، (۹۵/۶ درصد) خانه‌دار و بیش از دو سوم آنها (۷۹/۶ درصد) حداکثر یک فرزند داشتند و تنها ۱۶/۸ درصد از آنها از وضعیت اقتصادی خوبی برخوردار بودند. بیشترین شیوع مشکوک به اختلالات روانی در گروه سنی ۳۱ سال و بیشتر (۵۲/۲ درصد) و کمترین میزان آن مربوط به گروه سنی ۲۵-۲۱ سال (۲۶/۴ درصد) دیده شد.

جدول ۲- توزیع فراوانی سلامت روان زنان مورد مطالعه بر اساس متغیرهای مختلف جمعیت‌شناسی

متغیر	سالم (درصد/تعداد)	مشکوک به اختلال روانی (درصد/تعداد)	جمع	p-value
سن	۱۴-۲۰	۴۴(۷۲/۱)	۶۱	P=0.01
	۲۱-۲۵	۵۳(۷۳/۶)	۷۲	
	۲۶-۳۰	۵۲(۷۳/۲)	۷۱	
	۳۱ و بیشتر	۲۲(۴۷/۸)	۴۶	
میزان تحصیلات	بیسواد	۱۰(۳۳/۳)	۳۰	P=0.001
	ابتدایی	۴۰(۶۷/۸)	۵۹	
	راهنمایی	۵۶(۷۷/۸)	۷۲	
	دیپلم	۵۳(۷۲/۶)	۷۳	
	بالتر از دیپلم	۱۲(۷۵)	۱۶	
شغل	خانه‌دار	۱۶۴(۶۸/۶)	۲۳۹	P= N.S
	شاغل	۷(۶۳/۶)	۱۱	
تحصیلات همسر	بیسواد	۶(۵۰)	۱۲	p= N.S
	ابتدایی	۳۵(۶۴/۸/۱)	۵۴	
	راهنمایی	۵۲(۶۹/۳)	۷۵	
	دیپلم	۵۱(۶۸)	۷۵	
	بالتر از دیپلم	۲۷(۷۹/۴)	۳۴	
شغل همسر	کشاورز	۱۵(۶۰/۰)	۲۵	P= N.S
	کارگر	۴۶(۶۹/۷)	۶۶	
	آزاد	۶۵(۷۰/۷)	۹۲	
	اداری	۲۴(۷۷/۴)	۳۱	
	بیکار	۶(۶۶/۷)	۹	
	سایر	۱۵(۵۵/۶)	۲۷	
تعداد فرزند	بدون فرزند	۹۶(۷۳/۸)	۱۳۰	P=0.02
	تک فرزند	۴۸(۶۹/۶)	۶۹	
	۲ و بیشتر	۲۷(۵۲/۹)	۵۱	
سن ازدواج	۱۴-۲۰	۸۷(۷۱/۳)	۱۲۲	P= N.S
	۲۱-۲۵	۶۴(۷۰/۳)	۹۱	
	۲۶ و بیشتر	۱۷(۴۵/۹)	۳۷	
وضعیت محل سکونت	شخصی	۹۷(۷۰/۳)	۱۳۸	P=N.S
	استیجاری	۲۴(۶۶/۷)	۳۶	
	زندگی با اقوام	۵۰(۶۵/۸)	۷۶	
وضعیت اقتصادی	بد	۴۸(۵۵/۸)	۸۶	P=0.003
	متوسط	۹۵(۷۷/۹)	۱۲۲	
	خوب	۲۸(۶۶/۷)	۴۲	

بحث

اگر چه مطالعات متعددی در زمینه بهداشت روان در کشور انجام شده است انجام مطالعه روی سلامت روان خانمهای باردار باتوجه به تفاوتهای اجتماعی و فرهنگی ایشان در نقاط مختلف کشور از اهمیت و اولویت بالایی برخوردار است. باتوجه به نتایج حاصل از این مطالعه شیوع اختلال روانی در میان زنان باردار در لرستان ۳۱/۶ درصد بوده است که با رقم ذکر شده برای شیوع سلامت روان در افراد بالای ۱۵ سال استان کردستان که ۳۵/۷ درصد ذکر شده است (۱۴) همخوانی دارد.

نزدیک به نیمی از زنان باردار (۴۷/۲ درصد) اولین بارداری خود را تجربه می نمودند و کمترین شیوع اختلالات (۲۱/۲ درصد) در این گروه گزارش شده است. گروهی که قبلاً سه بار یا بیشتر بارداری را تجربه کرده بودند بیشترین شیوع (۴۱/۴ درصد) را گزارش کردند، تنها ۲۲ درصد از افراد مورد مطالعه حاملگی ناخواسته داشته اند و شیوع اختلالات در این گروه حدود دو برابر افرادی بود که برای بارداری خود طرح و برنامه ریزی داشته اند. نزدیک به ۹۰٪ از زنان مورد مطالعه از موافقت همسر و اطرافیان خود در این حاملگی برخوردار بودند و شیوع اختلالات در این گروه حداقل نصف افرادی بود که از چنین حمایتی برخوردار نبودند. (جدول ۳).

جدول ۳- توزیع فراوانی سلامت روان زنان مورد مطالعه بر اساس سوابق مربوط به بارداری

متغیر	سالم (درصد) تعداد	مشکوک به اختلال روانی (درصد) تعداد	جمع	p-value
سن اولین بارداری	۱۴-۲۰ ۲۱-۲۵ ۲۶ و بیشتر	۵۳(۶۶/۳) ۷۹(۷۲/۵) ۳۹(۶۳/۹)	۸۰ ۱۰۹ ۶۱	P= N.S
سن حاملگی	سه ماهه اول سه ماهه دوم سه ماهه سوم	۴۲(۶۵/۶) ۸۰(۷۶/۹) ۴۹(۵۹/۸)	۶۴ ۱۰۴ ۸۲	P=0.038
رتبه حاملگی	اولین دومین ۳ و بیشتر	۹۳(۷۸/۹) ۴۴(۵۹/۵) ۳۴(۵۸/۶)	۱۱۸ ۷۴ ۵۸	P=0.004
حاملگی ناخواسته	بلی خیر	۲۷(۴۹/۱) ۱۴۴(۷۳/۸)	۵۵(۲۲) ۱۹۵(۷۸)	P=0.001
سابقه سقط جنین	بلی خیر	۲۹(۵۹/۲) ۱۴۲(۷۰/۶)	۴۹(۱۹/۶) ۲۰۱(۸۰/۴)	P= N.S
موافقت همسر با حاملگی	بلی خیر	۱۶۰(۷۱/۴) ۱۱(۴۲/۳)	۲۲۴(۸۹/۶) ۲۶(۱۰/۴)	P=0.003
موافقت اطرافیان با حاملگی	بلی خیر	۱۶۲(۷۱/۴) ۹(۳۹/۱)	۲۲۷(۹۴/۶) ۲۳(۵/۴)	P=0.002
بیماری خاص	بلی خیر	۸(۵۳/۳) ۱۶۳(۶۹/۴)	۱۵ ۲۳۵	P= N.S

میزان تحصیلات و اختلالات روانی قبلاً در مطالعات سپهرمنش (۱۳۸۷) و بهدانی و همکاران (۱۳۸۴) نیز به اثبات رسیده است (۱۶-۱۷). شاید علت این امر را بتوان اینگونه توجیه کرد که تحصیلات بالاتر منجر به بالارفتن آگاهیها و یافتن مکانیسمهای مناسبتر جهت تطابق با محیط را فراهم میسازد.

براساس این مطالعه بنظر میرسد عوامل روانی نظیر موافقت همسر و اطرافیان در ارتباط با حاملگی فعلی به عنوان عامل محافظتی در مقابل آسیب پذیری برای اختلالات روانی نقش داشته است که این نتایج هماهنگ با یافته‌های بهدانی و همکاران است (۱۶). همچنین Sheng Le, and Perry, (2010) نشان دادند که حمایت اجتماعی از جانب همسر و اطرافیان باعث ارتقا سلامت روان در زنان باردار شده و موارد افسردگی را بشدت کاهش میدهد (۲۰). مطالعات قبل هم حاکی از آن بود که عدم موافقت همسر با حاملگی باعث بروز ترس، اضطراب و افسردگی در مادر میشود (۱۷). از طرف دیگر نتایج Abiodun نشان داده بود که داشتن همسر بدون حمایت باعث افزایش اختلالات روانی در زنان باردار میشود (۲۱).

یافته‌های این پژوهش نشان داد تعداد فرزندان و اختلال روانی اختلاف معنادار مثبتی وجود دارد. به گونه‌ای که در مادرانی که دو فرزند یا بیشتر داشته‌اند بیشتر از آنان بوده است که یا فرزند نداشته و یا یک فرزند داشته‌اند. ارتباط بین فرزندان بیشتر و بالاتر بودن اختلالات روانی در سیر مطالعات شریف و همکاران (۱۳۸۳) و سپهرمنش (۱۳۸۷) همسو است (۱۷ و ۱۸). شاید دلیل آن را بتوان افزایش بار خانواده از نظر اقتصادی و یا مسائل تربیتی فرزندان دانست.

در این تحقیق بین وضعیت اقتصادی خانواده و اختلالات روانی ارتباط معناداری دیده شد. طوریکه بالاترین شیوع در مادرانی بود که وضعیت اقتصادی بد و نامساعدی داشتند که با نتایج تحقیق سپهرمنش (۱۳۸۷) و فروزنده (۱۳۸۲) همخوانی دارد (۱۷ و ۱۱).

ارتباط حاملگی ناخواسته و شیوع اختلالات نیز در این تحقیق به اثبات رسید بطوری که شیوع این اختلالات در مادرانی است که با برنامه‌ریزی باردار شده‌اند تا نصف میزان گزارش شده در موارد حاملگی ناخواسته بوده است. این یافته

لازم بذکر است که نتیجه تحقیق حاضر در مقایسه با نتایج طرح ملی سلامت روان بالغین در کشور با شیوع ۲۱ درصد بیشتر است (۱۵). اگرچه از رقم ذکر شده در مطالعه مشهد که بر روی مادران ۶-۸ هفته پس از زایمان شیوع ۵۷/۶ درصد را گزارش میکند (۱۶) بوضوح کمتر و همچنین از نتایج زنان جوان مشکوک به اختلال روانی در شهر کاشان با شیوع ۴۰ درصد کمتر است (۱۷).

یافته‌های پژوهش نشان داد بیشترین شیوع اختلالات روانی در سه ماهه سوم بارداری است و شایعترین اختلالات در طول بارداری افسردگی و اضطراب بوده است که با نتایج تحقیق فروزنده همخوانی دارد (۱۱). اگرچه در مطالعه Kitamura (۱۹۹۶) در ژاپن شیوع اختلالات در سه ماهه سوم کمتر از سه ماهه اول (۱۳ و ۱۷ درصد) گزارش شده است (۹). طبق نتایج تحقیق حاضر کمترین میزان شیوع اختلالات در سه ماهه دوم بارداری دیده شده است که علت این تفاوتها ممکن است دلیل عدم آمادگی روانی لازم برای شروع بارداری باشد و پس از تثبیت بارداری و حمایت همسر و اطرافیان این نگرانی‌ها به حداقل خود میرسد و مجدداً در سه ماهه سوم دلیل نزدیک شدن به زمان زایمان و مسایل پس از آن این اختلالات به حداکثر میزان خود می‌رسد.

در ارتباط عوامل موثر بر وضعیت سلامت روان دوران بارداری یافته‌های این پژوهش حاکی از آن است که بین اختلال روانی و افزایش سن ارتباط معنادار مثبتی وجود دارد؛ به گونه‌ای که در مادران بالای ۳۱ سال شیوع اختلالات تاحدود دو برابر بیشتر از جمعیت زیر ۳۱ سال است. نتایج مشابهی در دیگر تحقیقات با تفاوت در گروه در معرض خطر بیشتر به اثبات رسیده است بطوری که در مطالعه شریف و همکاران (۱۳۸۳) میزان اختلالات روانی در گروههای سنی ۱۹-۲۹ سال بیشتر از سایر گروههای سنی بوده (۱۸) و در مطالعه سپهرمنش (۱۳۸۷) گروه سنی ۳۷-۲۶ بیشترین میزان اختلالات را نشان داده اند (۱۷).

یافته‌های این پژوهش نشان داد که بین میزان سواد و شیوع اختلالات ارتباط معناداری وجود دارد بنحوی که شیوع اختلالات در مادران بیسواد ۵/۲ برابر مقدار نظیر خود در مادران با تحصیلات بالاتر از دیپلم است. ارتباط معنادار بین

توجه ایشان نسبت به نقش حمایتی و موثری که بر نتایج بارداری خواهند داشت تاکید میشود. باتوجه به نتایج تحقیق زایمانهای مکرر و فرزندان زیاد میتواند به بروز اختلالات روانی در مادران منجر شود لذا رعایت تنظیم و بهداشت خانواده در برنامه‌های آموزشی باید گوشزد شود.

References

- 1- Antenatal and postnatal mental health, the nice guideline on clinical management and service guidance, (NICE clinical guideline), Alden Press, 2007 United Kingdom: National Health Service; 2007.
- 2-Bonari, L.,Pinto, N., Ahn, E., et al 2004 Prenatal risks of untreated depression during pregnancy, Canadian Journal of Psychiatry, 49, 726-735.
- 3-Hay,D.F., Pawlby, S., Sharp, D., et al, 2001 Intellectual problems shown by 11-year-old children whose mothers had depression, Journal of Child Psychology and Psychiatry, 42, 871-889.
- 4-Coates AO, Schaefer CA, Alexander JL. Detection of postpartum depression and anxiety in a large health plan. J Behav Health Serv Res 2004; 31: 117-33.
- 5- Healthy People 2010: Understanding and improving health. Washington DC: Department of Health and Human Services; 2000.
- 6- Bagedahl-Strindlund M, Borjesson KM. Postnatal depression: a hidden illness. Acta Psychiatr Scand 1998; 98: 272-5.
- 7- Thio IM, Browne MAO, Coverdale JH, Argyle N. Postnatal depressive symptoms go largely untreated: a probability study in urban New Zealand. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol 2006; 41: 814-8
- 8- Swallow BL; SW Lindow SW; Masson EA;DM Hay DM . The use of the General Health Questionnaire (GHQ-28) to estimate prevalence of psychiatric disorder in early pregnancy Psychology, Health&Medicine,http://www.informaworld.com/smpp/title~db=al l~content=t713441652~tab=issueslist~branches=8 - v88 (2) May 2003 :213 - 217
- 9- Kitamura T., Toda M.A., Shima S., Sugawara M. Validity of the repeated GHQ among pregnant women: a study in a Japanese general hospital. Int J Psychiatry Med. 1996;24(2):149-56.
- 10-Evans J., Heron J., Francomb H., Oke S., Golding J. Cohort study of depressed mood during pregnancy and after childbirth. BMJ. 2001; 323(7307):257-60.
- 11-Forouzandeh N, DelaramM, Deris F, The quality of mental health status in pregnancy and its contributing factors on women visiting the health care centers of Shahrekord, 2001. Medical

نیز با یافته‌های بهدانی و همکاران (۱۳۸۴) همخوانی دارد(۱۶). بطورکلی نتایج این تحقیق حاکی از درصد بالایی از زنان باردار است که دچار اختلالات روانی هستند که آگاهی از این امر ضرورت پرداختن به مسایل بهداشت روان توسط برنامه‌های مراقبتهای دوران بارداری و بهداشت خانواده را میطلبد. از آنجایی که حمایت اجتماعی در طول دوران بارداری میتواند به بهبود شرایط روانی مادران بیانجامد، ضرورت کلاسهای آموزشی جهت همسران و خانواده‌ها و

- Journal of Reproduction & Infertility 2003; 2(4): p. 146-155(in Persian).
12. Bagheri Yazdi SA, Bolhari J, Peyravi H. Mental health status of newly admitted students to Tehran University at 1994-95 academic year. Andishe va Raftar Journal, 1994 1(4):p.30-39.
- 13-Noorbala, A.A., et al., Mental health survey of the adult population in Iran. The British Journal of Psychiatry, 2004. 184(1): p. 70 – 73
- 14- Kheirabadi Gh.R, Yousefi F, A survey of mental health and its relevant factors in above 15 years old urbanite subjects in Kurdistan province. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences, 2002. 24(6): p. 34-39(in Persian).
- 15)Noorbala AA, Bagheri Yazdi SA, Mohammad K, Yasemi MT. Study of Mental health status of individuals above 15 years of age in Islamic Republic of Iran in 1999, Hakim,2001, 5(1): 1-10 (in Persian).
16. Behdani F, Hebrani P, Afzalaghaei M, Nasernia Sh,Karbaschi K. Psychological and obstetric risk factors for postnatal depression, Journal of Gorgan University of Medical Sciences, 2005. 7(2 (16)):46-51. (in Persian).
- 17- Sepehrmanesh Z. Mental Health and Its Related Factors in Young Women in Kashan City The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology And Infertility 2009;1(12): 31-41(in Persian).
- 18- Sharif F, JoulaeiH , Kadivar MR, Rajaei Fard AR, Mental health status and its related demographic variables of families referring to Shiraz health centers. Armaghane-danesh, Journal of Yasuj University of Medical Sciences, 2004. 35(9): p. 75-84(in Persian).
- 19- Sheng Xi Le H.N, Perry D Perceived Satisfaction With Social Support and Depressive Symptoms in Perinatal Latinas, Journal of Transcultural Nursing, Vol. 21, No. 1, 35-44 (2010)
20. Saeif S. Mental health in pregnancy and spouse and community duties , Mental Health 1998, 1(2):86-91(in Persian).
- 21- Abiodun O.A., Adetoro O.O and Ogunbode O.O , Psychiatric morbidity in a pregnant population in Nigeria , Gen Hosp Psychiatry.1993;15(2):125-8

گزارش مورد

شیرخوار سه ماهه مبتلا به هیپوکالمی به دنبال رنال توبولار اسیدوز

نوشین فرزید^۱، سامیه غنا^۲، دکتر اکرم ثناگو^۳، دکتر لیلا جویباری*^۳
۱ دانشجوی پرستاری، کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی گلستان
۲ دانشجوی مامایی، کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی گلستان
۳. دکترای پرستاری، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی گلستان، مرکز تحقیقات پرستاری

* نویسنده مسئول: دکتر لیلا جویباری، پست الکترونیکی jouybari@gmail.com

نشانی: گرگان، جاده شصتکلا، مجموعه آموزش عالی فلسفی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، مرکز تحقیقات پرستاری

چکیده

مقدمه: در بیماری رنال توبولر اسیدوزیس بیماری، اسیدوز متابولیک به دلیل نقصان در توانایی توبولهای کلیوی برای جذب اسید از خون جذب و ورود آن به ادرار رخ میدهد.

هدف: هدف از این مطالعه معرفی یک مورد شیرخوار مبتلا به هیپوکالمی به دنبال رنال توبولر اسیدوزیس است.

مواد و روشها: گزارش مورد با استفاده از پرونده، اخذ شرح حال از خانواده و بررسی متون مرتبط است.

یافته‌ها: بیمار، شیرخوار پسر ۳ ماهه شناخته شده اسیدوز توبولر کلیوی پروکسیمال بود که بعد از بستری در بیمارستان دچار تغذیه ضعیف می-شود. شب قبل از بستری دو نوبت استفراغ زرد رنگ و صبح روز بستری یک نوبت استفراغ سفید رنگ داشته است که توسط والدین به بیمارستان آورده شد. بعد از مراجعه به این مرکز به دلیل شیر نخوردن، آزمایش خون و الکتrolیت‌های سرم و گازهای خون شریانی انجام و هیپوکالمی و اسیدوز متابولیک شیرخوار مشخص شد. به دنبال سونوگرافی کلیه و مثانه و مجاری ادراری انجام و تشخیص اسیدوز توبولر کلیوی به عنوان علت هیپوکالمی در این شیرخوار مطرح گردید.

نتیجه‌گیری: افتراق بین اسیدوز توبولر کلیوی با سایر بیماری‌ها مانند گاستروانتریت مهم است زیرا درمان آنها با هم متفاوت است و این امر می‌تواند سبب تشدید هیپوکالمی در اسیدوز توبولر کلیوی شود.

کلید واژه‌ها: هیپوکالمی، رنال توبولر اسیدوزیس، شیرخوار

مقدمه

اسیدوز توبولر کلیوی (Renal Tubular Acidosis)، به گروهی از اختلالات کلیوی اطلاق می‌شود که در جریان آنها به دلیل اختلال در عملکرد لوله‌های کلیوی، اسیدوز رخ می‌دهد. در بسیاری از بیماران مبتلا به اسیدوز توبولر کلیوی، عملکرد گلوومرولها طبیعی است و لذا اگر چه اسیدوز رخ می‌دهد اما به دلیل عدم تجمع آنیون‌های دفع نشده، شکاف آنیونی طبیعی خواهد بود. پتاسیم پلاسما بسته به نوع اسیدوز ممکن است طبیعی، بیشتر یا پایین‌تر باشد (۱).

اسیدوز توبولر کلیوی یک بیماری و اختلال منفرد نیست، بلکه واژه‌ای است که برای بیان حالات بیماری‌زایی به کار می‌رود که وجه اشتراک آنها، بروز اسیدوز متابولیک به دنبال اختلال در عملکرد توبول‌های کلیوی است. این سندرم با اسیدوز اورمیک که با آنیون گپ بالا، کاهش فیلتراسیون گلوومرولی به همراه افزایش ترشح پروتئین از نفرون‌ها همراه است متفاوت است (۲). گاه اختلال در لوله‌های پروکسیمال و گاه اختلال در لوله‌های دیستال وجود دارد (۳). هدف از این مطالعه معرفی یک مورد شیرخوار مبتلا به اسیدوز توبولر کلیوی است.

معرفی مورد

بیمار شیرخوار پسر ۳ ماهه که به علت تغذیه ضعیف از پنج روز قبل و داشتن دو نوبت استفراغ زرد رنگ در شب قبل و یک نوبت استفراغ سفید رنگ در صبح بستری توسط والدین در آبان ماه ۱۳۹۰ به بخش اورژانس مرکز آموزشی درمانی اطفال آورده و در بخش جنرال این مرکز بستری می‌شود. کودک سابقه تب در ۱۰ روز قبل از بستری را داشته که با مصرف قطره استامینوفن و آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین، تب قطع می‌شود. علائم دیگری نظیر اسهال، یبوست، نفخ و ورم و بیقراری، آلرژی و همچنین سابقه جراحی و بستری در بیمارستان نیز نداشته است.

در معاینه شیرخوار بی‌حال، چشمانش گودرفته، مخاط دهان نسبتاً خشک و ملتحمه کمی کم‌رنگ بود. وزن فعلی ۵/۸۰۰ کیلوگرم، قد ۶۷ سانتیمتر، ضربان قلب در دقیقه ۱۱۲ و فشارخون ۷۵/۴۵ میلیمتر جیوه بود. در سمع ریه‌ها و قلب مشکل خاصی گزارش نشد. وریدهای ژوگولار برجسته

نبود، ادم اندام تحتانی مشاهده نشد و شکم نرم و بدون دیستانسیون بود. سایر سیستم‌ها نیز نرمال بوده‌اند.

مادر ۲۳ ساله، خانه‌دار، ساکن روستا با سطح تحصیلات دوم راهنمایی است که در دوران بارداری مشکل خاصی نداشته و داروی خاصی در زمان بارداری مصرف نمی‌کرده است. والدین نسبت فامیلی ندارند. فرزند دیگر خانواده دختر ۶ ساله مبتلا به رنال توبولر اسیدوزیس است که محلول پتاسیم دریافت می‌کند، عموی بیمار نیز سابقه سنگ کلیه دارد.

شیرخوار فرزند سوم خانواده، ترم و ماحصل زایمان طبیعی با وزن ۳۹۵۰ گرم از مادری با سابقه گراوید ۳، پاریته ۳، سقط ۱ و دو فرزند زنده است. فرزند اول مادر در ماه سوم بارداری به علت نامشخصی سقط می‌شود. برنامه واکسیناسیون در زمان مقرر انجام شده‌است. از هنگام تولد شیر مادر می‌خورد و از یک ماهگی (به دلیل رفتن مادر به کلاس) شیر خشک نیز می‌خورد.

در معاینه، شیرخوار در هنگام پذیرش کمی بی‌حال بود و چشمانش گود رفته بود. وزن فعلی کودک ۵/۸۰۰ کیلوگرم و قد فعلی ۶۷ سانتی‌متر است. ضربان قلب ۱۱۲ در دقیقه، فشار خون ۷۵/۴۵ میلی‌متر جیوه بود. در سمع ریه‌ها و قلب مشکل خاصی گزارش نشد. مخاط دهان نسبتاً خشک است. ملتحمه بیمار کمی کم‌رنگ به نظر می‌رسد. وریدهای ژوگولار برجسته نبود، ادم اندام تحتانی مشاهده نمی‌شود تورگور پوستی در ناحیه شکم نسبتاً خوب است. شکم نرم است و دیستانسیون ندارد. از نظر ارزیابی تکاملی شیرخوار لبخند می‌زند. صداهایی بی‌معنی بیان می‌کند. پدر و مادر خود را می‌شناسد و به طرف صدای بلند بر می‌گردد.

بلافاصله بعد از پذیرش، آزمایش خون، الکترولیت‌های سرم و گازهای خون شریانی انجام شد که نتیجه آزمایشات، موید هیپوکالمی و اسیدوز متابولیک بوده است. نتایج مطالعات آزمایشگاهی در جداول ۱ تا ۳ آمده است.

بحث

بیمار شیرخوار مبتلا به رنال توبولر اسیدوزیس است که به دنبال آن دچار هیپوکالمی شده است و به دلیل تغذیه ضعیف و استفراغ به بیمارستان آورده شده است. رنال توبولر اسیدوزیس دیستال نوع کمیابی از بیماریهای کلیه است که جزء اسیدوزهای متابولیک غیرآنیونی همراه با هیپوکالمی تقسیم بندی می شود. روش معمول برای تقسیم بندی این بیماری مطابق جدول شماره ۴ صورت می گیرد.

جدول شماره ۴: تقسیم بندی رنال توبولر اسیدوزیس

نوع	تقسیم بندی رایج	تقسیم بندی پاتولوژیک
I	RTA دیستال یا کلاسیک (هیپوکالمیک)	کاهش دفع NH_4 به وسیله پمپ ATPase
II	RTA پروگزیمال	کاهش جذب مجدد بیکربنات
III	RTA دیستال با دفع بیکربنات	؟
IV	نوع هیپرکالمیک	کاهش دفع NH_4
بقیه	نوع ناکامل RTA	کاهش نهفته دفع NH_4 یا زیاد بودن NH

در نوع I و II نقص لوله ای منجر به چهار خصیصه ذیل می گردد: اولاً اسیدوز متابولیک، ثانیاً برخلاف اغلب اسیدوزهای دیگر که همراه با هیپرکالمی هستند در این دو نوع از رنال توبولر اسیدوزیس معمولاً هیپوکالمی وجود دارد، ثالثاً برخلاف اسیدوزهای متابولیک دیگر که ادرار اسیدیته بیشتری پیدا می کنند در موارد یاد شده به دلیل نقص توبولی، ادرار قلیایی است و یا لاقل به طور بارزی اسیدی نمی شود. در نوع I به علت اثر بافری استخوان در حالت اسیدوز، کلسیم و فسفات بیشتری در گلوامرول های کلیه فیلتره می شود. این اختلال همراه با وجود شرایط غیراسیدی ادرار می تواند سبب رسوب کلسیم و فسفر و ایجاد نفروکلسیون و نفرولیتاز گردد. کمبود سیترات ادرار به علت هیپوکالمی مزید بر علت است. در نوع II هیپوکلسیوری چندان شدید نیست و لذا نفروکلسیون و نفرولیتاز در آن شایع نیست ولی به علت هیپرفسفاتوری قابل توجه، نرمی استخوان در نوع II بیماری به مراتب بیشتر از نوع I است (۳). رنال توبولر اسیدوزیس نوع II، پروکسیمال است که به علت عدم توانایی توبول های پروکسیمال در بازجذب بیکربنات ایجاد می شود (۴). نوع III از سه نوع دیگر آن نادرتر است و ترکیبی از نوع I و II است که با علایم

جدول ۱: نتایج آزمایش هماتولوژی

مقادیر طبیعی	نتایج بیمار	آزمایش
۴/۳-۵/۵	۳/۵۸	RBC
۱۳-۱۷/۵	۱۰/۴	Hgb
۴۰-۵۲	۲۸/۸	Hct
۱۴۰۰۰-۴۵۰۰۰	۵۱۷۰۰	Platelet
۰-۱۰	۳۶	ESR
۳/۵-۵/۳	۲	K

جدول ۲: کامل ادرار

نتایج بیمار	آزمایش
Positive(+)	Blood/Hgb
متعدد	WBC
جزئی	Bacteria
۴-۵	RBC
۷-۸	Epithelial cell

جدول ۳: گازهای خون شریانی

نتایج بیمار	آزمایش
۷/۳۲	PH
-۵/۹	BE
۱۸/۱	CO2
۱۷/۳	HCO3
۱۱۳	PO2
۲۷	PCO2

در اولتراسونوگرافی کلیه و مثانه و مجاری ادراری، تصویر مدولاری نفروکلسیونوزیس دو طرفه در هر دو کلیه مشهود بود اما در مثانه مورد غیرطبیعی دیده نشد. نتایج الکتروکاردیوگرافی و رادیوگرافی قفسه سینه نیز طبیعی بودند. کودک به محض بستری به علت استفراغ و احتمال آسپیراسیون ناشتا شد و پانصد میلی لیتر سرم دکستروز سالین (یک سوم دوسوم) در ۲۴ ساعت همراه با ۵ میلی لیتر کلراید پتاسیم تجویز شد. پس از دو روز سرم قندی نمکی به سرم قندی همراه با ۱۵ میلی اکی والان سدیم کلراید و ۱۰ میلی اکی والان کلراید پتاسیم تغییر یافت. شربت پلی سیترات پتاسیم ۲ میلی لیتر سه بار در روز تجویز شد و شیرخوار پس از چهار روز بستری در بخش جنرال با شرایط عمومی خوب با نظر پزشک مربوطه مرخص گردید. برای نفروکلسیونوزیس بیمار در این سن اقدام درمانی خاصی انجام نشد و به توصیه پزشک شیرخوار هر ماه برای ادامه روند درمانی به مطب مراجعه کند.

مانند (استازولامید). علت بروز نوع IV در اکثر موارد، کاهش ترشح هورمون آلدوسترون بنده است و این حالت نیز غالباً ناشی از کاهش ترشح هورمون رنین است. بنابراین افتراق بین رنال توبولر اسیدوزیس با سایر بیماری‌ها مانند تیروتوکسیکوز، هیپرآلدسترونسم و گاستروانتریت مهم است زیرا درمان آنها با هم متفاوت است و این امر می‌تواند سبب تشدید هیپوکالمی رنال توبولر اسیدوزیس می‌شود (۷). درمان در هر دو نوع I و II، تصحیح اسیدوز با تجویز قلیایی است. تصحیح اسیدوز منجر به اصلاح تعادل یونهای دیگر از جمله کلسیم و فسفر می‌شود. بهتر است برای تصحیح هیپوکالمی مقداری از قلیای تجویز شده دارای ملح پتاسیم باشد.

نتیجه گیری

افتراق بین رنال توبولر اسیدوز با سایر بیماری‌ها مانند گاستروانتریت مهم است زیرا درمان آنها با هم متفاوت است و این امر می‌تواند سبب تشدید هیپوکالمی در این بیماری شود.

References

1. Kelepouris E, Agus Z S, Overview of renal tubular acidosis. Retrieved from: <http://www.uptodate.com/contents/overview-of-renal-tubular-acidosis>, 2008.
2. Batlle D, Moorthi KM, Schlueter W, Kurtzman N. Distal renal tubular acidosis and the potassium enigma. *Semin Nephrol* 2006; 26(6):471-478.
3. غفارپور مجید، دهقان قربانعلی نژاد. گزارش مواردی از رنال توبولر اسیدوز با تظاهرات عصبی، مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی تهران، ش ۲ و ۳ (۱۳۷۵)، ص ۴۴-۳۹.
4. Quigley R. Proximal renal tubular acidosis. *J Nephrol* 2006; 19 (Suppl 9): S41-S45.

اسیدوز متابولیک، هیپوکالمی، استئوپروزیس، کلسیفیکاسیون مغزی و عقب ماندگی ذهنی همراه است. نوع IV رنال توبولر اسیدوزیس هیپرکالمیک نامیده می‌شود که به علت نقص در آلدوسترون ایجاد می‌گردد. مطالعه Brenner و همکاران نشان داد نوع I در افراد بالاتر از ۱۸ سال و بیشتر در جنس مؤنث دیده می‌شود (۵). نوع II بیشتر در سنین پایین تر از ۱۸ سال و در جنس مذکر دیده می‌شود (۶).

عوامل متعددی باعث ایجاد رنال توبولر اسیدوزیس نوع I می‌شود. در بالغین شایع‌ترین علل را بیماری ای خود ایمنی مانند سندرم شوگر (Sjogren) و آرتریت روماتوئید تشکیل می‌دهد. شایع‌ترین علل رنال توبولر اسیدوزیس نوع I در اطفال را علل ارثی و بیماری‌های ژنتیکی شامل می‌شوند. انواع متعددی از بیماری‌های ارثی یا اکتسابی باعث نوع II در اطفال نوع ایدیوپاتیک و ثانویه به بیماری سینوستوزیس (Cystinosis) و در بالغین نیز شایع‌ترین علت بیماری مِلوم مولتیپل و استفاده از مهار کننده‌های آنزیم کربونیک آن هیدراز

5. Brenner RJ, Spring DB, Sebastian A, McSherry EM, Genant HK, Palubinskas AJ, et al. Incidence of radiographically evident bone disease, nephrocalcinosis, and nephrolithiasis in various types of renal tubular acidosis. *N Engl J Med* 1982; 307(4):217-221.
6. Chan JC. Renal tubular acidosis. *J Pediatr* 1983; 102(3):327-340.
7. Proximal renal tubular acidosis: Renal tubular acidosis - proximal; Type II RTA; RTA - proximal; Renal tubular acidosis type II. Last reviewed: December 19, 2011 Retrieved from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0001527/>

گزارش مورد

بروز هایپرترمی بدخیم در عمل جراحی تثبیت آرنج

سید علی موسوی مهاجر*^۱، امین حسن زاد^۱، دکتر محمد احمدی^۲

۱. دانشجوی بیهوشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

۲. متخصص بیهوشی و مراقبت‌های ویژه دانشگاه علوم پزشکی گلستان

* نویسنده مسئول: سید علی موسوی مهاجر

نشانی: دانشگاه علوم پزشکی گلستان

چکیده

مقدمه: هایپرترمی بدخیم (MH) یکی از عوارضی است که تحت شرایط بیهوشی رخ می‌دهد و اولین بار در سال ۱۹۶۰ گزارش شده است. نام دیگر این بیماری هایپرپیراکسیا بدخیم (Malignant HyperPyrexia) است. هایپرترمی بدخیم بعلمت بیماری عصبی-عضلانی (Autosomal Dominate) همراه با آزاد شدن کلسیم (Ca^{2+})، داروهای استنشاقی بیهوشی است.

معرفی مورد: مورد گزارش شده آقای است ۲۱ ساله با کلاس ASA2، که دارای سابقه تشنج بوده و تحت درمان با داروی کاربامازپین قرار داشته است. بیمار برای تثبیت آرنج به اتاق عمل مراجعه کرده بود. بیمار هیچ‌گونه سابقه بیماری زمینه‌ای و حساسیت به داروی خاصی را نداشته است. القای بیهوشی توسط نسدونال، فنتانیل و ساکسینیل کولین صورت پذیرفت. بیمار بعد ۳۰ دقیقه دچار تعریق، افزایش قند خون، فشار خون و ضربان قلب شد که نشان از هایپرترمی بدخیم می‌دهد.

نتیجه‌گیری: با توجه به ماهیت تهدیدکننده زندگی هایپرترمی بدخیم و امکان آن حتی در موارد با سابقه منفی در اعمال جراحی اورتوپد، پایش مداوم بیمار و شرح حال دقیق همواره در تشخیص سریع‌تر و کاهش عوارض هایپرترمی بدخیم نقش بسزایی دارد.

کلید واژه‌ها: هایپرترمی بدخیم، تثبیت، آرنج

مقدمه

هایپرترمی بدخیم (MH) یکی از فعالیت‌های بدن در زیر بیهوشی که اولین بار در سال ۱۹۶۰ گزارش شده است. نام دیگر این بیماری هایپیراکسیا بدخیم (Malignant HyperPyrexia) است (۱). در سال ۱۹۷۷ شماری از متخصصین بیهوشی در دانمارک موسسه‌ای برای هایپرترمی بدخیم تاسیس کردند که هدف این موسسه جمع آوری اطلاعات درباره این بیماری است (۲). هایپرترمی بدخیم به علت بیماری عصبی-عضلانی (Autosomal Dominate) همراه با آزاد شدن کلسیم (Ca^{2+})، داروهای استنشاقی بیهوشی که یکی از مهمترین علت مرگ در این بیماران با تعداد ۱:۱۵۰۰۰ در دنیا گزارش شده است (۳) (۴). از علتهای وجود آمدن این بیماری اشاره به اختلالات فارماکوژنتیک همراه افزایش متابولیسم عضلات اسکلتی، رژیدیتی اندام، رابدمیولیز (۳) و افزایش سریع دمای بدن (۳) (۵) و عوامل وراثتی مثل گیرنده‌های ریانودین (Ryanodine) و پروتئین‌هایی که به شکل SR که به تعداد ۱:۱۴۰۰۰ (۵) در دنیا اعلام شده است (۳). این بیماران دچار هایپرمتابولیسم، افزایش نمک خون و از بین رفتن تعادل PH به همراه بیماری عصبی-کبدی و آسیب‌های کلیه است (۴). طی مقالات گزارش شده تا به امروز تست تشخیصی برای این بیماران یافت نشده است اما طی شواهد می‌توان از تست انقباضی هالوتان/کافئین برروی عضلات اسکلتی است و در مطالعات اخیر گزارش شده است که تنها کروموزمی که سبب وجود آمدن MH می‌شود کروموزوم 19q13.1 است. (۵) (۶)

معرفی مورد

مورد گزارش شده آقایی است ۲۱ ساله به نام م. گ. و با کلاس ASA2، که دارای سابقه تشنج بوده و تحت درمان با داروی کاربامازپین قرار داشته است. بیمار هیچگونه سابق بیماری زمینه‌ای و حساسیت به داروی خاصی را نداشته است اما در ۲ روز قبل از عمل جراحی اصلی برای پین گذاشتن در ناحیه ساعد، وارد اتاق عمل شده و بیهوشی عمومی با ماسک را دریافت کرده بود که برای بیهوشی از داروهای تیوپنتال سدیم و میدازولام و فنتانیل استفاده شده بود. بیمار برای تثبیت آرنج مجدداً به اتاق عمل بیمارستان پنج آذر مراجعه کرده بود. بیمار بیهوشی عمومی گرفت و برای شروع بیهوشی از داروهای

نسدونال، فنتانیل و ساکسینیل کولین استفاده شد. بیمار بعد از ۲ دقیقه پره اکسیژنه شدن لارنگوسکوپ شد و زیر ونتیلاتور قرار گرفت و برای ادامه بیهوشی از داروهای ایزوفلوران، نیتروس اکساید و اکسیژن و آتراکوریوم استفاده شد که آتراکوریوم هر ۲۵ دقیقه تکرار می‌شود. بیمار در طول عمل تحت مانیتورینگ شامل، پالس اکسی‌متری، الکتروکاردیوگرام، فشارسنج غیر تهاجمی بود که بعد از ۳۰ دقیقه، در حین جراحی بیمار دچار تعریق شدید شد که طبق نظر متخصص بیهوشی ایزوفلوران قطع شد و برای ادامه بیهوشی بیمار از داروی پروپوفول استفاده کردند در زمان تعریق شدید علائم حیاتی بیمار که شامل میزان اشباع اکسیژنی بیمار ۹۹٪، ضربان قلب بیمار بین ۱۱۰ تا ۱۲۰ و فشار خون بیمار ۱۱۰/۷۰ متغیر بود. ابتدا به بیمار مخدر تزریق شد تعریق بیمار کمتر شد ولی برطرف نشد و بعد از آن قند خون بیمار چک شد و ۲۹۰ گزارش شد و برای اطمینان بیشتر از این میزان، دوباره قند بیمار را چک کردند که دستگاه همان میزان قند را نشان می‌داد و بعد از اندازه‌گیری مجدد، بلافاصله به بیمار ۵ واحد انسولین زیرجلدی زده شد و برای بار آخر قندخون بیمار اندازه‌گیری شد که این میزان به ۲۷۰ رسید و تعریق بیمار ادامه یافت اما علائم حیاتی بیمار دچار تغییر خاصی نشده بود که ناگهان ضربان قلب بیمار به صفر رسید که در وهله اول متخصص بیهوشی احساس می‌کند که ممکن است لیدها از بدن بیمار جدا شده است اما بعد از اطمینان از لیدها، متخصص متوجه ارست قلبی بیمار شده و CPR به همراه یکی دیگر از متخصصین بیهوشی صورت گرفته و بعد از ۱۰ دقیقه بیمار به حالت اولیه برمی‌گردد و در این حین از بیمار ABG بعمل آمده که نشان دهنده $Pco2:120$ و $Po2:180$ بوده است. در حین رسیدگی به وضعیت بیمار، مشاور قلب اورژانسی هم انجام گرفته و از بیمار اکو بعمل آمد که در حین انجام اکو بیمار مجدداً ارست قلبی کرده و بعد از یک ساعت و ۳۰ دقیقه CPR موفقیت آمیز نبوده و بیمار فوت می‌نماید. در حین CPR دکتر اورتوپد معالج اشاره به رژیدیتی و سختی اندام کرد و با توجه به علائم موجود و با مشورت با دیگر متخصصین بیهوشی، بیمار دچار هایپرترمی بدخیم شده است. که بعد از بررسی‌های مجدد از ایرادهای موجود نشان داده شد که راه خروجی

دستگاه بیهوشی بسته بوده است و بیمار در طول عمل هوای بازدمی خود را استنشاق میکرده است.

علائم حیاتی قبل از عمل

دمای بدن	۳۷
نبض	۸۲
تنفس	۱۸

آزمایشات قبل از عمل

WBC	7700
RBC	4.76
Hb	14.1
Hct	41.9%
PLT	212
FBS	110mg/dl
Creatinine	1mg/dl
BUN	10mg/dl
Sodium	135mEq/L
Potassium	4mEq/L

ABG بعد از عمل

Po2	180
Pco2	120
PH	7.10

بحث:

هایپرترمی بدخیم یک میوپاتی تحت بالینی یا بر اثر فارموکولوژنتیک (۱۸) است که می تواند توسط هوشبرهای استنشاقی مثل هالوتان و سووفلوران و ساکسینیل کولین و علائمی دیگری همچون استرس، ورزش های سنگین و حرارت (۱۸) ایجاد شود. این سندرم با آریتمی، سفتی عضلات، اسیدوز متابولیک و تنفسی، افزایش دمای بدن و افزایش Cpk، میوگلوبینوری و اختلالات الکترولیکی مشخص می شود. (۱۸، ۸، ۷) علائم ساکسینیل کولین در ایجاد هایپرترمی بدخیم افزایش دمای بدن و آریتمی در بطن ها است که اگر این

پروسه ادامه یابد سبب ایجاد سفتی جنرالیزه در اندام های بدن و در نهایت سبب ایست قلبی همراه با افزایش پتاسیم، افزایش کلر در ادرار و افزایش کراتینین است (۱۸). تشخیص هایپرترمی بدخیم با ۳ فاکتور است:

۱- افزایش دمای بدن ۱ درجه سانتی گراد هر ۱۵ دقیقه

۲- Base Excess < ۵ میلی اکسی والان

۳- Paco2 < ۶۰ میلی لیتر

که هر سه مورد در بیمار فوق وجود داشته است. پاتوفیزیولوژی هایپرترمی بدخیم مربوط به اختلالات هموستاز بدن در عضلات اسکلتی است (۹، ۷). همچنین حساسیت به هایپرترمی بدخیم ممکن است توسط اختلال ژنتیکی و موتاسیون در ژن رسپتور ریانورین (۱۰، ۵) که روی کروموزوم ۱۹ قرار گرفته ایجاد شود (۱۱، ۷، ۶، ۵). اما ۳-۷۵ درصد بیمارانی که هایپرترمی بدخیم دارند اختلال ژنتیکی و موتاسیون در رسپتور ژن ریانودین ندارند. بنابراین بنظر میرسد ایجاد هایپرترمی بدخیم نه تنها با اختلال ژنتیکی همراه است بلکه سایر عوامل هم دخیل هستند. (۱۲) Strazis و همکارانش حدود ۵۰۳ بیمار با هایپرترمی بدخیم را گزارش نمودند که در حدود ۲۰/۹ درصد موارد بیهوشی قبلی بدون عارضه داشتند (۱۳). Britt و همکارانش نشان دادند که عدم وجود عارضه در بیهوشی قبلی، هایپرترمی بدخیم را رد نمی کند (۱۴). بیمارانی فوق در بیهوشی قبلی حدود ۲۵ دقیقه هالوتان گرفته بود و در این بیهوشی حدود ۷۵ دقیقه هالوتان گرفت پس طول مدت تماس با هالوتان به همراه ساکسینیل کولین می تواند ۲ فاکتور مهم در ایجاد هایپرترمی بدخیم باشد. تغییر در متابولیسم یون کلسیم در اثر ساکسینیل کولین ممکن است با استنشاق هالوتان شدید شود که توجه می کند چرا هایپرترمی بدخیم پس از ۷۵ دقیقه ایجاد می شود. افزایش فشارخون و ضربان قلب نیز می تواند مربوط به افزایش متابولیسم یون کلسیم باشد. بنابراین در این مورد بنظر می رسد سوکسینیل کولین و هالوتان هر دو سهم باشند. تشخیص های افتراقی در این مورد شامل هیپرترمی بدخیم، سپسیس، هیپووتیلیسیون و سندروم نورولپتیک بدخیم است. نتایج کشت های خون منفی تشخیص سپتی سمی را رد کرد. همچنین بیمار دارویی نمی گرفت که بنفع سندروم نورولپتیک بدخیم باشد و همچنین

استفاده از سوکسینیل کولین و هالوتان به مدت طولانی تر دچار هیپرترمی بدخیم گردید که در این موارد مصاحبه و آگاهی دادن کامل به اطرافیان خانواده فرد حساس به هیپرترمی بدخیم سبب پیشگیری و کاهش عارضه هیپرترمی بدخیم می شود. با توجه به این که هیپرترمی بدخیم فقط تحت تاثیر عوامل ژنتیک نبوده و سایر عوامل هم در آن دخیل بوده است بنابراین عدم وجود عارضه در بیهوشی قبلی، این بیماری را رد نمی کند، پس پایش مداوم بیمار و شرح حال دقیق همواره در تشخیص سریع تر و کاهش عوارض هیپرترمی بدخیم تاثیر بسزایی دارد. (۱۵ و ۱۶)

بخاطر تنفس مکانیکی، هیپوونتیلاسیون رد شد. وجود هیپرکاری، اسیدوز و افزایش دما، هیپرترمی بدخیم را می رساند (۱۵). اگرچه تایید تشخیص فقط با بیوپسی عضله است ولی این تست در مواردی که تشخیص قطعی باشد غیر ضروری است (۱۶). در درمان هیپرترمی بدخیم هدف قطع عامل شروع کننده، تصحیح افزایش دما و اختلالات الکترونیکی است. دانترولن هم با جلوگیری از آزادسازی یون کلسیم نقش مهمی در درمان دارد که در مورد این بیمار استفاده گردید (۱۷). باتوجه به این که هیپرترمی بدخیم یک بیماری اتوزوم غالب است (۱۶) می توان گفت که بیماری فوق یک مورد هیپرترمی بدخیم ارثی است که در عمل قبلی خود با هالوتان مشکلی نداشت ولی در عمل اخیر خود بدنال

References

- 1.P.M.Hopkins.Malignant Hyperthermia:Advances in clinical managment and diagnosis.Br J Anaesth2000;85:118-28.
2. Helle Ording. Incidence of Malignant Hyperthermia in Denmark. Anesth Analg 1985;64:700-4.
3. Michael Fill,Roberto Coronado,James R. Mickelson,et al. Abnormal ryanodine receptor channels in malignant hyperthermia. Biophys. J. c Biophysical Society Volume 50 March 1990 471-475.
4. ELIZABETH F. GILLARD, KINYA OTS,u JUNICHI FuJii,et al. A Substitution of Cysteine for Arginine 614 in the Ryanodine Receptor Is Potentially Causative of Human Malignant Hyperthermia. GENOMICS 11, 751-755 (1991).
5. R. C. LEVITT, A. OLCKERS, S. MEYERS,et al. Evidence for the Localization of a Malignant Hyperthermia Susceptibility Locus (MHS2) to Human Chromosome 17q. GENOMICS 14, 562-566 (1992).
- 6.A. Urwyler, T. deufel, T.McCarthy and et al.Guidline for molecular genetic fetection susceptibility to Malignant Hyperthermia.Br J of Ananesthesia 86(2): 283-7 (2001).
- 7.Geonert GA, Antogini JE, Pessah IN.Malignant Hyperthermia.In:Miller RD,editor.Anesthesia,6th ed.Philadelphia :Churchill livingstone Inc,2005.P:1169-91.
- 8.Larach MG,Localio AR, Allen GC,Denborough MA. A clinical scale to predict malignant hyerthermia susceptibility. Anesthesiology. 1994; 80:771-9.
- 9.Lopez JR,Allen PD, Alamo L, et al.Myoplasmic free Ca²⁺ during a malignant hyperthermia episode in swine. Muscle

- nerve.1988; 82-88.
- 10.Fill M, Cponodo R,Mickelson JR.Abnormal ryanodine receptore channals in malignant Hyperthermia.Biophys J.1990; 57: 471-475.
- 11.MC carthy TV, Healy JMS, Heffron JA et al.Localization of the malignant hyperthermia susceptibility locus to human chromosome 19q.Nature. 1990; 343: 562-4.
- 12.Kikuchi H, Mechanism of Malignant hyperthermia : examination and threathment.Nihon Ijishinpo(Jpn) 1997;3812: 11-6
- 13.Koduh A, Kikuchi A,Wake yama S.malignant hyperthermia triggered by isofelorange and suxamethonium. J Anesth. 1998; 13: 181-4.
- 14.Britt BA, Malignant hyperthermia. Can Anesth Soc J.1985; 32: 666-7
- 15.Jorkat Rott K, MC carthy T, Lehman Horn F.Genetic and pathogenesis of malignant hyperthermia.muscle nerve. 2000; 23:4-17.
- 16.Rosenberg H, Reeds S.Invivo contracture tests for susceptibility to malignant hyperthermia. Anesth analg. 1983; 62: 412-20.
- 17.Britt BA.Dantrolen. Can Anesth Soc J.1984; 31: 61-75.
18. Kenji Yamada, Tadao Okada, Shohei Honda, et al. Post-Operative Malignant Hyperthermia Complicated by Rhabdomyolysis: Case Report. Surgical Science, 2012, 3, 89-92.

ترجمه

نقش فاکتورهای ژنتیکی در بیماری‌های قلبی - عروقی

مترجم: ایوب خسروی

دانشجوی دکتری تخصصی پزشکی مولکولی

دانشکده فن‌آوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

مقدمه

در این مقاله در نظر داریم مطالب مفیدی را در خصوص نقش فاکتورهای ژنتیکی در بیماری‌های قلبی-عروقی بیان نمائیم. هر چند دلایلی مبنی بر ماهیت وراثتی این بیماری‌ها نیز در دست است.

ناهنجاری‌های قلبی - عروقی تک ژنی:

بیشتر اطلاعات ما از بیماری‌های قلبی-عروقی براساس پاتوفیزیولوژی این بیماری‌هاست و درباره مکانیسم ایجاد بیماری‌های تک‌ژنی اطلاعات اندکی داریم. برای درک بهتر این موضوع به بررسی اساس ژنتیکی تعدادی از بیماری‌ها می‌پردازیم.

ارزیابی میزان LDL و بیماری شریان کرونر:

مولکول (LDL (Low-density lipoprotein، لیوپروتئین اصلی حمل‌کننده کلسترول در پلاسما و عامل اشکال مختلفی از بیماری‌های کرونر قلب محسوب می‌شود (تصویر ۱). در چهار بیماری تک ژنی، فعالیت گیرنده‌های کبدی LDL (LDLRs) که بطور طبیعی LDL را از پلاسما خارج می‌کنند، مختل شده و سطح پلاسمایی LDL بالا می‌رود (جدول ۱).

بیماری هایپرکلسترولمی فامیلی (Familial hypercholesterolemia) اولین ناهنجاری تک‌ژنی است که نقش آن در افزایش سطح پلاسمایی LDL آشکار شده است. الگوی توارث این بیماری غالب اتوزومی است. عامل اصلی بیماری هایپرکلسترولمی فامیلی کمبود گیرنده‌های کبدی LDL است، البته بیش از ۶۰۰ نوع جهش نیز در ژن LDLR (LDLR gene) افراد مبتلا شناسایی شده است (۵). دست کم از هر ۵۰۰ نفر ۱ نفر نسبت به یکی از این جهش‌ها هتروزیگوت است، در حالیکه از هر یک میلیون نفر ۱ نفر ممکن است نسبت به همان جهش هموزیگوت باشد. تعداد گیرنده‌های LDL در افراد هتروزیگوت نصف افراد طبیعی و سطح LDL آنان ۲-۳ برابر افراد طبیعی است، در حالیکه سطح LDL در افراد هموزیگوت ۱۰-۶ برابر افراد طبیعی برآورد می‌شود. افراد هموزیگوت بیماری تصلب شریان شدید (severe coronary atherosclerosis) دارند و معمولاً در دوران کودکی بر اثر سکنه قلبی می‌میرند. نقص در انتقال لیوپروتئین جذب کلسترول و سنتز LDL را افزایش می‌دهد.

جدول ۱: بیماری‌های تک ژنی که سطح پلاسمایی LDL را افزایش می‌دهند

بیماری	ژن جهش یافته	مکانیسم مولکولی	میزان تقریبی کلسترول پلاسما (mg/dl)
هایپرکلسترولمی فامیلی هموزایگوس هتروزیگوس	LDLR	گیرنده قادر به جذب کلسترول نیست	300 650
بیماری نقص لیگاند فامیلی APOB-100 (Familial ligand-defective apolipoprotein B-100)	APOB-100	آپولیپوپروتئین B-100 قادر نیست به گیرنده LDL متصل شود	275 325
هایپرکلسترولمی مغلوب اتوزومی	ARH	اختلال در فعالیت گیرنده LDL	450
سیواسترولیما	ABCG5 و ABCG8	تولید فاکتورهای رونویسی تنظیم کننده ستر و دفع کلسترول کبدی متوقف می‌شود	150-650

* برای تبدیل این اعداد به میلی مول بر لیتر آنها را در 0.02586 ضرب نمائید

هایپرکلسترولمی فامیلی هموزیگوس بالا می‌برد. اغلب افراد مبتلا به هایپرکلسترولمی در جامعه علت بیماری را رژیم‌های غذایی پرچرب و اطلاعات اندک در خصوص استعداد چاقی و ژنهای معیوب می‌دانند. مطالعه ناهنجاری‌های تک ژنی، اختلال در مسیرهای گیرنده LDL مانند نمونه‌های فوق، بیانگر اهمیت مسیرهای سنتز و دفع کلسترول در کبد هستند و هدفهای مولکولی مهمی برای کنترل سطح پلاسمایی کلسترول می‌باشند. بعنوان مثال درمان هایپرکلسترولمی با استاتین (statin) نتیجه درک اساس مولکولی این ناهنجاری است.

فشار خون: فشار خون بالا با شیوع حدود ۲۰ درصدی شایعترین بیماری کشورهای صنعتی محسوب می‌شود. فشار خون بالا با بسیاری از بیماریهایی نظیر سکته ناقص، انفارکتوس میوکارد (myocardial infarction) و نقص کلیه (renal failure) مرتبط است. تعداد زیادی از مطالعات کارآزمایی بالینی نشان داده اند که کاهش فشارخون میزان بروز سکته ناقص و انفارکتوس میوکارد را کاهش می‌دهد (۱۰). عوامل ژنتیکی و محیطی متعددی مطالعه تغییر فشارخون در جامعه را با دشواری مواجه ساخته‌اند. در عوض مطالعه جهشهای موجود در ژنهای منفرد نادری که باعث تغییر فشارخون شده و از الگوی وراثت مندلی تبعیت می‌کنند، بسیار مثمرتر است (جدول ۲).

بعنوان مثال جهش‌های مربوط به ژن APOB-100، که آپولیپوپروتئین B-100 را کد می‌کند، اتصال آپولیپوپروتئین B-100 به گیرنده LDL و تصفیه LDL پلاسمایی را کاهش میدهند و باعث بیماری نقص لیگاند فامیلی APOB-100 می‌شوند (۶). از هر ۱۰۰۰ نفر یک نفر نسبت به جهش‌های مربوط به ژن APOB-100 هتروزیگوس است. پروفایل لیپیدی و بیماری کلینیکی این افراد شبیه به افراد مبتلا به هایپرکلسترولمی فامیلی هتروزیگوت است. سیتواسترولمیا (Sitosterolemia) ناهنجاری اتوزومی نادری است که بخاطر جهش در ژنهای سازنده ABC G5 و ABC G8 و از دست رفتن عملکرد آنها حاصل می‌شود. محصول طبیعی این ژنها مولکول‌های انتقال‌دهنده کاست مانند متصل شونده به ATP (ATP-binding cassette (ABC) transporters است که همراه با هم در جهت خارج نمودن کلسترول به داخل فضای روده و در نتیجه کاهش جذب آن عمل می‌نمایند (۷ و ۸).

هایپرکلسترولمی یک بیماری اتوزومی مغلوب بسیار نادر است (کمتر از یک مورد در هر ۱۰ میلیون نفر). علت مولکولی این بیماری احتمالاً وجود نقص در یک پروتئین آداپتور کبدی است که سبب می‌شود LDL پلاسمایی نتواند از طریق گیرنده‌های LDL خارج شود (۹). وجود جهش در ژن سازنده پروتئین ARH سطح LDL پلاسمما را به اندازه بیماران مبتلا به

جدول ۲: بیماری‌های تک ژنی که سبب افزایش یا کاهش فشار خون می‌شوند.*

نام بیماری	نوع جهش	مکانیسم مولکولی	فشار خون
آلدوسترونیسم قابل درمان گلوکوکورتیکوئید Glucocorticoid-remediable aldosteronism	مضاعف شدن ژنهای سازنده آلدوسترون سنتاز aldosterone synthase و ۱۱ بتا- هیدروکسیلاز توسط کراسینگ اوور نامتعادل	بیان اکتوپیک (Ectopic expression) پروتئینی با فعالیت آلدوسترون سنتازی که توسط کورتیکوتروپین تنظیم شده و باعث افزایش حجم پلاسمای می‌گردد	افزایش فشار خون
کمبود آنزیم آلدوسترون سنتاز	جهش در ژن سازنده آلدوسترون سنتاز	فعالیت ناقص آنزیم آلدوسترون سنتاز سبب کاهش حجم پلاسمای می‌شود	کاهش فشار خون
کمبود آنزیم ۲۱-هیدروکسیلاز (21- Hydroxylase deficiency)	جهش در ژن سازنده آنزیم ۲۱-هیدروکسیلاز	فقدان آلدوسترون در گردش خون سبب کاهش حجم پلاسمای می‌شود	کاهش فشار خون
فرونی مشهود مینرالوکورتیکوئید (mineralocorticoid)	جهش در ژن سازنده ۱۱ بتا-هیدروکسیلاز	فقدان آلدوسترون در گردش خون سبب کاهش حجم پلاسمای می‌شود	افزایش فشار خون
افزایش فشار خون ناشی از حاملگی	جهش در ژن سازنده دمین متصل شونده به لیگاند گیرنده مینرالوکورتیکوئید	فعال شدن گیرنده مینرالوکورتیکوئید بوسیله استروئیدهای فاقد گروه های ۲۱- هیدروکسیل (21-hydroxyl groups) "بدلیل افزایش سطح پروژسترون در دوران حاملگی است"	افزایش فشار خون
سودوهایپوآلدوسترونیسم نوع (Pseudohypoaldosteronism type ۱) (غالب اتوزومی)	جهش های کاهش دهنده فعالیت Loss-Of- (function mutations) در گیرنده مینرالوکورتیکوئید	کاهش جزئی فعالیت گیرنده مینرالوکورتیکوئید سبب کاهش بازجذب نمک شده که با افزایش سن و استفاده از رژیم غذایی پر نمک بهبود می‌یابد	کاهش فشار خون
سندرم لیدل (Liddle's syndrome)	جهش در زیر واحد β یا δ ی ENaC	حذف دمین C-ترمینال ENaC که منجر به افزایش فعالیت آن می‌شود	افزایش فشار خون
سودوهایپوآلدوسترونیسم نوع ۱ (مغلوب اتوزومی)	جهش های کاهش دهنده فعالیت در زیر واحدهای ENaC	اختلال در زیر واحدهای ENaC که با فعال شدن گیرنده مینرالوکورتیکوئید توسط آلدوسترون و افزایش سن بهبود نمی‌یابد و نیاز به مکمل های پر نمک است	کاهش فشار خون
سندرم گیتلن (Gitelman's syndrome)	جهش های کاهش دهنده فعالیت در ژن کمک- ناقل (cotransporter) کلرید سدیم لوله خمیده دستال (distal convoluted tubule)	کاهش جذب نمک از لوله خمیده دستال سبب فعال شدن سیستم رنین- آنژیوتانسین می‌شود و متعاقباً با فعال شدن گیرنده مینرالوکورتیکوئید فعالیت ENaC افزایش می‌یابد و تعادل نمک برقرار می‌گردد.	فشار خون طبیعی یا کاهش فشار خون
سندرم بارتر Bartter's syndrome	جهش های کاهش دهنده فعالیت در ژنهای مورد نیاز جهت بازجذب نمک در لوله ظخیم صعودی هتله (thick ascending loop of Henle)	کاهش بازجذب نمک در لوله ظخیم صعودی هتله سبب فعال شدن سیستم رنین- آنژیوتانسین و گیرنده مینرالوکورتیکوئید شده و با افزایش فعالیت ENaC تعادل نمک برقرار می‌گردد.	فشار خون طبیعی یا کاهش فشار خون

* ENaC بیانگر کانال سدیمی سلول های اپی تلیال (epithelial sodium channel) است

فشارخون شدید یا فشارخون خیلی پائین (hypotension) باعث شناسایی جهشهای ژنهای تنظیم کننده این مسیرها شده است. هاپیوآلدوسترونیسم کاذب نوع ۲ بیماری غالب اتوزومی است که با افزایش فشارخون، افزایش پتاسیم خون (hyperkalemia) (هایپرکالمی)، افزایش بازجذب کلیوی نمک و اختلال در دفع یونهای پتاسیم و هیدروژن مشخص می گردد.

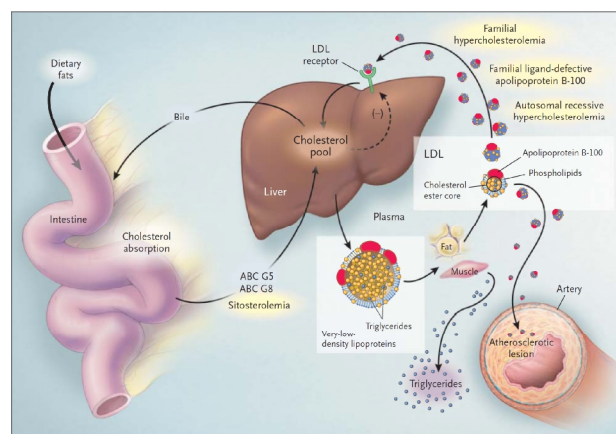
"ویلسون و همکارانش" دو ژن عامل هاپیوآلدوسترونیسم کاذب نوع ۲ را معرفی کردند که هر دوی آنها جزء سرین-ترئونین کینازهای خانواده WNK هستند (۱۲). جهشهای ژن WNK1 از نوع حذفهای ایترونی (intronic deletions) و بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۲ (12p) قرار دارند. جهشهای بدمعنی (Missense mutations) hWNK4 نیز بر روی کروموزوم ۱۷ قرار دارند و ایجاد هاپیوآلدوسترونیسم کاذب نوع ۲ می کنند.

سنجشهای مبتنی بر ایمنوفلورسنس (epithelial sodium channel) نشان داده اند پروتئینهای مجتمع در نفرونهای دیستال که ممکن است باعث افزایش هدایت درون سلولی کلراید (transcellular chloride conductance) شوند؛ سبب افزایش بازجذب نمک، افزایش حجم درون عروقی و کاهش ترشح یونهای پتاسیم و هیدروژن می گردند.

ناهنجاریهای مربوط به فعالیت آلدوسترون سنتاز باعث افزایش فشارخون یا کاهش شدید فشارخون می شوند. آلدوسترونیسم قابل درمان توسط گلوکوکورتیکوئید یک بیماری غالب اتوزومی است که در ابتدا خود را با افزایش فشارخون همراه با کاهش فعالیت آنزیم رنین و سطح آلدوسترون طبیعی یا افزایش یافته نشان می دهد. این فرم از آلدوسترونیسم حاصل مضاعف شدگی ژنی ناشی از کراسینگ اور نامتعادل است که بین دو ژن سازنده آنزیمهای مسیر بیوسنتز آدرنال-استروئید یعنی آلدوسترون سنتاز و ۱۱-بتا-هیدروکسیلاز اتفاق می افتد (۱۳).

فیلترهای کلیه روزانه بیش از ۱۸۰ لیتر پلاسما (حاوی ۲۳ مول نمک) را فیلتر می کنند و بیش از ۹۹ درصد سدیم فیلتر شده بازجذب می گردد. ابتدا لوله های پروکسیمال نفرون حدود ۶۰ درصد سدیم فیلتر شده را با تبادل یونهای سدیم-هیدروژن بازجذب می کنند. در حدود ۳۰ درصد سدیم را نیز لوله های ضخیم صعودی هنله بوسیله کمک انتقال دهنده های سدیم-پتاسیم-کلر (Na⁺-K⁺-2Cl⁻) جذب می کنند. لوله پیچیده دیستال

مرکز مولکول LDL از استر کلسترول و اطراف آن از مولکولهای فسفولیپید و آپولیپوپروتئین B-100 تشکیل شده است. کبد مولکولهای LDL را بصورت ذرات پیش ساز بزرگتری به نام VLDL (very-low-density lipoprotein) ترشح می کند که حاوی تری گلیسریدها و استرهای کلسترول هستند. مویرگهای داخل ماهیچه و بافت چربی تری گلیسریدها را حذف و ذره لیپیدی به LDL تغییر می یابد. مولکول LDL درون پلاسما گردش می کند و بخش آپولیپوپروتئین B-100 آن به گیرنده LDL سطح سلول کبدی متصل می شود. مولکول LDL متصل به LDLR به روش اندوسیتوز بواسطه گیرنده (receptor-mediated endocytosis) وارد سلول کبدی شده و در لیزوزوم تجزیه میگردد. یک چرخه فیدبک منفی (negative-feedback loop) تعداد گیرنده های LDL را تنظیم می کند. با افزایش سطح کلسترول سلولهای کبدی رونویسی از ژنهای LDLR مهار شده و مولکولهای LDL درون پلاسما باقی می ماند. برعکس، کاهش کلسترول سلولهای کبدی رونویسی از ژنهای LDLR را تحریک کرده و مولکولهای LDL پلاسما حذف می شوند. استاتین ها با مهار یک مرحله آنزیمی سنتز کلسترول در سلولهای کبدی از همین مکانیسم باعث کاهش LDL پلاسما می شوند. چهار بیماری تک ژنی افزایش دهنده LDL پلاسمایی با رنگ زرد مشخص شده اند و ABC هم مخفف ATP-binding cassette است.



تصویر ۱: اجزاء اصلی سنتز و دفع کلسترول

این جهش ها با اختلال در نقل و انتقال نمک در کلیه ها بستر مولکولی لازم برای درک بیماری زایی فشارخون را فراهم می نمایند (۱۱) (تصویر ۲). تحقیق بر روی خانواده های مبتلا به

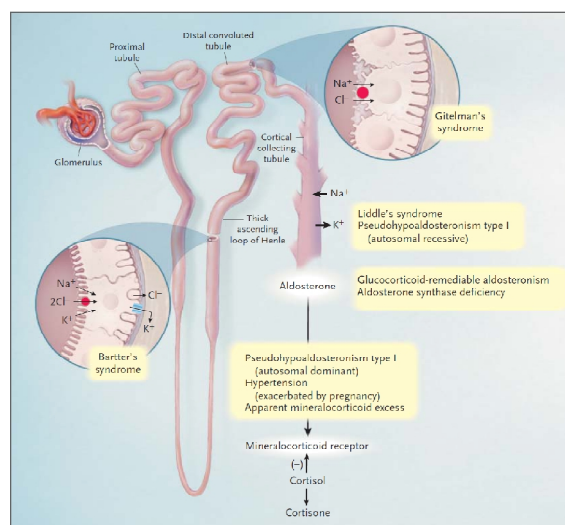
ترشح پیوسته آلدوسترون، افزایش حجم پلاسما، افزایش فشارخون و تعدیل سطح رنین می گردد. جهش هایی که سبب از دست رفتن فعالیت آلدوسترون سنتاز می شوند به تعادل نمک در کلیه و ترشح یونهای پتاسیم و هیدروژن در نفرون های دیستال صدمه می زند لذا با کاهش حجم درون عروقی سبب کاهش شدید فشارخون می شوند (۱۵).

جهش هایی که کانالها و انتقال دهنده های یونی کلیه را تغییر می دهند سبب ایجاد سندرم هایی چون لیدل، بارترو و گیتلمن می شوند. سندرم لیدل یک بیماری غالب اتوزومی است که با افزایش فشارخون، آلکالوز هایپو کالمی (hypokalemic alkalosis)، تعدیل فعالیت رنین و کاهش سطح پلاسمایی آلدوسترون شناخته می شود. علت این اختلالات به وجود جهش در کانالهای سدیمی سلولهای اپی تلیال بر میگردد (۱۶ و ۱۷).

سندرم گیتلمن بخاطر وجود جهشهای کاهش دهنده فعالیت در ژن سازنده کمک انتقال دهنده سدیم-کلراید حساس به تیازید (thiazide-sensitive sodium-chloride cotransporter) در لوله های پیچیده دیستال ایجاد می شود (۱۸). بیماران مبتلا به این سندرم معمولاً نوجوانان و جوانانی هستند که دارای علائم و نشانه های ماهیچه ای-عصبی، فشارخون پائین تر از حد طبیعی، سطح پائین منیزیم سرمی و پائین بودن کلسیم ادرار هستند.

سندرم بارترو حاصل جهش هایی است که ممکن است در هر سه ژن مربوط به بازجذب طبیعی نمک در لوله صعودی ضخیم هنله اتفاق افتند. وجه تمایز این سندرم با سندرم گیتلمن بالا بودن سطح کلسیم ادرار و سطح طبیعی یا کاهش یافته منیزیم سرمی است (۱۸). در این ناهنجاری های وراثتی تعادل پایه نمکی (net salt balance) با میزان فشارخون ارتباط مستقیم دارد. لذا اهداف جدیدی همچون کانال سدیمی سلولهای اپی تلیال، سایر کانالهای یونی و WNK کینازها برای درمان فشارخون بالا شناخته شده اند.

حدود ۷ درصد سدیم را بوسیله کمک انتقال دهنده های سدیم-کلراید بازجذب کرده و ۳ درصد سدیم فیلتر شده مابقی هم بوسیله کانال های سدیمی سلول های اپی تلیال واقع در لوله های جمع آوری کننده بخش کورتیکال (cortical collecting tubule) بازجذب می شوند. سیستم رنین-آنژیوتانسین فعالیت کانالهای سدیمی سلولهای اپی تلیال را به دقت تنظیم می کند. کاهش تحویل سدیم به لوله هنله منجر به ترشح رنین توسط بخش گلومرولی مجاور کلیه (juxtaglomerular apparatus of the kidney) می شود. رنین با اثر بر روی آنژیوتانسینوژن آن را تبدیل به آنژیوتانسین ۱ کرده که متعاقباً توسط آنزیم مبدل آنژیوتانسین موجود در ریه ها به آنژیوتانسین ۲ تبدیل می شود. آنژیوتانسین ۲ با اتصال به گیرنده اختصاصی خود در بخش گلومرولی غده فوق کلیه (adrenal glomerulosa) ترشح آلدوسترون را تحریک می نماید. آلدوسترون با اتصال به گیرنده خود در نفرون دیستال باعث افزایش فعالیت کانالهای سدیمی سلولهای اپی تلیال و بازجذب سدیم می شود. بیماریهای تک ژنی تغییر دهنده فشار خون به رنگ زرد نشان داده شده اند.



تصویر ۲: مکانیسم های مولکولی عامل بازجذب نمک در کلیه ها و بیماری های تک ژنی عامل افزایش فشارخون مرتبط با آنها

References

1. NHLBI morbidity and mortality chartbook, 2002. Bethesda, Md.: National Heart, Lung, and Blood Institute, May 2002. (Accessed June 10, 2003, at <http://www.nhlbi.nih.gov/resources/docs/cht-book.htm>)
2. NHLBI fact book, fiscal year 2002. Bethesda, Md.: National Heart, Lung, and Blood Institute, February 2003. (Accessed June 10, 2003, at <http://www.nhlbi.nih.gov/about/factpdf.htm>)

ژن کیمریک (chimeric gene) پروتئینی با فعالیت آلدوسترون سنتازی کد می کند که بجای آنژیوتانسین II تحت کنترل کورتیکوتروپین بصورت اکتوپیک در فاسیکل های غده فوق کلیه (adrenal fasciculata) بیان می شود. تولید طبیعی کورتیزول سبب

3. Cooper R, Cutler J, Desvignes-Nickens P, et al. Trends and disparities in coronary heart disease, stroke, and other cardiovascular diseases in the United States: findings of the National Conference on Cardiovascular Disease Prevention. *Circulation* 2000; 102:3137-47.
4. Goldstein JL, Brown MS. The cholesterol quartet. *Science* 2001; 292:1310-2.
5. Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. 8th ed. Vol. 2. New York: McGraw-Hill, 2001:2863-913.
6. Kane JP, Havel RJ. Disorders of the biogenesis and secretion of lipoproteins containing the B apolipoproteins. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. 8th ed. Vol. 2. New York: McGraw-Hill, 2001:2717-52.
7. Berge KE, Tian H, Graf GA, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science* 2000; 290:1771-5.
8. Lee M-H, Lu K, Hazard S, et al. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet* 2001; 27:79-83.
9. Garcia CK, Wilund K, Arca M, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science* 2001; 292: 1394-8.
10. ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs. diuretic: the Hypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack (ALLHAT). *JAMA* 2002; 288:2981-97.
11. Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell* 2001; 104:545-56.
12. Wilson FH, Disse-Nicodeme S, Choate KA, et al. Human hypertension caused by mutations in WNK kinases. *Science* 2001; 293:1107-12.
13. Lifton RP, Dluhy RG, Powers M, et al. A chimaeric 11 beta-hydroxylase/aldosterone synthase gene causes glucocorticoid-remediable aldosteronism and human hypertension. *Nature* 1992;355:262-5.
14. Lifton RP, Dluhy RG, Powers M, et al. Hereditary hypertension caused by chimaeric gene duplications and ectopic expression of aldosterone synthase. *Nat Genet* 1992;2: 66-74.
15. Mitsuuchi Y, Kawamoto T, Naiki Y, et al. Congenitally defective aldosterone biosynthesis in humans: the involvement of point mutations of the P-450C18 gene (CYP11B2) in CMO II deficient patients. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 182:974-9.
16. Shimkets RA, Warnock DG, Bositis CM, et al. Liddle's syndrome: heritable human hypertension caused by mutations in the beta subunit of the epithelial sodium channel. *Cell* 1994; 79:407-14.
17. Hansson JH, Schild L, Lu Y, et al. A de novo missense mutation of the beta subunit of the epithelial sodium channel causes hypertension and Liddle syndrome, identifying a proline-rich segment critical for regulation of channel activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92:11495-9.
18. Simon DB, Nelson-Williams C, Bia MJ, et al. Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalaemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nat Genet* 1996; 12:24-30.

ترجمه

چای سیاه در کوتاه مدت، باعث کاهش فشارخون می شود

مترجم: سمیه اصغری

دانشجوی بهداشت محیط

دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

کنترل در نظر گرفته شدند.

در ابتدای آزمایش بین افراد بیمار و کنترل تفاوتی وجود نداشت، ولی در کمتر از ۲۴ ساعت مصرف روزانه چای باعث کاهش فشار سیستولیک و دیاستولیک خون نسبت به گروهی که چای مصرف نکرده بودند شد. فشارخون سیستولیک این افراد در ماه سوم و ماه ششم به ترتیب ۲۲/۷ و ۲ میلی مترجیوه کاهش یافت، فشارخون دیاستولیک در ماه سوم و ششم به ترتیب ۲/۳ - ۲/۱ میلی مترجیوه کاهش یافت.

دکتر هادسن و همکارانش بیان کردند: در سطح جمعیت مصرف چای در کاهش ۱۰ درصد شیوع بیماری پرفشاری خون و ۷-۱۰ درصد کاهش بیماری قلبی عروقی موثر بوده است. بنابراین باتوجه به شیوع بالای بیماری فشارخون و همچنین تاثیر پرفشاری خون بر بیماری های قلبی و عروقی و میزان مرگ و میر در سطح جهان، یافته های حاصل از این آزمایش تاثیرات مهمی را بر سلامت عمومی جامعه خواهد داشت.

تحقیقات جدید نشان داد، نوشیدن چای سیاه باعث کاهش خطر افزایش فشارخون می شود. برطبق این تحقیقات نوشیدن ۳ فنجان چای در طول روز که تقریباً 400 mg/day پلی فنل فراهم می کند، باعث کاهش فشار سیستولیک و دیاستولیک خون بین ۲ تا ۳ میلی مترجیوه می شود.

دکتر هادسن از دانشگاه وسترن استرالیا بیان می کند: تعداد زیادی از افرادی که دارای فشارخون بودند در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند، البته نتایج به دست آمده از این آزمایش برای افرادی که دچار بیماری فشارخون بالا هستند نیز قابل اجراست.

چای سیاه یک منبع غنی از فلاونوئیدهاست. بررسی ها نشان داده اند که این ترکیبات باعث افزایش نیتریک اکسید و کاهش غلظت اندوتلین ۱ (endothelin-1) در پلاسما می شوند که هر دو در کاهش بیماری های عروقی و کاهش فشارخون نقش دارند. در این مطالعه گروهی از افراد شامل ۹۵ مرد و زن به طور تصادفی انتخاب شدند که فشارخون سیستولیک روزانه آنها بین ۱۵-۱۱/۵ میلی مترجیوه بود. به این افراد روزانه ۳ فنجان چای سیاه (به طور میانگین ۹۶ میلی گرم) داده شد. گروهی نیز به عنوان

References

<http://www.medscape.com/viewarticle/757432-2011>

ترجمه

آیا میتوان با آزمایش خون بیماری آلزایمر را پیش‌بینی کرد؟

مترجم: سمیه اصغری

دانشجوی بهداشت محیط

دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

باشد.

دکتر اورسیک که درباره متابولوم‌ها (یک مجموعه کاملی از متابولیت‌های مولکولی کوچک) و رابطه آنها با سلامتی و بیماری به مدت ۱۰ سال مطالعه کرده‌است، بیان می‌کند که لیپیدها نقش مهمی را در بیماری آلزایمر ایفا می‌کنند اما تاکنون مشخص نشده است که لیپیدها یا هر مولکول کوچک دیگری می‌تواند به عنوان یک نشانگر پیش‌بینی‌کننده برای بیماری آلزایمر باشد. برای انجام این مطالعه محققان از متابولومیکس (یک روش برای شناخت متابولیت‌های کوچک) برای ایجاد پروفایل خونی مرتبط با پیشرفت بیماری آلزایمر استفاده کردند.

آنها اطلاعاتی را در زمینه ۱۴۳ فرد مبتلا به MCI را ارزیابی و سپس داده‌های حاصل را با ۴۶ فرد سالم داوطلب و ۳۷ بیمار مبتلا به آلزایمر مقایسه کردند. نمونه‌های خون از ابتدا و در طول دوره جمع‌آوری شدند. میانگین طول دوره آزمایش ۲۷ ماه بود. کاهش اکسیژن در بافت ممکن است نشان‌دهنده شروع بیماری آلزایمر باشد:

نتایج نشان داد که ۵۲ نفر از افراد با MCI در پایان دوره، بیماری آلزایمر را بروز دادند. بیماران مبتلا به آلزایمر با خصوصیت کاهش در اتر فسفولیپید، فسفاتیدیل کولین‌ها و استرول‌ها شناسایی شدند.

اگرچه ۳ متابولیت در نشانه مولکولی بیماران MCI که بیماری آنها به آلزایمر پیشرفت کرده بود شناسایی شد ولی نقش اصلی در مدل پیش‌بینی بیماری آلزایمر ۲ و ۴ دی‌هیدروکسی بوتانونیک داشت. این نشان‌دهنده نقش بالقوه هیپوکسی در پیشرفت این بیماری است. آنالیز مسیرهای متابولیکی نشان دادند

تحقیقات جدید نشان می‌دهد با کمک مولکولی که در سرم خون افراد یافت شده است میتوان بیماری آلزایمر را قبل از بروز اولین نشانه بیماری که در بیمار اتفاق می‌افتد پیشگویی کرد. در مطالعه کوهورتی که بر روی بیش از ۱۰۰ بیمار مسن، با نقص شناختی ملایم (MCI) انجام گرفت، محققان دریافتند در کسانی که پیشرفت بیماری آلزایمر دیده شده است در کمتر از ۴ سال قبل یک نشانه مولکولی مانند هیپوکسی (کمبود اکسیژن در بافتهای بدن) وجود داشته است.

ماتج اورسیک استاد بیوانفورماتیک و بیولوژی سیستم‌ها در مرکز تحقیقات فنی VTT در فنلاند، عقیده دارد این مطالعات به دلیل اینکه باعث شناخت تغییرات مولکولی مرتبط با پیشرفت بیماری آلزایمر در طول سالهای متوالی می‌شوند از اهمیت زیادی برخوردارند. براساس نتایج به دست آمده او بیان می‌کند، با انجام یک آزمایش خون ممکن است بتوان بیمارانی که در معرض خطر بیماری آلزایمر هستند را شناسایی کرد.

همچنین محققان عقیده دارند که آنالیز ساده بیوشیمیایی از آزمایش خون که با ارزیابی (neurocognitive) همراه باشد میتواند برای بیماران مسن مفید باشد. مولکولهای کوچکی که برای پیش‌بینی بیماری آلزایمر به کار می‌روند:

MCI به عنوان یک مرحله حد واسط بین پیری نرمال و بیماری آلزایمر به شمار می‌رود.

MCI به عنوان یک ریسک فاکتور در گسترش بیماری آلزایمر است. اگر چه این حالت همیشه ثابت نیست و ممکن است با پیامدهای متعدد از جمله بازگشت به حالت طبیعی ادراک همراه

دوم: به جای لیپیدها، تغییرات متابولیسمی مرتبط با هیپوکسی به عنوان عامل پیش‌بینی کننده اولیه بیماری آلزایمر مشاهده شدند که این پیشنهاد می‌کند که هیپوکسی ممکن است یک رخداد اولیه در پیشرفت بیماری آلزایمر باشد.

دکتر اورسیک بیان کرد، محققان هم اکنون به دنبال بررسی اعتبار یافته‌های ما در یک مطالعه کوهورت آینده‌نگر وسیع هستند به علاوه آنها تلاش می‌کنند تا منشأ فیزیولوژیکی تغییرات مولکولی مشاهده شده در خون را بهتر متوجه شوند. برای این منظور، ما هم اکنون آنالیزهای متابولیسمی مایع مغزی نخاعی از بیماران مشابه را با جزئیات بیشتر مورد مطالعه قرار می‌دهیم و مطالعات بیشتر در این زمینه در حال انجام است.

که افزایش فعالیت مسیر پنتوز فسفات، با پیشرفت بیماری آلزایمر در ارتباط است. این یافته همچنین دلالت بر نقش هیپوکسی در مراحل اولیه بیماری آلزایمر دارد.

دکتر اورسیک بیان داشت که دو جنبه شگفت‌انگیز در این مطالعه وجود دارد، اول اینکه گرچه مطالعات پیشین نشان دادند که چندین فسفولیپید غشایی (که در خون اندازه‌گیری شدند) در بیماران مبتلا به آلزایمر کاهش می‌یابند، اما این لیپیدها در این مطالعه به عنوان عامل پیش‌بینی کننده اولیه در بیماری آلزایمر به کار نرفتند در عوض تغییرات لیپیدها ممکن است به عنوان یک رویداد تاخیری در بیماریزایی آلزایمر باشند.

References

<http://www.medscape.com/viewarticle/755879-2011>

ترجمه

نوزادان بستری در بخش مراقبت‌های ویژه چند بار باید حمام شوند؟

مترجم: سامیه غنا

دانشجوی مامایی

دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

حمام کردن نیست. یافته‌هایی مبنی بر تاخیر در ترمیم یا افزایش عفونت بند ناف وجود ندارد.

وان حمام با آب گرم کافی (تقریباً ۱۰۰ درجه فارنهایت) پر شود تا شانه‌های نوزاد (تقریباً ۵ اینچ برای نوزادان ترم و کمتر برای نوزادان پره‌ترم) را بپوشاند. پس از شستشوی آرام با پارچه نرم و آب گرم یا شوینده‌ای با PH خنثی، نوزاد را خشک نموده و در پتو یا حوله گرم به مدت ۱۰ دقیقه قرار دهید، سپس لباسه‌ایش را بپوشانید. قراردادن نوزاد در یک حوله گرم به مدت ۱۰ دقیقه به طور قابل توجهی مانع از کاهش حرارت بدن و هیپوترمی نوزاد می‌شود. اگر چه مطالعات کافی در زمینه "قنداق کردن بعد از حمام" وجود ندارد اما بسیاری از بخش‌های مراقبت ویژه نوزادان این کار را انجام می‌دهند. آنها معتقدند قنداق کردن بعد از حمام باعث حمایت رشدی، کاهش دیسترس فیزیولوژیک و حرکتی مرتبط با حمام کردن می‌شود. حمام کردن نوزادان نباید به صورت "روتین" انجام شود بلکه با توجه به "وضعیت و شرایط نوزاد در آن زمان" تصمیم‌گیری شود.

Reference:

<http://iumss.blogfa.com/post-245.aspx>

انجمن بهداشت زنان، مامایی و پرستاری نوزادان توصیه میکند حمام نوزادان با آب گرم یا ولرم، شوینده‌ای با PH خنثی و با فواصل مناسب باشد. در پاسخ به سوال این که چندبار نوزادان پره‌ترم باید در بخش مراقبت‌های ویژه حمام شوند، شواهد اندکی وجود دارد. در سال ۲۰۰۵ مطالعه‌ای نشان داد که فلور نرمال بدن ۳۰ دقیقه و ۴۸ ساعت بعد از حمام مشابه است، همچنین میزان کلونی تغییرات معنی‌داری را در روز دوم، سوم و چهارم بعد از حمام نشان نداد. آنها به این نتیجه رسیدند که نوزادان پره‌ترم می‌توانند هر چهار روز یکبار حمام شوند.

برای حمام نوزادان پره‌ترم کمتر از ۳۲ هفته نباید از شوینده‌ها استفاده شود و در صورت مصرف باید دارای PH خنثی باشد تا خطر آسیب به پوست به حداقل برسد. مراقبین همیشه باید نسبت به علائم استرس و بی‌ثباتی به ویژه در جمعیت پره‌ترم آسیب‌پذیر، هوشیار باشند. حمام کردن در نوزادان پره‌ترم اغلب تجربه پراسترسی است و اغلب بعد از حمام کردن به علت خستگی می‌خوابند.

نوزادان تا شانه در آب قرار گیرند زیرا این روشی آرامش بخش برای نوزاد پره‌ترم با ثبات و ترم است. وجود بند ناف (کلامپ شده یا خشک شده) کنترا اندیکاسیونی برای این نوع

ترجمه

آیا می‌دانید ذرت بوداده غنی از آنتی‌اکسیدان است؟

مترجم: زهرا آرخی

دانشجوی علوم آزمایشگاهی

دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گرگان

اما مثل دیگر متخصصان هشدار می‌دهد که اضافه کردن روغن و کره زیاد به آن می‌تواند به سرعت، تاثیر خوب آن را از بین ببرد. Jeffrey Blumberg استاد تغذیه در دانشگاه Tuft و دانشمند بالارته و مدیر آزمایشگاه تحقیق آنتی‌اکسیدانها می‌گوید: این تحقیق قدم خوبی بود اما برای اندازه‌گیری فواید خوب ذرت بوداده طراحی نشده بود. Blumberg می‌گوید: قدم بعدی این است که بفهمیم چه مقدار از پلی‌فنول‌های ذرت بوداده از پوسته جدا می‌شود و به روده انسان می‌رود.

Blumberg در حال بررسی پلی‌فنول‌ها و دیگر مواد در غلات است. او در حال بررسی این است که چه مقدار از این ترکیبات و کدام یک از آنها وارد خون می‌شوند. این تحقیقات توسط سازمان کشاورزی امریکا و شرکت تولیدکننده حبوبات Kellogg حمایت می‌شود.

Blumberg می‌گوید: می‌دانیم که تمامی غلات برای انسان مفید هستند اما آنچه که لازم است دانشمندان بدانند این است که کدام ترکیبات برای بهبودی سلامت انسان خوب هستند. وی اضافه می‌کند این اطلاعات می‌تواند برای افرادی که این محصول را می‌کارند مفید باشد. آنها می‌توانند محصولاتی را بکارند که ترکیبات مفید در آنها زیاد است.

خانم Kantha Shelka شیمیدان تغذیه شیکاگو و سخنگوی موسسه کارشناسان غذا می‌گوید که تحقیق Vinson پیشنهاد میکند که ذرت بوداده مثل پفک مضر نیست. او می‌گوید ذرت بوداده غله کامل است، که خیلی کم بررسی شده است. او می‌گوید اطلاعات زیادی لازم است تا بدانیم چه مقدار از آنتی-اکسیدانهای ذرت بوداده برای بدن ما مفید هستند.

Reference:

<http://www.medscape.com/viewarticle/761066-2011>

تحقیقات جدید نشان دادند ذرت بوداده که قبلاً بعنوان یک منبع غنی از فیبر شناخته شده بود در مقایسه با بعضی میوه‌ها و سبزیجات آنتی‌اکسیدانهای مفیدتری نیز دارد. Joe Vinson استاد شیمی دانشگاه اسکرانتون می‌گوید که براساس سطح فیبر و آنتی-اکسیدانها، ذرت بوداده پادشاه غذاهای هله‌هوله است. اما او پیشنهاد نمی‌کند که افراد میوه‌ها و سبزیجات را به خاطر ذرت بوداده کنار بگذارند. هنوز مشخص نیست که چه مقدار از آنتی-اکسیدانهای آن توسط بدن جذب می‌شود.

آنتی‌اکسیدانهای ذرت بوداده:

Vinson و Michael Coco دو دانشجوی شیمی، چهار مارک تجاری ذرت بوداده را از نظر نوع و میزان آنتی‌اکسیدانها بررسی کردند. آنتی‌اکسیدانهای بررسی شده که به پلی‌فنولها معروف هستند در انواع زیادی از گیاهان پیدا می‌شوند. این آنتی‌اکسیدانها تأثیرات مخرب مولکولهای ناپایدار به نام رادیکالهای آزاد را خنثی می‌کنند. Vinson می‌گوید همه میدانند که غذاهای گیاهی آنتی‌اکسیدان دارند اما هیچکس این نوع آنتی‌اکسیدانها را در ذرت بوداده بررسی نکرده است. Coco و Vinson پوست ذرت بوداده را خرد کردند و سطوح پلی‌فنولهای موجود در آن را بررسی کردند. Vinson می‌گوید اکثر پلی‌فنولها حدود ۹۰ درصد در پوسته بودند.

چهار نوع ذرت بررسی شده از لحاظ وزن تفاوت خیلی کمی در حدود کمی بیشتر یا کمتر از یک اونس باهم داشتند. آنتی‌اکسیدانهای هر نوع ذرت بوداده حدود ۳۶۳-۲۴۲ میلی‌گرم بوده است. در مقایسه با میوه‌ها مشخص شد که یک وعده از میوه حدود ۱۶۰ میلی‌گرم پلی‌فنول دارد. پلی‌فنولهای ذرت بوداده مثل میوه‌ها در آب حل نمی‌شوند.

Vinson ذرت بوداده را یک غذای با فیبر بالای عجیب میداند

گردآوری

تشخیص پیش از تولد و تشخیص پیش از لانه‌گزینی (PGD و PND)

معصومه قاسمی، دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی

دانشکده فن آوریهای نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

استاد راهنما: دکتر نادر منصور سمایی، استادیار و مدیر گروه ژنتیک انسانی، دانشکده فن آوریهای نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

بیماریهای ژنتیکی تک‌ژنی، کروموزومی، اختلالات لوله عصبی و بیماریهای مادری مورد استفاده قرار می‌گیرد.

فواید PND

از جمله فواید این روشها ختم زودرس بارداری‌هایی با اختلالات غیرقابل حیات در جنین، امکان تصحیح یکسری اختلالات جنینی در داخل رحم در حین بارداری، فراهم کردن آمادگی خانوادگی و روانی والدین جهت نگهداری نوزادی با نقص ژنتیکی خاص است.

از آنجائیکه بسیاری از خانواده‌ها در نگهداری چنین نوزادانی با مشکلات فراوانی همراه هستند و از طرف دیگر عدم تمایل مادر به سقط‌های مکرر ناشی از تشخیص نقص جنینی و مشکلات و عوارض ناشی از آن، تکنیک جدیدی تحت عنوان PGD یا PGID (Preimplantation Genetic Diagnosis) (تشخیص قبل از لانه‌گزینی) در دهه‌های اخیر شکل گرفته است.

PGD تکنیکی است که بر روی جنین قبل از لانه‌گزینی یا حتی گاهی روی اووسیت‌ها قبل از لقاح انجام می‌شود و جهت تشخیص قبل از تولد برای زوج‌هایی که با ریسک بالای انتقال بیماریهای ژنتیکی شدید به فرزندان همراه هستند، مورد استفاده قرار می‌گیرد.

نمونه‌های اووسیت و یا نمونه‌های امبریو (جنین اولیه) در حال تقسیم که پس از پروسه IVF (In vitro fertilization) تهیه می‌شوند تحت آزمایشات ژنتیکی قرار می‌گیرند و تنها جنین‌هایی که عاری از اختلالات ژنتیکی هستند جهت جایگزینی در رحم مادر استفاده شده و از نظر پایداری حاملگی به دنبال این جایگزینی مورد پیگیری قرار می‌گیرند.

تاریخچه PGD: سال ۱۹۸۰ اولین نوزاد با روش IVF به دنیا آمد و به دنبال آن در دهه ۸۰ تکنیک IVF پیشرفت‌های زیادی داشته

طی چهار دهه گذشته اساس ژنتیکی بسیاری از بیماریها شناخته شده است و تکنیکهای گوناگون تشخیص پیش از تولد PND (prenatal diagnosis) که راهی جهت شناسایی سلامت جنین قبل از تولد بوده، در حال رشد و گسترش است.

در حال حاضر انواع مختلفی از تکنیک‌های تهاجمی و غیرتهاجمی جهت تشخیص پیش از تولد وجود دارد که شامل: روش غیرتهاجمی اولتراسونوگرافی که به عنوان ابزار مهم اسکرین کردن جنین در تمام طول بارداری مادر کاربرد دارد و جهت یافتن آنومالی‌های جنینی استفاده می‌شود.

سایر روشهای غیرتهاجمی شامل بررسی انواع فاکتورها همچون آلفا فیتوپروتئین، B-HCG، استرادیول و inhibin A در سرم مادر جهت تعیین اختلالات خاص جنینی هستند.

روشهای تهاجمی مورد استفاده شامل موارد زیر است: روش آمینوسنتز که نمونه‌برداری از مایع آمنیوتیک در ۲۰-۱۴ هفته بارداری انجام می‌شود. روش کوردوسنتز که نمونه‌برداری از خون بندناف انجام می‌گردد.

روش CVS (Chorionic villus sampling) که نمونه‌برداری از پرزهای کوریونی است و در ۵/۱۲-۵/۹ هفته بارداری انجام می‌شود.

این روشهای تهاجمی با ریسک خطر ۳-۱ درصدی سقط جنین همراه هستند. نمونه‌های بدست آمده از این روشها جهت بررسی تغییرات ژنتیکی، کروموزومی و بیوشیمیایی مورد آنالیز قرار می‌گیرند.

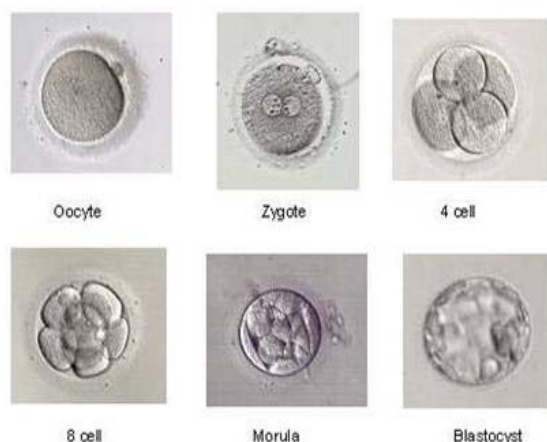
موارد استفاده از روشهای مختلف PND:

این تکنیکها در موارد خاصی همچون افزایش سن مادر، وجود آنومالی در فرزند قبلی، مرده‌زایی، سابقه سقط‌های مکرر سه ماهه اول بارداری، ازدواج فامیلی و تاریخچه خانوادگی



ICSC

پس از انجام لقاح تخم بارور شده شروع به مراحل تقسیم و تکامل نموده، روز سوم به مرحله ۸ سلولی (بلاستومر) و روز پنجم به مرحله بلاستوسیست (تشکیل توده سلولی داخلی) میرسد.



یک نمونه بیوپسی برای انجام تستهای ژنتیکی می‌تواند از مراحل مختلف تکامل به دست آید که شامل:

بلاستومر بیوپسی: در این روش یک الی دو سلول (بهتر است یک سلول باشد) در مرحله ۸ سلولی (روز سوم پس از لقاح) از بلاستومر جدا شده و جهت انجام آزمایشات ژنتیکی لازم مورد بررسی قرار می‌گیرند. جهت برداشتن سلول‌ها، لایه زونا پلاسیدا در اطراف تخم بارور شده با استفاده از لیزر سوراخ شده و با کمک مکش توسط پیت‌های ظریفی سلول‌ها خارج می‌شوند. این روش رایج‌ترین روش قابل استفاده در حال حاضر است.



است و سال ۱۹۹۰ اولین نوزاد حاصل از PGD متولد شد. در کشور ما ایران نیز در سال ۱۳۸۳ برای اولین بار انستیتو رویان موفق به تولد نوزادی با روش PGD گردید.

کاربردهای PGD: این روش به طور وسیعی جهت شناسایی تعداد زیادی از اختلالات همچون: اختلالات مونوژنیک (تک-ژنی) شامل بیماری‌هایی با وراثت اتوزوم مغلوب (بیماری سیستمیک فیروزیس، B تالاسمی و...)، اتوزوم غالب (دیستروفی میوتونیک، هانتینگتون و...)، بیماری‌های وابسته به X (بیماری X شکننده، هموفیلی A، دیستروفی عضلانی دوشن و...) و اختلالات میتوکندریایی

آنومالی‌های کروموزومی عددی و ساختاری

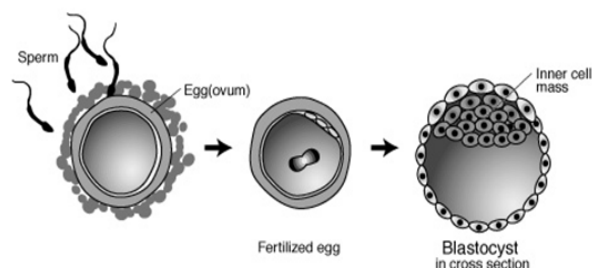
تطبیق HLA جنین با خواهر و برادر بیمار

پیش‌آگهی جهت سرطانهای ارثی خانوادگی (جهش‌های

BRCA1 در سرطان پستان خانوادگی)

انتخاب جنسیت در بیماری‌های وابسته به جنس

مراحل انجام تکنیک PGD: در ابتدا با استفاده از محرک‌های دارویی خاص تحریک تخمدان‌های مادر جهت تخمک‌گذاری صورت گرفته و پس از ۳۴-۳۸ ساعت اووسیت‌های حاصله تحت هدایت اولتراسونوگرافی ترانس واژینال با آسپیراسیون مایع فولیکولی تخمدان جمع‌آوری می‌گردد. اووسیت‌های بدست آمده به محیط مناسب انتقال یافته و تحت مجاورت با اسپرم قرار می‌گیرند و به مدت یک شب (over night) در دمای مناسب نگهداری می‌شوند تا پروسه IVF انجام گردد. میتوان به جای IVF از تکنیک (intracytoplasmic sperm injection) ICSC استفاده نمود به طوری که یک اسپرماتوزوا مستقیماً به داخل یک اووسیت بالغ تزریق شود. این روش برای جلوگیری از آلودگی در کار و همچنین در مواردی که نازایی در مردان به علت کیفیت پایین در تعداد و مورفولوژی و تحرک اسپرم وجود دارد، مورد استفاده قرار می‌گیرد.



IVF

میکروسکوپ فلورسنت بررسی شده و تغییرات کروموزومی آنالیز می‌گردد.

PCR-PGD (Polymerase chain reaction): این روش جهت شناسایی اختلالات تک ژنی و HLA typing (Polymerase chain reaction) و جهش‌های تکرار سه نوکلئیدی کاربرد دارد که با استفاده از دو روش بررسی مستقیم جهش و یا توسط مارکرهای ژنتیکی (Linkage) ارزیابی صورت می‌گیرد. رایجترین روش PCR مورد استفاده در تحقیقات اخیر شامل روش Nested PCR و Real time PCR است.

مشکلات اساسی در این روش شامل:

- احتمال بالای ایجاد آلودگی
- preferential amplification (PA) (تکثیر ترجیحی) که در آن به دلایل نامعلومی یکی از آلل‌ها بیشتر از ال دیگر تکثیر می‌شود.
- ADO (allele drop-out) (حذف آللی) که به دلایل نامشخصی یکی از آلل‌های ژنی در طی تکثیر حذف می‌گردد.
در موارد ذکر شده فوق تشخیص دچار مشکل شده و ممکن است تشخیص اشتباه صورت گیرد.

روشهای دیگر PCR همچون روش مولتی پلکس PCR جهت شناسایی چندین جهش ژنی به طور همزمان و روش PCR-RFLP (Restriction fragment length polymorphism - PCR) جهت تشخیص اختلالات میتوکندریایی کاربرد دارند.

برای کاهش اشتباه و افزایش دقت تشخیصی در سال‌های اخیر از روشهای نوینی جهت تشخیص‌های ژنتیکی استفاده شده که همچنان در حال پیشرفت هستند. از جمله این روشها شامل:

روش CGH (Comparative genomic hybridisation) هیبریداسیون ژنوم مقایسه‌ای جهت بررسی کروموزومی: در این روش کل DNA ژنومی سلول بیوپسی شده و DNA سلول کنترل که هر یک با یک رنگ فلوئوروفور متفاوت نشان‌دار شده‌اند با هم مخلوط شده و به طور همزمان با کروموزوم‌های متافاز نرمال هیبرید می‌شوند. سپس نسبت دو سیگنال رنگی در امتداد طول هر کروموزوم مورد مقایسه قرار گرفته تا بدین طریق تفاوت‌های کروموزومی یا زیرکروموزومی موجود مابین دو منبع مذکور شناسایی شوند.

روش SNP array (Single Nucleotide Polymorphism Array): در این روش که نوعی DNA array است، تغییرات ژنتیکی در حد

بیوپسی جسم قطبی: در این روش هر دو جسم قطبی اول و دوم برای تشخیص صحیح مورد بررسی قرار می‌گیرند. در ابتدا جسم قطبی اول از اووسیت غیر بارور جدا شده و سپس دومین جسم قطبی از زیگوت حاصله اندک زمانی پس از لقاح خارج گشته و بررسی می‌شود.

این روش تهیه بیوپسی برای کشورهایی همچون آلمان و ایتالیا که روش بیوپسی از امبریو ممنوع است، کاربرد دارد. از فواید این روش بیوپسی عدم ایجاد اثرات منفی روی جنین و از معایب آن این است که صرفاً اختلالات ژنتیکی و کروموزومی مادری با این روش قابل تشخیص است.

بلاستوسیست بیوپسی: این بیوپسی از دو روش تهیه می‌شود: در روز سوم سوراخی در لایه زوناپلاسدای امبریو ایجاد کرده و سپس اجازه می‌دهند امبریو تا روز پنجم به رشد خود ادامه دهد. روز پنجم از سلول‌های تروفواکتودرم امبریو که به صورت هرنی (فتق) خارج شده است، بیوپسی تهیه می‌شود.

صبح روز پنجم در نقطه مقابل توده سلولی داخلی سوراخی ایجاد کرده و سلول‌های تروفواکتودرم خارج شده را با پیتهای ظرفی جدا می‌کنند.

مزیت روش بلاستوسیست بیوپسی تهیه تعداد سلول‌های بیشتر جهت انجام بررسی‌های ژنتیکی است (۱۰-۵ سلول) در حالیکه یکی از مهمترین معایب آن، زمان کم برای تشخیص‌های ژنتیکی بوده که ۲۴ ساعت است در مقایسه با روش بلاستومر بیوپسی که این زمان ۶۰-۴۸ ساعت است.

تکنیک‌های آنالیز ژنتیکی: بسته به اندیکاسیون‌های PGD (استفاده جهت نقایص ژنومی، ژنتیکی و اختلالات کروموزومی) متدهای تشخیصی متفاوتی می‌تواند برای آنالیز ژنتیکی مورد استفاده قرار گیرد.

FISH (Fluorescent in situ hybridization): این روش به طور شایع برای تشخیص اختلالات کروموزومی، آنیوپلوئیدی‌ها (اضافه و کم شدن تعداد کروموزوم‌های هومولوگ) و تعیین جنسیت جهت بیماریهای وابسته به X مورد استفاده قرار می‌گیرد. در متد FISH ابتدا سلولهای بیوپسی روی اسلایدهای شیشه‌ای ثابت شده و سپس از پروپ‌های DNA مخصوص کروموزوم که با فلورسنت نشان‌دار شده است جهت شناسایی کروموزوم‌ها استفاده می‌شود به طوری که هیبریداسیون ایجاد شده با

نظارت بر اخلاق PGD شدیداً تأکید می‌شود که شامل: انجام مشاوره ژنتیکی کامل با زوجین و بیان کامل فواید و معایب این روش و درصد موفقیت نهایی و هزینه انجام PDG عدم انجام PGD جهت تعیین جنسیت به دلایل غیر پزشکی عدم استفاده از PGD جهت ویژگی‌های غیر پزشکی انتخابی همچون هوش، زیبایی، قد و غیره که منجر به تقویت عقیده یوژنیک (برتری ژنتیکی) می‌شود. عدم انجام PGD جهت تولد نوزاد صرفاً به دلیل فراهم کردن HLA ای مشابه برادر یا خواهر بیمارش. اجتناب از استفاده از PGD در شناسایی بیماریهایی با بروز دیررس همچون آلزایمر، هانتینگتون و غیره. PGD در ایران: در کشور ما PGD در حال رشد و توسعه بوده و در حال حاضر در زمینه‌های تعیین جنسیت در اختلالات ژنتیکی وابسته به X، تالاسمی و بیماری (SMA) (Spinal muscular atrophy) آتروفی عضلانی نخاعی) در حال بررسی و انجام است. آینده PGD: با افزایش آگاهی در زمینه اختلالات ژنتیکی مربوط به نازایی، ظهور تکنولوژیهای جدید، بهبود صحت PGD و به دنبال آن کاهش هزینه‌ها، امیداست این روش به طور گسترده جهت شناسایی انواع اختلالات ژنتیکی قبل از تولد و به دنبال آن تولد نوزادانی سالم مورد استفاده قرار گیرد.

References

1. Chang LJ, Chen SU, Tsai YY, Hung CC, Fang MY, Su YN, et al. An update of preimplantation genetic diagnosis in gene diseases, chromosomal translocation, and aneuploidy screening. Clin Exp Reprod Med. 2011 Sep;38(3):126-34.
2. Franssen MT, Musters AM, van der Veen F, Repping S, Leschot NJ, Bossuyt PM, et al. Reproductive outcome after PGD in couples with recurrent miscarriage carrying a structural chromosome abnormality: a systematic review. Hum Reprod Update. 2011 Jul-Aug;17(4):467-75.
3. Brodie D, Beyer CE, Osborne E, Kralovski V, Rasi S, Osianlis T. Preimplantation genetic diagnosis for chromosome rearrangements - one blastomere biopsy versus two blastomere biopsy. J Assist Reprod Genet. 2012 May 12.
4. Harper JC, Sengupta SB. Preimplantation genetic diagnosis: state of the art 2011. Hum Genet. 2012 Feb;131(2):175-86.
5. Ly KD, Agarwal A, Nagy ZP. Preimplantation genetic screening: does it help or hinder IVF treatment and what is the role of the embryo? J Assist Reprod Genet. 2011 Sep;28(9):833-49.
6. Musters AM, Repping S, Korevaar JC, Mastenbroek S, Limpens

یک نوکلئوتید در ژنوم مورد بررسی قرار می‌گیرد. هر کدام از روش های نوین ذکر شده دارای معایب و فوایدی است و در مجموع جهت پیشرفت نتایج PGD بسیار مفید بوده و در حال توسعه هستند.

صحت انجام PGD: مشکلات موجود در روش FISH (شکست مرحله هیبریداسیون، خطاهای مرحله FISH، وجود موزائیسیم در جنین قبل از لانه‌گزینی که در ایجاد نتایج مثبت و منفی کاذب نقش دارند) و همچنین در روش PCR (ADO و PA) که از مشکلات عمده در روند PGD هستند، شانس تولد نوزاد پس از انجام PGD را به ۲۰ درصد می‌رسانند و در صورتی که جنین سالم بتواند جایگزین شود به ۳۳ درصد افزایش می‌یابد.

این میزان موفقیت به عوامل دیگری همچون سن پایین حاملگی مادر، شرایط ژنتیکی نرمال، وزن مناسب مادر، عدم سیگاری و الکلیسم بودن والدین و مصرف میزان مناسب اسید فولیک در طی درمان توسط مادر بستگی دارد.

PGD همیشه باید از نظر فوایدی که برای یک خانواده دارد و از طرف دیگر خطرات ناشی از IVF برای مادر و جنین و پروسه‌های بیوپسی و احتمال خطاهای ممکنه برای هر زوج به طور جداگانه مورد ارزیابی قرار گیرد و در صورتی که سود آن برای یک زوج بیشتر از زیان آن باشد پیشنهاد و مورد استفاده قرار گیرد.

قوانین اخلاقی در PGD: یکسری نکات اخلاقی توسط سازمان

- J, van der Veen F, et al. Pregnancy outcome after preimplantation genetic screening or natural conception in couples with unexplained recurrent miscarriage: a systematic review of the best available evidence. Fertil Steril. 2011 May;95(6):2153-7, 7 e1-3.
7. Loup V, Bernicot I, Janssens P, Hedon B, Hamamah S, Pellestor F, et al. Combined FISH and PRINS sperm analysis of complex chromosome rearrangement t(1;19;13): an approach facilitating PGD. Mol Hum Reprod. 2010 Feb;16(2):111-6.
8. Harper JC, Harton G. The use of arrays in preimplantation genetic diagnosis and screening. Fertil Steril. 2010 Sep;94(4):1173-7.
9. Yap C, Tan AS, Wang W, Lim MN, Chong SS. First successful preimplantation genetic diagnosis in Singapore--avoidance of beta-thalassaemia major. Ann Acad Med Singapore. 2009 Aug;38(8):720-3.
10. McGowan ML, Burant CJ, Moran R, Farrell R. Patient education and informed consent for preimplantation genetic diagnosis: health literacy for genetics and assisted reproductive technology. Genet Med. 2009 Sep;11(9):640-5.

11. Klitzman R, Zolovska B, Folberth W, Sauer MV, Chung W, Appelbaum P. Preimplantation genetic diagnosis on in vitro fertilization clinic websites: presentations of risks, benefits and other information. *Fertil Steril*. 2009 Oct;92(4):1276-83 .
12. Donoso P, Staessen C, Fauser BC, Devroey P. Current value of preimplantation genetic aneuploidy screening in IVF. *Hum Reprod Update*. 2007 Jan-Feb;13(1):15-25 .
13. Swanson A, Strawn E, Lau E, Bick D. Preimplantation genetic diagnosis: technology and clinical applications. *WMJ*. 2007 May;106(3):145-51 .
14. Kuliev A, Verlinsky Y. Preimplantation diagnosis: a realistic option for assisted reproduction and genetic practice. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2005 Apr;17(2):179-83 .
15. Hudson KL. Preimplantation genetic diagnosis: public policy and public attitudes. *Fertil Steril*. 2006 Jun;85(6):1638-45 .
16. Fiorentino F, Biricik A, Karadayi H, Berkil H, Karlikaya G, Sertyel S, et al. Development and clinical application of a strategy for preimplantation genetic diagnosis of single gene disorders combined with HLA matching. *Mol Hum Reprod*. 2004 Jun;10(6):445-60 .
17. Egozcue J, Santalo J, Gimenez C, Durban M, Benet J, Navarro J, et al. Preimplantation genetic screening and human implantation. *J Reprod Immunol*. 2002 May-Jun;55(1-2):65-72 .
18. Braude P, Pickering S, Flinter F, Ogilvie CM. Preimplantation genetic diagnosis. *Nat Rev Genet*. 2002 Dec;3(12):941-53 .

گردآوری

پروبیوتیک

نوید خوشبخت، دانشجوی پزشکی

دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

استاد راهنما: دکتر سمیرا عشقی نیا، متخصص تغذیه - عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

و ثبات فیزیولوژیک در فرد ایفا می کنند.

معرفی

استفاده از میکروارگانیسم های مفید برای تولید مواد غذایی، از قرن ها پیش، بدون این که از نقش و حضور آن ها اطلاعی در دست باشد، آغاز شد. علت اختراع شیرهای تخمیری توسط اجداد ما، قابلیت نگهداری بیشتر آنها در مقایسه با شیر، طعم اسیدی ملایم و دلپذیر و وجود اثرات مفید آن بر سلامتی است. از انواع شیرهای تخمیری می توان به ماست، پنیر، کفیر، کومیس و ... اشاره کرد. در این بین ماست های پروبیوتیک، جایگاه ویژه ای در تغذیه و سلامت انسان پیدا کرده است.

رودهی انسان حاوی بیش از ۱۰۰ تریلیون باکتری زنده است که همگی آنها با هم فلور میکروبی روده را تشکیل می دهند. باکتریها به انواع مفید، مضر و خنثی برای سلامتی انسان تقسیم می شوند.

واژه پروبیوتیک در اصل، کلمه ای یونانی به معنای برای زندگی است. این اصطلاح اولین بار در سال ۱۹۶۵ توسط لایلی و استیل ول برای تشریح اثر تقویت کنندگی یک میکروارگانیسم روی رشد میکروارگانیسم دیگر استفاده شد. پس از آن تعاریف متعدد دیگری از آن ارائه گردید تا این که فولر در سال ۱۹۸۵، پروبیوتیک را به صورت زیر تعریف کرد:

پروبیوتیک مکمل غذایی متشکل از میکروب های زنده است که مصرف آن به دلیل تغییر مطلوب در توازن میکروبی روده اثرات مفیدی در فرد می گذارد.

باکتریهای پروبیوتیک از طریق رشد و فعالیت خود مانع رشد و تکثیر باکتری های پاتوژن می شوند و علاوه بر آن با ستنز و آزادسازی برخی مواد ارگانیك و حیاتی برای بدن مانند ویتامینها، اسیدهای آمینه و... نقش مهمی در حفظ تمامیت سلولی

در یک فرد سالم بین باکتری های پاتوژن و فلور نرمال توازن وجود دارد، اما بسیاری از عوامل مثل استفاده از آنتی بیوتیک ها برای درمان عفونت، رادیوتراپی، هیدروتراپی، کموتراپی، استفاده از آب کلردار، غذاهای حاوی ترکیبات دارویی و استفاده از الکل، آلرژی های ناشی از مصرف مواد غذایی، اعمال جراحی، آسیب های فیزیکی، استرس های شدید، توکسین های محیطی و آلرژی هایی با پایه ی ژنتیکی می تواند سبب از بین رفتن فلور نرمال موجود در بدن فرد شود و به طور مثال با غالب شدن میکروب های پاتوژن در روده، فرد دچار امراض و علائمی همچون اسهال، یوکی استخوان، افزایش کلسترول خون، کاهش قدرت پاسخ گویی بدن به تحریکات خارجی و... خواهد شد. حیوانات آزمایشگاهی که در شرایط بدون باکتری و استریل رشد پیدا می کنند (Germ free animal)، اکثراً سیستم ایمنی تکامل نیافته و روده های آسیب پذیر دارند. همین مساله می تواند برای نوزاد انسان هم مصداق داشته باشد و نوزاد را نسبت به ابتلا به انواع آلرژی ها و عفونت های تهدید کننده زندگی مستعد کند. یافته های پژوهشگران فنلاندی نشان داده است که پروبیوتیک ها با اگرما در نوزادان مقابله می کنند. این پژوهشگران، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس را برای مادران حامله و نوزادان متولد شده که احتمال ابتلا به حساسیت داشتند، به مدت شش ماه، تجویز کردند. هنگامی که بچه ها دو ساله شده بودند، پروبیوتیک، احتمال بروز اگرما را تا نصف کاهش داده بود. درواقع می شود گفت پروبیوتیک ها توسط عرضه آنتی ژنها به سلولهای بدن، سیستم ایمنی هومورال را تمرین می دهند تا در برابر باکتری های پاتوژن هم از خود واکنش خوبی نشان دهد.

متداولترین گونه های مورد استفاده در محصولات پروبیوتیک

که پروبیوتیک مصرف شود. نمی‌شود گفت یک سال پروبیوتیک بخورید و خودتان را بیمه کنید. مصرف این مواد باید مداوم باشد.

مکمل‌های غذایی به صورت قرص که در حال حاضر در بازار ایران وجود دارند، بیشتر وارداتی هستند. این محصولات باید حتما دارای روکش محافظ باشند (Enteric coated) تا باکتری‌های مفید، حین عبور از معده، در اسید معده از بین نروند.

فرآورده‌های لبنی، بهترین حامل پروبیوتیک‌ها محسوب می‌شوند. البته هنوز غنی‌سازی لبنیات با پروبیوتیک‌ها خیلی رایج نشده است.

موز، عسل، مارچوبه، کنگر فرنگی، سیر و پیاز حاوی موادی هستند که باعث می‌شود باکتری‌های پروبیوتیک بهتر رشد کنند. البته برای اثربخشی بایستی مقادیر زیادی از آن‌ها مصرف شود. افرادی که آنتی‌بیوتیک مصرف می‌کنند، دچار اسهال، عفونت مخمری واژن و یا دچار سوءتغذیه هستند، در اولویت مصرف پروبیوتیک‌ها قرار دارند.

ماده موسوم به استارتر ماست با اسم علمی *Lactobacillus bulgaricus* است، پروبیوتیک محسوب نمی‌شود. بنابراین نمی‌شود گفت ماست یک ماده پروبیوتیک طبیعی است. این باور رایج غلطی است که وجود دارد.

پروبیوتیک‌ها در صنعت نیز نقش بسیار مهمی ایفا می‌کنند، برای مثال، در صنایع جوجه‌کشی و مرغداری، به دلایل زیر از پروبیوتیک‌ها استفاده می‌شود:

افزایش یکنواختی گله: نتایج آزمایشات مختلف نشان داد جوجه‌هایی که در جیره روزانه خود پری‌بیوتیک مصرف مینمایند دارای یکنواختی بیشتری نسبت به گروه شاهد هستند.

کاهش سرعت عبور مواد خوراکی: پروبیوتیک‌ها موجب کاهش سرعت عبور مواد خوراکی در لوله گوارشی می‌شود که این امر می‌تواند به هضم و جذب بیشتر مواد خوراکی کمک نماید.

حذف رقابتی: تقویت باکتری‌های مفید روده، موجب برتری جمعیت میکروبی مفید روده می‌گردد، بطوریکه جایگزینی آنها در روده موجب از بین رفتن یا کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در روده می‌شود.

توسعه پرزهای روده‌ای: افزودن پری‌بیوتیک‌ها به جیره طیور

مربوط به گروه باکتری‌های لاکتوباسیل هستند که شامل نژادهای خاصی از جنس‌های *Bifidobacterium* می‌شود. لازم به ذکر است که میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک بر اساس منشأ انسانی، حیوانی و محیطی تقسیم می‌شوند که فقط گونه‌های دارای منشأ انسانی برای تولید محصولات پروبیوتیک قابل مصرف هستند.

پروبیوتیک‌ها با مکانیسم‌های مختلفی اثرات خود را اعمال می‌کنند:

تولید مواد پیشگیری‌کننده: پروبیوتیک‌ها با تولید موادی با قابلیت مهار میکروارگانیسم‌ها مانند اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، لاکتات، پلی‌آمینها، باکتریوسین، پراکسید هیدروژن و غیره می‌توانند از بروز برخی از بیماری‌های عفونی جلوگیری کنند.

مسدود کردن آنتی‌ژن‌های میزبان: پروبیوتیک‌ها با قرار گرفتن بر روی آنتی‌ژن‌های موجود بر سلول‌های میزبان و جلوگیری از اتصال پاتوژنها به این آنتی‌ژنها جهت کلونیزه شدن در بدن میزبان، از رشد آن‌ها جلوگیری می‌کنند.

رقابت برای تغذیه: پروبیوتیک‌ها مواد غذایی موجود را قبل از این که توسط میکروارگانیسم‌های پاتوژن مصرف شود، استفاده می‌کنند.

تحریک سیستم ایمنی: پروبیوتیک‌ها می‌توانند هم ایمنی اختصاصی و هم غیراختصاصی را در مقابل بیماری‌های روده‌ای تحریک کنند. برای مثال، پژوهشگران دریافته‌اند که لاکتوباسیلوس کازئی در اسهال ویروسی، باعث افزایش پاسخ ایمنی می‌شود. اصولاً به غذایی پروبیوتیک گفته می‌شود که حاوی میکروارگانیسم‌هایی با ویژگی‌های زیر باشد:

میکروارگانیسم‌های آن در دسته پروبیوتیک‌ها طبقه‌بندی شده باشند، یعنی جزء فلور میکروبی طبیعی روده انسان باشند. به صورت زنده و فعال و به تعداد کافی به روده برسند. نسبت به اسید معده و نمک‌های صفراوی در روده باریک مقاوم باشند. توانایی اتصال به سلول‌های اپیتلیال روده را در رقابت با پاتوژنها داشته باشند. توانایی تولید ترکیبات آنتی‌پاتوژن مثل تولید اسیدلاکتیک، باکتریوسین و غیره را داشته باشند. درواقع پروبیوتیک‌ها به دو صورت مصرف می‌شوند:

مکمل‌های غذایی به شکل پودر، شربت یا قرص و مواد غذایی غنی شده با پروبیوتیک‌ها هستند. در استفاده از پروبیوتیک‌ها، نکات زیر حائز اهمیت‌اند: اثربخشی پروبیوتیک‌ها تا زمانی است

تأثیر بر کاهش چربی خون: اینولین به عنوان یک پریبیوتیک قادر است سبب کاهش چربی خون در حیوانات شود، اما برای اثبات این موضوع در انسان اختلاف نظر مشاهده می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که اینولین بر روی جایگاه اصلی فعالیت تری‌آسیل‌گلیسرید اثر گذاشته و سبب کاهش سنتز اسید چرب می‌شود که این جایگاه در انسان غیر فعال است.

تأثیر بر روی بیماری‌های التهابی: پریبیوتیکها میتوانند با تغییر فلور باکتریایی دستگاه گوارش سبب افزایش ایمنی و کاهش بیماری‌های التهاب روده‌ای شوند. مصرف ۵ گرم اینولین در روز سبب حفظ سلامتی معده و روده، مخصوصاً در بچه‌ها می‌شود.

تأثیر بر جذب عناصر مفید: مطالعاتی در این زمینه بر روی انسان و حیوانات انجام گرفته که نشان‌دهنده نقش مثبت پریبیوتیکها در جذب آهن، منیزیم، کلسیم و روی است. بررسی‌ها روی انسان نشان می‌دهند که اولیگوساکاریدهای غیر قابل هضم تأثیر مثبتی روی جذب کلسیم در هنگام افزایش کلسیم و در موقع نیازمندیها بخصوص دوران قاعدگی و بلوغ دارند. افزایش غلظت یونهای مثل کلسیم و منیزیم در روده سبب کنترل و مهار تغییر و تبدیلات سلولی می‌شود.

تأثیر در کاهش سرطان: در اثر تخمیر اولیگوساکاریدهای پروبیوتیک توسط باکتریهای تخمیرکننده در روده بزرگ بوتیرات حاصل می‌شود. که سبب کنترل و مهار تغییر و تبدیلات سلولی می‌گردد. همچنین پروبیوتیکها با افزایش رشد لاکتوباسیلوسها و بیفیدوباکتریومها سبب می‌شوند که این باکتریها به برخی از مواد سرطان‌زا چسبیده و آنها را غیر فعال کنند.

در بررسی اثر آنتی‌بیوتیک فلاوویسین و نوعی پریبیوتیک بر اکولوژی سکوم در جوجه‌های تازه متولد شده مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد هر چند هر دو ماده میکروفلور روده را تقویت می‌کنند اما استفاده از پریبیوتیک مزایای بیشتری همچون افزایش جذب مواد مغذی و کاهش خطر مقاومت دارویی را در پی دارد. استفاده از پریبیوتیک نیاز به آنتی‌بیوتیکها را بعنوان دوز پیشگیری از بین می‌برد و این امر در نهایت به سلامت جامعه کمک خواهد نمود.

References:

- www.medicinenet.com
- www.en.wikipedia.org/wiki/Probiotic
- www.webmd.com
- www.renewlife.com/probiotic
- www.probiotics.mercola.com

تازه متولد شده موجب بهبود فعالیت لوله گوارشی می‌گردد که این امر منجر به افزایش تولید متابولیت‌های باکتریایی (اسیدهای چرب فرار) می‌شود. این موضوع با افزایش اندازه پرزهای روده‌ای مرتبط است که منجر به بهبود هضم و جذب می‌گردد و در افزایش جذب انرژی و پروتئین و افزایش در جذب و ذخیره مواد معدنی خصوصاً کلسیم و فسفر نیز مؤثر است.

تقویت و بهبود سیستم ایمنی: جوجه‌هایی که در جیره آنها پریبیوتیک استفاده می‌شود نسبت به گروه شاهد دارای افزایش چشمگیری در ایمونوگلوبولین A(IgA) در دئودنوم خود در هنگام مواجهه با عفونت سالمونلایی هستند.

افزایش تقریباً صد برابر گونه‌های مفید لاکتوباسیل به همراه افزایش تولید باکتریوسین: در حضور پریبیوتیکها لاکتوباسیل رشد و تکثیر یافته و میزان زیادی باکتریوسین تولید می‌کند که ترکیبات ضد میکروبی طبیعی هستند و مانع از رشد و تکثیر باکتریهای مضر در هنگام استرس و بروز کوکسیدیوز می‌گردند. مهار باکتری سالمونلا: در جوجه‌های جوان، میکروفلور به طور کامل توسعه نیافته است و توسعه میکروفلور روده به سمت باکتری‌های مفید، مانع از رشد پاتوژنهایی همچون سالمونلا می‌گردد.

پریبیوتیکها: پریبیوتیکها طبق تعریف رسمی در سال ۱۹۹۵ به کربوهیدرات‌های غیر قابل هضمی اطلاق می‌شود که به طور انتخابی سبب تحریک رشد و فعالیت تعدادی از باکتری‌های روده شده و بدین وسیله اثرات سودمندی روی میزبان اعمال میکنند. از پریبیوتیکها می‌توان به اینولین، صمغ‌های فیبری، رافینلین، پیرو دکستروز، زایلان، استاکیوز، مالتودکستروز، لاکتولوز، اینولین، گزیلو اولیگوساکارید، لاکتوسوکروز، رافیلوز، لاکتولوز و فروکتوالیگوساکارید اشاره کرد. به ترکیب پروبیوتیک و پریبیوتیک، سین‌بیوتیک می‌گویند. (در شماره گذشته توضیحات مفصلی درباره پروبیوتیکها ارائه شد)

برخی اثرات پریبیوتیکها بر سلامت:

تأثیر بر روی یبوست: فیبرها با تخمیر ناقص در بدن سبب محصور شدن آب درون دستگاه معده‌ای و روده‌ای شده و از طرف دیگر تخمیر غذاهای فیبردار در بدن سبب افزایش حجم میکروبی و افزایش مدفوع می‌شود. در یک مطالعه که بر روی بیماران سالخورده دارای یبوست صورت گرفت، ثابت شد که اینولین قادر به کاهش یبوست و افزایش حجم مدفوع است.

گردآوری

نانوبادی‌ها ریز ابزارهای امیدبخش در ایمونوتراپی

آرمینا علاءیند بهرامی، دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی

دانشکده فن‌آوریهای نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

مونوکلونال، آنتی‌بادیهای تک‌دومینی با منشاء شتری هستند که به دلیل اندازه کوچکشان نانوبادی نیز نامیده می‌شوند. درحالی که بیوشیمیدان‌ها به تلاش خود در این زمینه ادامه می‌دادند، Raymond Hamers و همکارانش متوجه شدند که در اعضای خانواده شتری (شترها و لاماها) علاوه بر آنتی‌بادیهای معمول، آنتی‌بادیهایی وجود دارد که تنها حاوی زنجیره سنگین هستند و دومین متغیر آنها دارای ویژگیهای مطلوب و منحصر به فردی است. این کشف خارق‌العاده در سال ۱۹۹۳ در مجله Nature به چاپ رسید.

آنتی‌بادیهای خانواده شتری: آنتی‌بادیها در همه پستانداران، شامل دو زنجیره‌ی سنگین مشابه و دو زنجیره‌ی سبک مشابه هستند. اما استثنای جالب در این بین، در سرم انواع شترها است که علاوه بر آنتی‌بادیهای متداول، دارای مقادیر قابل ملاحظه‌ای از آنتی‌بادی‌های زنجیره سنگین (HCAbs) فاقد زنجیره سبک هستند. گزارش تحقیق انجام شده در سال ۱۹۹۳ بیان کرد که در اعضای خانواده شتری، علاوه بر آنتی‌بادیهایی با ساختار متداول هتروترامری، آنتی‌بادیهای فاقد زنجیره سبک نیز وجود دارد.

مزایای منحصر به فرد نانوبادی‌ها: نانوبادی کوچکترین قطعه اتصال به آنتی‌ژن است که ظرفیت اتصال به آنتی‌ژن را همانند آنتی‌بادیهای مشتق شده از آن دارا است.

این دومین را می‌توان بعد از تجزیه پروتئولیتیک مختصر توسط آنزیم endo-Glu V8 protease به دست آورد. وزن مولکولی نانوبادی ۱۵ کیلودالتون بوده، قطر آن ۲/۵ نانومتر و طولش ۴ نانومتر است. ساختار کریستالی آن نشان می‌دهد که نانوبادی در ساختمان خود حاوی دو صفحه β بوده که یکی حاوی ۴ رشته β و دیگری حاوی ۵ رشته β است.

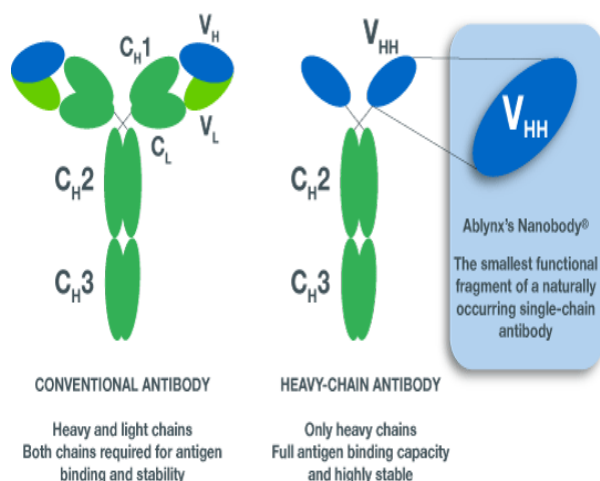
بدون شک یکی از پیچیده‌ترین بخش‌های بدن انسان سیستم ایمنی است. زمانی که عناصر و میکروارگانیسم‌های مهاجم وارد بدن می‌شوند، آنتی‌بادی‌ها تولید شده و زمینه خنثی‌سازی آنها را فراهم می‌کنند. اما گاهی سیستم ایمنی به خوبی عمل نمی‌کند. برای سالها داروسازان به دنبال ساختن آنتی‌بادیهایی بودند که بتواند ضعف‌های سیستم ایمنی را جبران کند. ظهور تکنولوژی هیبریدومای موشی در سال ۱۹۷۵ مرحله مهمی در توسعه تکنولوژی آنتی‌بادی بوده و راه را برای ظهور آنتی-بادیهای مونوکلونال درمانی هموار کرد. تا به امروز آنتی‌بادیهای مونوکلونال موشی متعددی به عنوان عوامل درمانی در محدوده وسیعی از کاربردهای پزشکی به کار گرفته شده است، اما این آنتی‌بادیها به دلیل بیگانه‌بودن، سبب تحریک سیستم ایمنی می‌شوند و همچنین اندازه بزرگ این آنتی‌بادیها کاربردهای درمانی آنها را محدود می‌کند. آنها به سرعت در روده تجزیه می‌شوند و از ورود آنها به مغز جلوگیری می‌شود.

بنابراین بسیاری از بیماران توانایی استفاده از آنتی‌بادیهای مونوکلونال را ندارند و از این رو مهندسين پروتئين به حذف قطعاتی از آنتی‌بادیهای متداول پرداختند. به حداقل رساندن اندازه پروتئین‌های اتصال آنتی‌ژن به ایمونوگلوبولین‌های تک دومنی هدف اصلی مهندسی آنتی‌بادی بوده است.

به تازگی با پیشرفت‌هایی که در زمینه ساخت آنتی‌بادیهای مونوکلونال صورت گرفته است امیدهایی تازه در درمان هدفمند و تشخیص زودهنگام بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان‌ها حاصل شده است، آنتی‌بادیهایی با اندازه کوچکتر، پایداری بالاتر و قدرت اتصال قوی‌تر. یکی از انواع این آنتی‌بادیهای

همانطور که در شکل مشاهده می‌شود یکی از ویژگی‌های چشمگیر آنتی‌بادی‌های زنجیره سنگین فقدان کامل اولین دومین ثابت زنجیره سنگین است.

عدم حضور این دومین، فقدان زنجیره سبک را در آنتی‌بادیهای زنجیره سنگین شرح می‌دهد زیرا این دومین به عنوان لنگرگاهی برای دومین ثابت زنجیره سبک عمل می‌کند. به دومین متغیر آنتی‌بادیهای زنجیره سنگین نانوآبدی یا VHH گفته می‌شود.



(VHH)

از دیگر ویژگیهای منحصر به فرد نانوآبدیها پایداری بالای کانفورماسیونی و گرمایی آنها است. نانوآبدیها در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد و یا بعد از انکوباسیون در دماهای بالا فعالیت اتصال خود را حفظ می‌کنند. این پایداری آشکار آنها عمدتاً به توانایی فولدینگ کارآمد آنها بعد از دناتوراسیون شیمیایی و حرارتی و به میزان کمتر به مقاومت آنها در برابر عوامل دناتوره‌کننده نسبت داده می‌شود.

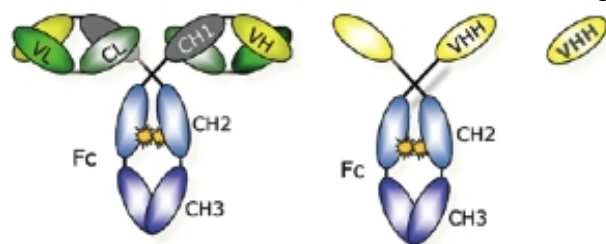
آزمایشات نشان می‌دهد نانوآبدیها در برابر عوامل دناتوره‌کننده غلظتهای بالای اوره، مواد شوینده، pHهای بالا و پائین و پروتازها مقاومند. این مقاومت آنها را در برابر pH و پروتاز قادر می‌سازد تا بتوانند در شرایط دشوار همانند شرایطی که در معده یافت می‌شود پایدار مانده و فعالیت بیولوژیکی خود را حفظ کنند. بنابراین میتوان به صورت خوراکی نیز از آنها استفاده کرد. حلالیت بالا از دیگر ویژگیهای نانوآبدیها بوده که عمدتاً به علت جایگزینی اسیدهای آمینه آبگریز در ناحیه ۲ Framework و پیش‌لپ CDR3 بر روی نواحی بالقوه هیدروفوب هستند.

ماهیت تک‌دومینی نانوآبدی‌ها، خصوصیات منحصر به فردی به آنها در مقایسه با قطعات اتصال یابنده به آنتی‌ژن مشتق شونده از آنتی‌بادی‌های متداول می‌دهد.

آسانی تولید و فرمولاسیون: بیان نانوآبدیهای نو ترکیب منجر به تولید پروتئین‌های تک‌دومینی ۱۵ کیلودالتونی می‌گردد. در مقایسه با دومین‌های VH (تک‌دومین زنجیره سنگین) آنتی‌بادی‌های متداول، نانوآبدی‌ها به علت خصوصیات ساختاری و ذاتیشان، به طور بسیار مؤثری به شکل محلول و بدون توده‌ای شدن، بیان می‌شوند. حتی با بهینه نبودن شرایط، می‌توان با بیان در باکتری E.coli به عنوان میزبان، تا میزان 10mg/l نانوآبدی بدست آورد. سیستم بیانی دیگری از جمله یک سری قارچ‌ها و مخمرها، ترشح میزان بالایی از نانوآبدی‌ها در حد 10mg/l تا 1g/l نشان داده‌اند.

حتی تولید بالای یک کیلوگرم از فرمانتاسیون ۱۵ مترمکعبی هم حاصل شده است. به علت پایداری فوق‌العاده آنها در مقایسه با آنتی‌بادی‌های متداول، نانوآبدیها می‌توانند با عمر قفسه‌ای طولانی و محلول‌های آماده برای مصرف فرموله شوند.

به علت خصوصیات منحصر به فرد از جمله سایز، حلالیت، پایداری درونی، آسانی اتصال چند نانوآبدی به هم، قابلیت شناسایی اپی‌توپ‌های نامعمول یا مخفی، توانایی اتصال به حفرات یا سایت‌های فعال اهداف آنزیمی، سهولت و سرعت در کشف دارو و نهایتاً سهولت در تولید، از سایر اشکال آنتی‌بادی‌های متداول متمایز گردیده و باعث برتری محسوس آن در کاربردهای بیوتکنولوژی و پزشکی شده است. تهیه کتابخانه فارمیدی از این پروتئین‌های کوچک به آسانی امکان‌پذیر است، درحالی که در حین تهیه کتابخانه از آنتی‌بادی‌های رایج، آرایش دومین‌های متغیر زنجیره‌های سبک و سنگین به میزان زیادی تغییر می‌کند.

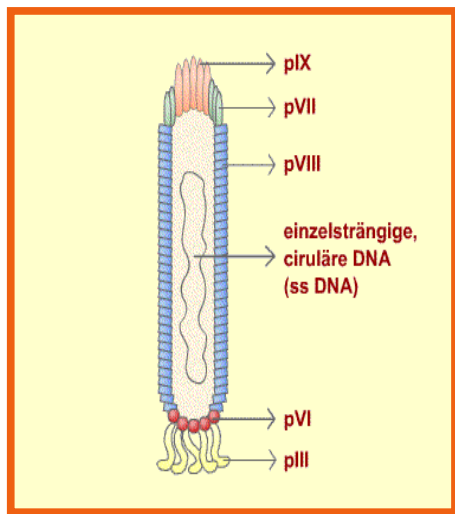


شکل ۱. از چپ به راست: آنتی‌بادی کلاسیک، آنتی‌بادی زنجیری سنگین و تک‌دومین اتصال یابنده به آنتی‌ژن (نانوآبدی) که از آنتی‌بادی زنجیره سنگین مشتق شده است. Fc= Fragment Constant, VH= Variable Heavy (Camelidae), CH1- Constant Heavy1

تولید نانوبادی با تکنیک نمایش فاژی:

روش نمایان سازی فاژی، روشی بسیار قدرتمند برای نمایان کردن میلیون ها یا حتی میلیارد ها پپتید و پروتئین مختلف در کتابخانه های فاژی است. یکی از موفق ترین موارد استفاده از این روش که در سال های اخیر گسترش فراوانی داشته است، طراحی و ساخت کتابخانه های بزرگ فاژی حاوی آنتی بادی، غربالگری و انتخاب هوشمندانه آنتی بادی هایی با ویژگی های مورد نظر با بهره گیری از این کتابخانه هاست.

روش تولید آنتی بادهای نو ترکیب با استفاده از فناوری نمایش فاژی (phage display) از موثرترین راه های تولید نانوبادی است. این روش در سال ۱۹۸۵ برای اولین بار توسط Smith برای پپتیدهایی غیر از آنتی بادی به کار گرفته شد. این تکنیک به دلیل داشتن ویژگی های خاص به شدت مورد توجه قرار گرفته و دارای کاربرد گسترده ای است. قابلیت اساسی و ویژه این روش همراهی فنوتیپ (آنتی بادهای بیان شده در سطح فاژ) و ژنوتیپ (ژن کلون شده در وکتور) است به نحوی که بعد از جداسازی فاژهای مناسب براساس فنوتیپ به راحتی می توان اقدام به تولید انبوه آنتی بادی اختصاصی بر پایه ژنوتیپ نمود.



شکل ۶: فاژ M13

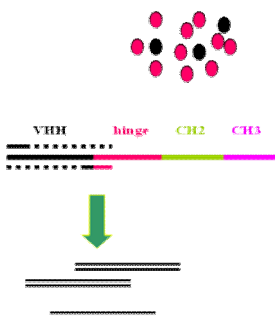
مراحل کلی تهیه نانوبادی با فناوری نمایش فاژی عبارت

است از:

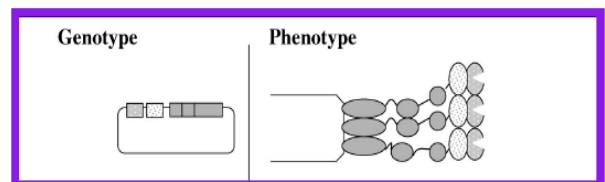
۱. استخراج و تکثیر ژن زنجیره های سنگین
۲. کلون سازی ژن آنتی بادی در وکتور فاژی
۳. جداسازی فاژهای بیان کننده مناسب (مرحله selection یا panning)
۴. تعیین خصوصیات آنتی بادی تولید شده در مرحله غربالگری (Screening)

مرحله اول - استخراج و تکثیر: برای استخراج ژن آنتی بادی

بهترین منبع، سلولهای B است. در ابتدا شتر توسط آنتی ژن مورد نظر ایمن شده و سپس از ورید گردنی حیوان خونگیری می شود. سپس در آزمایشگاه سلولهای B از خون جدا شده و مورد استفاده قرار می گیرد. mRNAهای موجود در سلولهای B توسط ستون oligo dT جدا می شود و سپس mRNA با استفاده از آنزیم نسخه برداری معکوس به cDNA تبدیل شده و این cDNA الگوی قابل استفاده برای تکثیر ژن آنتی بادی در مرحله PCR محسوب می گردد. غالباً پرایمرها طوری طراحی می شود که تنها از روی قسمت VHH تکثیر صورت پذیرد.



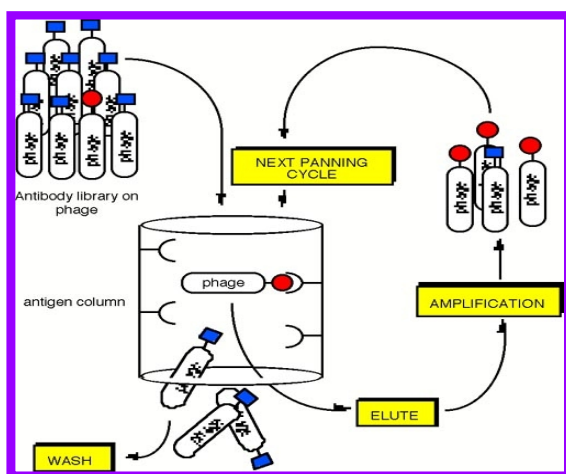
شکل ۷: استخراج و تکثیر



شکل ۵: همراهی فنوتیپ با ژنوتیپ

اساس این روش مانند روشهای کلون سازی دیگر ژنهاست. با این تفاوت که در اینجا از وکتورهای فاژی استفاده می گردد و محصول بیان ژن نیز به جای آن که در سیتوپلاسم باکتری رها گردد، به همراه پروتئینها سطحی فاژ به ناحیه کپسید کشیده شده و در سطح فاژ بیان می گردد و نهایتاً با رهاسدن فاژ می توان فاژهایی را که نانوبادی مناسب را بیان کرده اند از بقیه انواع فاژها جدا نمود. تاکنون از انواع متعدد فاژها مانند فاژهای M13, T3, T4 برای این هدف استفاده شده است. از میان این فاژها، فاژ M13 کاربرد بیشتری دارد زیرا بر خلاف فاژهای ذکر شده در بالا به هنگام رهاسدن از باکتری آن را تخریب ننموده و سبب حفظ ادامه رشد باکتری می شود.

تکرار این مرحله سبب غنی شدن کتابخانه نانوبادی اختصاصی با بیشترین میل پیوندی می گردد.



شکل ۹: غنی سازی

مرحله چهارم - غربالگری:

آنتی بادیهای تولید شده نهایتاً باید تحت آزمایشات گوناگون تعیین خصوصیات گردد. بررسی خاصیت اتصال، میل پیوندی و کینتیک نانوبادی آزمایشاتی هستند که معمولاً بر روی آنها انجام می شود. در این مرحله می توان از تکنیک هایی چون الایزا، وسترن بلاتینگ، ایمونوسیتوشیمی، و ایمونوهیستوشیمی بهره گرفت، اما غالباً رایجترین روش، استفاده از الایزا است.

کاربردهای نانوبادی:

نانوبادی ها با پایداری بالایی که دارند در مواردی نظیر استفاده در شامپو برای جلوگیری از شوره، به عنوان موادگیرنده در تخلیص بر اساس ایمونوافینیته یا استفاده در بیوسنسورها بسیار مناسب و کارا هستند. با وجود این کانون توجه ما بیشتر به سایر کاربردهای درمانی آنها خواهد بود که بسیار چالش برانگیز است. هم اکنون چندین مطالعه بر روی نانوبادیها برای استفاده در بیماری هایی شامل: سرطان ها، بیماری های عفونی، التهابی و تحلیل برنده اعصاب، در حال انجام است. نانوبادی ها به علت مقاومت در برابر pH های خیلی زیاد و ظرفیت اتصال به هدف حتی با وجود غلظت های بالا از مواد کائوتروپیک، برای ایمونوتراپی خوراکی بسیار مناسب هستند.

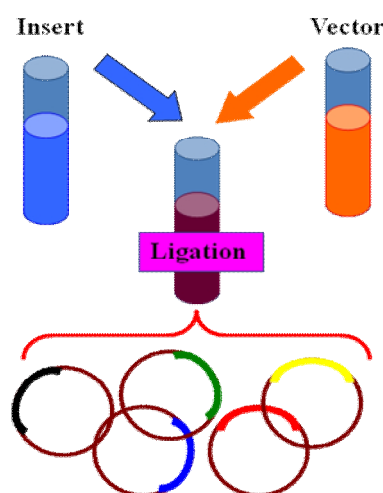
نیمه عمر سرمی کوتاه به خاطر پاکسازی سریع کلیوی، کارایی نانوبادیها را در بسیاری از موارد تزریقی محدود ساخته است.

به همین دلیل برای تبدیل آنها به پروتئین هایی با نیمه عمر بالا، نانوبادی هایی طراحی شده اند که علاوه بر هدف درمانی، بتوانند

مرحله دوم - کلون سازی: در این مرحله قطعه ژنی کلون

شونده و وکتور هر دو توسط آنزیم های محدود کننده مانند Sfi I، Not I بریده می شوند.

قطعه ژنی بریده شده و نیز وکتور بریده شده در کنار یکدیگر قرار می گیرد. برای راحت کردن انتخاب دومن های VHH غالباً ژن آن را در منطقه ای نزدیک ژن پروتئین III در وکتور وارد می کنند تا به هنگام بیان در سطح فاژ به صورت متصل به این پروتئین سطحی باقی بماند.



شکل ۸: کلونینگ

مرحله سوم - انتخاب:

مرحله سوم فناوری نمایش فاژی، جداسازی فاژهای بیانگر مناسب از میان مجموعه فاژهاست که به آن اصطلاحاً غنی سازی یا panning گفته می شود. از آنجا که نانوبادیها در سطح فاژ دارای عملکرد هستند، بنابراین میتوان فاژی را که نانوبادی مورد نظر را حمل می کند از میان فاژهای غیراختصاصی جدا کرد.

در این مرحله ابتدا فاژها بر روی یک سطح یا ستون که آنتی-ژنهای مورد نظر بر روی آن قرار دارد وارد می شود. سپس ستون شسته شده تا فاژهای غیرمتصل خارج شود. سپس فاژهای متصل از ستون جدا شده و مجدداً توسط آنها باکتری آلوده می گردد. باکتری رشد کرده و فاژها رها می شود و مجدداً نانوبادی در سطح فاژ بیان خواهد شد.

شاید به طور ایده آل فقط یک مرحله غنی سازی کافی به نظر برسد ولی به دلیل وجود اتصالات غیراختصاصی غالباً این مرحله چندین بار تکرار می گردد.

نانوبادی می‌گردد. برای مثال داروی ART621 که در آن نانوبادی علیه TNF را به قسمتی از Fc متصل کرده‌اند، در مدل‌های حیوانی خصوصیات مناسبی از لحاظ پایداری، طول مدت فعالیت و مکان بافتی از خود نشان داده‌است.

نانوبادی‌ها برای انتقال داروها به نواحی غیرقابل دسترس نظیر مغز (به صورت انتقال فعال) هم قابل استفاده‌اند.

مزایا	اساس مولکولی
ماهیت تک‌دومینی	دست‌کاری ژنتیکی آسان
طراحی لینکرهای انعطاف پذیرتر و عدم جفت شدن‌های نابجا بین دومین‌های VL و VH	تولید آسان چندظرفیتی
ناهیت تک‌دومینی و آبدوستی زیاد و به دنبال آن راحتی شکل‌گیری مؤثر و مناسب	پایداری فیزیکی شیمیایی بالا
آبدوستی زیاد	حلالیت بالا
اندازه کوچک و CDR3 بسط یافته	شناسایی آنتی‌ژن‌های مخفی و غیرقابل دسترس
اندازه کوچک	نفوذ سریع بافتی، شاک‌سازی سریع
ماهیت تک‌دومینی و آبدوستی زیاد و به دنبال آن راحتی شکل‌گیری مؤثر و مناسب	بیان خوب در سیستم تولید

بعد از تلاش‌های مبتکرانه بر روی سلول‌های اندوتلیالی سربرومیکروسکولاری (عروق کوچک مغزی)، نانوبادی شناسایی شد که آشکارا متحمل یک ترانسیستوز وابسته به گیرنده (عبور سلولی به واسطه گیرنده) می‌شد.

با اتصال داروها به این نانوبادی انتقال از غشای مغزی-خونی (Blood-Brain Barrier: BBB) به سهولت انجام گرفت و به علت مقاومت به پروتازها، این نانوبادی در طی انتقال ترانس اندوتلیالی عروق تخریب نشد و با نداشتن قسمت‌های Fc از طریق سیستم «راندن به خارج بواسطه گیرنده Fc» کنژوگه مورد نظر در مغز باقی ماند و خارج نشد.

دستکاری ژنتیک راحت، تولید راحت اشکال چند عملکردی، پایداری فیزیکی شیمیایی بالا، توانایی تشخیص نواحی آنتی‌ژنی پنهان، نفوذ سریع به بافتها، کلیرانس سریع و بیان خوب در باکتری‌ها از جمله خصوصیات آنهاست. از آنجا که نانوبادیا دارای همولوژی بالایی با ژن VH خانواده III انسانی هستند،

پروتئین‌های سرمی شامل آلبومین یا ایمونوگلوبولین را نیز شناسایی کنند و بدین ترتیب با اتصال به آن‌ها، نیمه‌عمر نانوبادی‌ها (۲ به ترتیب و ۹ روز، در موش) افزایش یافته است.

راه مشهور دیگر برای افزایش نیمه عمر سرمی نانوبادی‌ها، افزودن شیمیایی پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) به آن‌ها است.

اندازه کوچک و ماهیت تک‌دومینی شبه‌کروی نانوبادی‌ها امکان دستیابی به شکاف‌ها و حفرات یا اپی‌توپ‌های مخفی بر سطح هدف را که برای قطعات آنتی‌بادی بزرگتر غیرقابل دسترس اند، فراهم کرده و باعث نفوذپذیری آسان و سریع ارگانی آن‌ها به بافت‌های متراکم نظیر تومورها می‌گردد.

نزدیکی به مواد سمی موجود در زهرها از لحاظ وزن مولکولی و اندازه، از نابدی‌ها، کاندیداهای مناسبی برای خنثی سازی سموم ساخته است. البته برای موارد درمانی، در انسان باید فرآیندهایی از قبیل انسانی کردن بر روی آن‌ها صورت گیرد که برای نانوبادی‌ها با شباهت بالا به VH انسانی بسیار آسان است.

صرف‌نظر از نانوبادی‌های خنثی کننده سم که در سرم درمانی علیه عقرب می‌توان استفاده کرد با ساخت نانوبادی‌هایی علیه اپی توپی خاص بر روی هدف می‌توان یک اثر درمانی را هم شاهد بود.

تجویز خوراکی و روزانه نانوبادی اختصاصی برای Streptococcus mutants باعث کاهش پلاک‌های دندانی در موش‌ها شد. تجویز خوراکی نانوبادی‌های اختصاصی علیه روتاویروس و یا باکتری‌های لاکتوباسیلوس که در سطح خود، این نانوبادی‌ها را بیان کرده‌اند، به طور وسیعی از میزان ویروس، شدت اسهال ناشی از آن و طول دوره بیماری در یک مدل موش کاستند.

نانوبادی‌ها در اتصال با سایر اجزا

سایز کوچک و ماهیت منومری نانوبادی‌ها (سایز اگزونی 350bp) مزیتی به شمار می‌آید که به آسانی بتوان آن‌ها را با هر جزئی به طور شیمیایی یا ژنتیکی وصل کرد. به طور مثال اتصال یک نانوبادی علیه آلبومین سرمی به یک آنتی‌گنیست گیرنده اینترلوکشین یک (IL-1ra) با طول عمر کوتاه، باعث افزایش نیمه‌عمر این کنژوگه (به علت اتصال با آلبومین با طول عمر بسیار بالا) و در نتیجه بهبود در کارایی IL-1ra خواهد بود.

در مواردی هم این جزء دوم است که باعث افزایش عمر

نانوبادی‌ها از لحاظ ایمنی‌زایی بسیار ضعیف هستند به طوری که در مطالعات حیوانی، تجویز مکرر نانوبادی‌ها هیچ پاسخ ایمنی سلولی یا همورالی قابل توجهی نشان نداد. به همین منظور نانوبادی‌هایی که آنتی‌ژن‌هایی از قبیل (HER2 (Human Epidermal growth factor Receptor 2 و MUC1 EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor 1) در سرطان سینه را مورد هدف قرار دادند با نتایج بسیار امیدبخشی همراه بوده است.

از دیگر نانوبادی‌های موفق می‌توان به مواردی اشاره کرد که مانع از ساخت عروق جدید در تومورها و در نتیجه مانع خون‌رسانی به آن‌ها می‌گردند. از جمله: VEGF (Vascular Endothelial Endoglin Growth Facto)

کاربرد نانوبادی در تصویر برداری

تشخیص دقیق و سریع بیماری در مراحل اولیه، یکی از فاکتورهای مهم در مبارزه با عفونت‌ها و بدخیمی‌ها است. تعدادی از ترکیبات تجاری که در تصویربرداری استفاده می‌گردند، مشتقاتی از آنتی‌بادیهای موشی هستند. این آنتی‌بادیها سیستم ایمنی را تحریک کرده و قدرت نفوذپذیری و کلیرانس پائینی دارند. به همین علت کونژوگ‌های Radiolabel سبب پرتوافشانی و سمیت برای اندامهای نرمال می‌شوند. همچنین به دلیل وجود این معایب واکنشهای غیراختصاصی زمینه‌ای در صورت استفاده از این آنتی‌بادیها افزایش می‌یابد.

ویژگیهای منحصر به فرد نانوبادیها سبب شد که به عنوان ماده‌ای ایده‌آل برای نفوذ به بافتهای هدف و تصویربرداری مورد استفاده قرار گیرد. نانوبادیهای نشاندار توانائی حمل نشانها را به بافتهای سرطانی داشته و قادرند کوچکترین متاستازها را از واکنشهای غیراختصاصی زمینه‌ای تشخیص دهد. این ترکیبات توانائی نفوذ به داخل هدف مورد نظر را داشته و با میل پیوندی بالا بدون اینکه بافتهای نکروتیک (تخریب شده) اطراف نفوذ کند، به آن متصل می‌شود.

به علاوه نانوبادیهای نشاندار غیر متصل سریعاً از خون حذف گردیده تا فاصله زمانی میان تزریق و تصویربرداری تا آنجا که ممکن است کاهش یافته و تماس کل بدن با پرتوهای مضر به حداقل برسد.

استفاده از آنها سبب تحریک سیستم ایمنی نخواهد شد. اما گاهی نیمه‌عمر سرمی کوتاه ناشی از کلیرانس سریع کلیوی نانوبادیها بعضی از کاربردهای تزریقی آنها را محدود می‌کند. بنابراین VHH ها را به سمت پروتئینهای با طول عمر سرمی بالا از قبیل آلبومین یا ایمونوگلوبولین هدف‌گیری می‌کنند.

برای این منظور از نانوبادیهای دو خاصیتی (Bispecific) استفاده میشود که علاوه بر آنتی‌ژن هدف، پروتئینهای سرمی را نیز شناسایی می‌کنند. روش دیگر برای افزایش نیمه عمر افزودن شیمیایی پلی‌اتیلن گلیکول است.

نانوبادی‌ها به عنوان ابزار تشخیصی و درمانی در سرطان

تشخیص سریع و مطمئن، آن هم در مراحل اولیه بیماری یا مانیتورینگ و ارزیابی کارایی درمان، چالش اصلی در تشخیص و درمان سرطان است. یک ماده نمایشگر ایده‌آل در سرطان باید نفوذ خوبی به بافت توموری و توانایی کشف کوچکترین متاستازها را داشته باشد، ضمن اینکه سریعاً هم از سیستم خونی پاک شود. کینتیک طولانی پاکسازی آنتی‌بادی‌های دست نخورده (با اینکه توانایی بالایی در انتقال رادیونوکلوئیدها به تومورها را دارند) مانع از استفاده آن‌ها به عنوان مواد نمایشگر شده است. قدرت نفوذ فوق‌العاده نانوبادی‌ها، تماثل بالای آن‌ها برای اتصال به هدف و همینطور پاکسازی سریع خونی نانوبادی‌های مازاد که به هدف وصل نشده‌اند، از ابزارهای ایده‌آلی برای نمایشگری شناخته شده است.

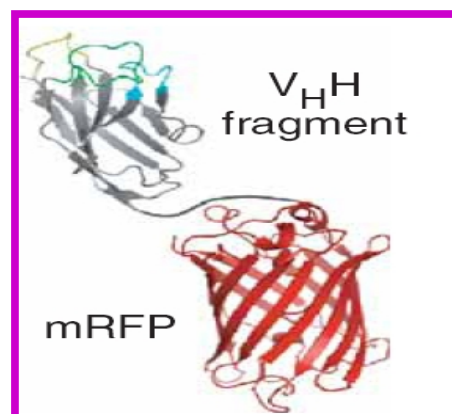
علاوه بر پتانسیل نانوبادی‌ها به عنوان مواد نمایشگر، کاربردهای دیگری هم در حوزه تشخیص دارند.

برای مثال تشخیص اولیه و تعیین مرحله (Stage) سرطان پروستات بر پایه شناسایی آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA) در جریان خون صورت می‌گیرد. اما ایزوفرم‌های متفاوتی از PSA در خون وجود دارد که تعدادی از آن‌ها اندیکاتورهای بهتری برای شناسایی اختلالات پروستاتیک هستند. اخیراً نانوبادی‌هایی تولید شده‌اند که می‌توانند بین انواع ایزوفرم‌های متفاوت PSA تمایز قائل شوند.

نکته جالب توجه اینکه این نانوبادی‌ها می‌توانند تغییرات کانفورماسیونی در ایزوفرم‌های ذکر شده را حس کرده و بدین ترتیب می‌توان پی برد که سرطان پروستات در چه مرحله‌ای قرار دارد.

شناسایی و تعقیب آنتی‌ژنها در سلولهای زنده با نانوبادیهای فلورسانت

آنتی‌بادیها ابزارهای سودمندی برای تجسم اجزا سلولی در سلولهای فیکس شده است، اما کاربرد آنها در سلولهای زنده محدود است. از این رو اجزا درونی سلول زنده غیر قابل رؤیت مانده و نمیتوان آن را مورد مطالعه قرارداد. بنابراین برای غلبه بر این محدودیت میتوان از نانوبادیها به جای آنتی‌بادیهای معمول بهره گرفت. برای این منظور در ابتدا لنفوسیتها از شترهای ایمن شده با پروتئین فلورسانت سبز رنگ (GFP) جدا می‌شود. سپس توالی کدکننده نانوبادی علیه GFP به روش PCR تکثیر می‌یابد. برای آزمودن توزیع این نانوبادیها (GFP-VHH) در سلولهای زنده، آن را با پروتئین فلورسانت قرمز مونومریک (mRFP) که قابل رؤیت است ادغام نموده و حاصل را GFP-chromobody نامگذاری کردند. سپس توانائی GFP-chromobody را در دستیابی و اتصال به اپی‌توپها در بخشهای مختلف سلولی مورد ارزیابی قرار دادند.



شکل ۱۲ GFP-chromobody

به عنوان یک اپی‌توپ رایج در سیتوپلاسم از B-اکتین متصل به GFP، که به فیلامنت‌های اکتین در حال رشد ملحق می‌شوند، استفاده شد و به این ترتیب تجسم مستقیم ساختارهای حاوی اکتین فراهم شد. وکتور حاوی ژن GFP-chromobody را به طور همزمان با وکتور حاوی GFP-B-actin به سلولهای Hela وارد کردند و سپس این سلولها را با میکروسکوپ Confocal بررسی کردند.

حضور رنگ سبز و قرمز در محل اسکلت سلولی نشان از الحاق صحیح GFP-B-actin به فیلامنتهای اکتین و تشخیص کارا با GFP-chromobody بود.

همچنین برای آزمودن توانائی اتصال نانوبادی به ساختارهای هسته از هیستون H2B متصل به GFP به عنوان یک اپی‌توپ هسته-ای استفاده شد. مشابه روش قبل، تصاویر میکروسکوپی، نشان از تشخیص کارآمد اپی‌توپهای هسته‌ای بود. این نتایج حاکی از آن است که GFP-chromobody به طور کارآمدی اپی‌توپهایش را در بخشهای مختلف سلولی شناسایی کرده و به آنها متصل می‌شوند. در آزمایشی دیگر توانائی GFP-chromobody را در تعقیب اپی-توپش در طول چرخه سلولی با استفاده از HB-GFP بررسی کردند. تصویربرداری با میکروسکوپ با فاصله زمانی (Time-Lapse) از سلولهای Hela ترانسفکت شده، نشان داد که GFP-chromobody در طول حالت‌های مختلف تراکم کروماتین در طول میتوز در یک محل واقع میشوند. این نتایج نشان می‌دهد که نانوبادیها توانائی تعقیب آنتی‌ژنها را در طول چرخه سلولی بدون اثر بر روی پیشرفت و کارایی چرخه دارا هستند.

Reference:

1. Vu KB, Ghahroudi MA, Wyns L, Muyldermans S. Comparison of llama VH sequences from conventional and heavy chain antibodies. *Mol Immunol* 1997;34:1121-31.
2. Cortez-Retamozo V, Lauwereys M, Hassanzadeh GG, et al. Efficient tumor targeting by single-domain antibody fragments of camels. *Int J Cancer* 2002;98:456-62.
3. Cortez-Retamozo V, Backmann N, Senter P.D., et al. Efficient Cancer Therapy with a Nanobody-Based Conjugate. *Cancer Research*. 2004 ; 64: 2853-2857
4. Baral T., Magez S., Stijlemans B., et al. Experimental therapy of African trypanosomiasis with a nanobody-conjugated human trypanolytic factor. *Nature Methods*.2006;12(5):580-584.
5. Rothbauer U., Zolghadr K., Tillib S., et al. Targeting and tracing antigens in live cells with fluorescent nanobodies. *Nature Methods*.2006; 3(11):887-889.
6. Harmsen MM, De Haard HJ (November 2007). "Properties, production, and applications of camelid single-domain antibody fragments" *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 77 (1): 13-22
7. Möller, A.; Pion, E; Narayan, V; Ball, KL (September 2010). "Intracellular activation of interferon regulatory factor-1 by nanobodies to the multi-functional (Mf1) domain" *The Journal of biological chemistry (J Biol Chem)* 285 (49): 38348-38361 "Pipeline" Ablynx. Retrieved 20 January 2010.

8. Saerens, D.; Ghassabeh, G.; Muyldermans, S. (2008). "Single-domain antibodies as building blocks for novel therapeutics". *Current Opinion in Pharmacology* 8 (5): 600–608
9. Harmsen, M. M.; Solt, C. B.; Zijderveld-Van Bommel, A. M.; Niewold, T. A.; Zijderveld, F. G. (2006). "Selection and optimization of proteolytically stable llama single-domain antibody fragments for oral immunotherapy". *Applied Microbiology and Biotechnology* 72 (3): 544–551
10. Maass D.R., Sepulveda J., Pernthaner A., et al. Alpaca (Lama pacos) as convenient source of recombinant camelid heavy chain antibodies (VHHs). *J Immunol Methods*.2007;324(1-2):13-25..
11. Harmsen M.M., De Haard H.J.Properties, production, and applications of camelid single-domain antibody fragments. *Appl Microbiol Biotechnol*.2007;77:13-22.
12. Revets H., De Baetselier P., Muyldermans S. Nanobodies as novel agents for cancer therapy. *Expert Opin. Biol. Ther*.2005;5(1):111-124.
13. Hamers-Casterman C., Atarhouch T., Muyldermans S., et al. Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature*.1993;363:446-448.
14. Maass D.R., Sepulveda J., Pernthaner A., et al. Alpaca (Lama pacos) as a convenient source of recombinant camelid heavy chain antibodies (VHHs). *J Immunol Methods*.2007;324(1-2):13-25.
15. Riechmann L., Muyldermans S. Single domain antibodies: comparison of camel VH and camelised human VH domains. *J Immunol Methods*.1999;231:25-38.
16. Liu J.L., Anderson G.P., Delehanty J.B., et al. Selection of cholera toxin specific IgNAR single-domain antibodies from a naive shark library. *Mol Immunol*. 2007;44:1786–1794.
17. Carmen S. and Jermutus L.Concepts in antibody phage display. *Brief Funct Genomic Proteomic*. 2002; 1(2): 189–203.
18. Rothe A., Hosse R.J., Power B.E. In vitro display technologies reveal novel biopharmaceutics. *FASEB J*.2006;20:1599-1610.
19. Alvarez-rudea N., Behar G., Fere V., et al.Generation of llama single-domain antibodies against methotrexate, a prototypical hapten. *Mol Immunol*. 2007;44:1680-1690.
20. Cortez-Retamozo V., Backmann N., Senter P.D., et al. Efficient Cancer Therapy with a Nanobody-Based Conjugate. *Cancer Research* . 2004 ; 64: 2853–2857.
21. Cortez-Retamozo V., Lahoutte T., Caveliers V., et al. 99mTc-Labeled Nanobodies: A New Type of Targeted Probes for Imaging Antigen Expression.*Current Radiopharmaceutics*.2008; 1: 37-41.
22. Baral T., Magez S., Stijlemans B., et al.Experimental therapy of African trypanosomiasis with a nanobody-conjugated human trypanolytic factor. *Nature Methods*.2006;12(5):580-584.
23. Rothbauer U., Zolghadr K., Tillib S., et al. Targeting and tracing antigens in live cells with fluorescent nanobodies. *Nature Methods*.2006; 3(11):887-889.

گردآوری (قسمت اول)

ژن درمانی نابینایی مادرزادی Leber

ماریه سقائیان

دانشجوی دکتری تخصصی پزشکی مولکولی

دانشکده فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

مقدمه

شبکیه روی مدل‌های حیوانی موشی، سگی، پرماتها و چندین تریال انسانی روی بیماریهای چشمی RP, Stargart's, AMD, Choroideremia (Age related macular degeneration) و LCA انجام شده و در حال انجام است. خلاصه‌ای از این مطالعات در جدول شماره ۱ آمده است. بیشترین پیشرفت در پروژه ژن‌درمانی نابینایی مادرزادی Leber (LCA) حاصل گشته است. این پروژه اکنون در فاز III کلینیکال تریال است.

RETINAL DISEASE	NAME/VECTOR	MECHANISM OF ACTION	SPONSOR/INSTITUTION	CLINICAL STUDY PHASE
AMD (EXUDATIVE)	AAV2-SRLT01	EXPRESSES ANTI-VEGF PROTEIN	GENZYME/SANOFT	PHASE I
CHORIOIDEMIA	rAAV2.REP1	ENCODES Rab-ESCORT PROTEIN (REP-1)	IMPERIAL COLLEGE OF LONDON OXFORD UNIV/MOORFIELDS	PHASE I
LEBER'S CONGENITAL AMAUROSIS	AAV2-hRPE65v2	PRODUCES RPE65 GENE	CHILDREN'S HOSPITAL OF PHILADELPHIA	PHASE III
RETINITIS PIGMENTOSA (AR)	rAAV2-VMD2-hMERTK	PRODUCES MERTK	KING KHALED EYE HOSPITAL	PHASE I
STARGART'S	STARGEN	EXPRESSES ABC4 GENE	OXFORD BIOSCEINCES/ SANOFT	PHASE I
USHER'S SYNDROME (18)	USHSTAT	PRODUCES MYO7A PROTEIN	OXFORD BIOMEDICA	PHASE I

جدول ۱: فهرست مطالعات کلینیکال تریال ژن درمانی شبکیه تا سال ۲۰۱۲- (۱۷)

همانطور که مشاهده می‌شود در اکثر مطالعات از ویروس همراه آدنو به عنوان وکتور استفاده شده است. روی هم رفته با توجه به روند روبه‌رشد ژن درمانی از سال ۱۹۸۹ تاکنون میتوان آینده روشن و رنگی برای نابینایان و کم‌بینایان انتظار داشت. در این تحقیق مقدمه‌ای بر روشهای رایج یک مطالعه ژن‌درمانی چشم و چکیده‌ای از نتایج منتشر شده در ارتباط با مسیر پیشروی پروژه ژن درمانی نابینایی مادرزادی Leber ارائه شده است.

در سال ۱۹۸۹ دکتر روزنبرگ برای اولین بار در یک مطالعه تریال انسانی از روش ژن درمانی استفاده نمود. از آن زمان تاکنون بیش از ۹۰۰ مطالعه clinical trial انسانی پایان یافته و یا در حال انجام است. از لحاظ آماری بیش از دو سوم این مطالعات در آمریکا رخ داده و سه بیماری سرطان، نقص‌های تک‌ژنی و مشکلات قلبی عروقی به ترتیب بیشترین موضوعات ژن درمانی را به خود اختصاص داده‌اند (۲۳).

چشم، به دلایل متعددی هدف مناسبی برای ژن درمانی است. آناتومی ویژه چشم امکان انتقال ژن به ناحیه‌ای محدود را فراهم می‌کند و متعاقباً تزریق سیستمیک و خطرات ناشی از آن قابل اجتناب است. بعلاوه در دسترس بودن چشم امکان برآورد بازدهی درمان و پیگیری لحظه به لحظه را برای محققین فراهم می‌آورد. از همه مهمتر چشم از سیستم ایمنی مصون است (eprivileged Immun) به همین دلیل پاسخ‌های ایمنی ناخواسته در چشم میزبان کمتر نتایج ژن درمانی را مختل می‌نماید (۱۷).

اختلال در عملکرد هریک از اجزای چشم به دلایل ارثی یا اکتسابی می‌تواند منجر به انواع بیماریهایی مانند تحلیل ماکولار وابسته به سن (AMD)، رتینیت پیگمنتوزا (Retinitis pigmentosa)، رتینوپاتی دیابتیک، گلوکوما، نابینایی مادرزادی Leber (Leber's congenital amaurosis) و ... گردد که بسیاری از آنها توسط روشهای معمولی غیرقابل درمانند (۲۶). برای مثال تاکنون حدود ۱۲۰ ژن مرتبط با ناهنجاریهای تک ژنی ارثی شبکیه شناخته شده و به طور میانگین از هر ۳۰۰۰ نفر، ۱ نفر ناهنجاری شبکیه را به ارث میرسد که می‌تواند به ژن درمانی امیدوار باشد (۷).

تا سال ۲۰۱۲ تعداد زیادی از مطالعات ژن درمانی چشم و

روشهای رایج انتقال ژن به چشم

در انواع مطالعات ژن درمانی سه هدف اصلی دنبال می شود. در ژن درمانی جایگزینی (Replacement gene therapy) هدف از انتقال ژن جایگزینی ژن ناقص درون زاد (Endogenous) است درحالی که در ژن درمانی gene silencing ترانس ژن وظیفه خاموش نمودن یا مهار ژن بیش فعال درون زاد را به عهده دارد. همچنین درنوع Generic ژن درمانی هدف بهبود و کنترل شرایط بیماری است و ژن خاصی مورد نظر نیست. برای مثال: بیان یک فاکتور ضد آپوپتوز و یا فاکتورهای نوروتروفیک در شرایط خاص می تواند موجب بهبود مشکلات بینایی گردد (۷ و ۲۸).

در یک پروژه ژن درمانی انتخاب وکتور مناسب با توجه به هدف درمان و عوارض جانبی بسیار حائز اهمیت است. به طور کلی در مطالعات ژن درمانی بر روی انسان به ترتیب وکتورهای لنتی ویروسی، آدنوویروسی و پلاسمید عریان بیشترین کاربرد را داشته اند (۲۳). انواع وکتورهای ویروسی و غیر ویروسی برای انتقال ژن به قسمتهای مختلف چشم قابل استفاده اند، هر چند وکتورهای غیر ویروسی حتی به همراه پلیمرهای کاتیونی و لیپیدها بازدهی ترانس فکشن کمتری دارند. تاکنون از سه نوع وکتور لنتی ویروسی، آدنوویروسی و ویروسهای همراه آدنو برای انتقال ژن به بافتهای مختلف چشم استفاده شده است (۲۶).

آدنوویروسها به راحتی بافت شبکه را آلوده می کنند اما عملکرد آنها متأثر از سیستم ایمنی میزبان است. به علاوه مشکل اصلی استفاده از این وکتور بیان موقت ترانس ژن است. با این وجود همین بیان کوتاه مدت گاهی در مطالعاتی که یک ژن سمی و کشنده برای درمان سرطان مانند رتینوبلاستوما استفاده می شود، یک مزیت به شمار می رود (۷ و ۲۶ و ۲۷).

در مدل های حیوانی چونندگان از ویروس (Human immunodeficiency virus) HIV1 به منظور ژن درمانی چشم استفاده شد و ترانس ژن به مدت ۲ سال در بافت هدف بیان شد. آزمایشات نشان داده است برای انتقال ژن به سلولهای گیرنده نور (EIAV Equine infectious anemia virus) بهتر عمل میکند (۲۶).

اگرچه لنتی ویروسها بیان طولانی مدت ترانس ژن را فراهم می سازند اما با توجه به عوارض جانبی آنها طی Integration گاهی مشکل آفرین می گردند. تاکنون تنها در یک مطالعه کلینیکال تریال انسانی برای بیماران Stargardt's از وکتور لنتی ویروسی

استفاده شده است. ویروس همراه آدنو با ژنوم DNA تک رشته در بافتهای پس میتوزی مانند شبکه خطر جهش insertional بسیار کمی را به همراه دارد. این ویروس می تواند ژنوم خود را در بخش خاصی از کروموزوم ۱۹ انسان وارد نماید و به مدت بیش از سه و نیم سال بیان ترانس ژن را تامین نماید. محققین تاکنون در بیش از ۸۰ تریال انسانی از AAV استفاده نموده اند (۱۷). در طی ۱۰ سال گذشته AAV مهمترین و پر کاربردترین وکتور مورد استفاده در ژن درمانی چشم بوده است (۲۸). در این امر تاکنون سروتیپهای متنوعی از ویروس همراه آدنو امتحان شده اند و از این میان تزریق زیرشبکیه ای سروتیپهای AAV2/2, AAV2/5, AAV2/9, AAV2/7, AAV2/6 و AAV2/8 به خصوص در انتقال ژن به غشا رنگدانه دار شبکیه (Retinal pigment epithelium) و لایه سلولهای گیرنده نوری (Photoreceptor cell) بسیار کارآمد عمل میکنند (۲۶). برخلاف وکتورهای ویروسی همراه آدنو که ظرفیت محدودی برای حمل ترانس ژن (حداکثر تا ۴/۷ کیلو باز) دارند، ناقلهای غیر ویروسی هم اقتصادی تر و بی خطرترند و هم ظرفیت حمل ترانس ژن وسیعی دارند. به منظور جلوگیری از تجزیه ترانس ژن و افزایش احتمال ورود ترانس ژن به هسته سلول هدف، بهتر است DNA عریان را به همراه روشهای کمکی الکتروپوریشن، لیپوفکشن و یا نانوذرات منتقل نمود. اما باید در نظر گرفت که وکتورهای غیر ویروسی به سختی وارد سلولهای فوتورسپتور می شوند و روشهای کمکی فیزیکی و شیمیایی ترانس داکشن ممکن است به نورونهای بینایی آسیب برساند. از این رو کاربرد وکتورهای غیر ویروسی در مطالعات ژن درمانی چشم بسیار محدود بوده است و تاکنون در هیچ یک از تریالهای انسانی مورد استفاده قرار نگرفته است (۲۸). در ترانس داکشن انتخابی بافتهای مختلف چشم علاوه بر انتخاب وکتور مناسب دو گزینه روش تزریق به چشم و استفاده از پروموتور اختصاصی نیز بسیار حائز اهمیت هستند. نوع روش تزریق با توجه به محل آناتومیکی بافت هدف انتخاب می شود. تزریق زیرشبکیه ای (Sub-retinal injection) معمولاً برای انتقال حامل به لایه های خارجی شبکیه (PR RPE) مورد استفاده قرار می گیرد درحالی که برای دسترسی به بخش درونی شبکیه یعنی محل قرارگیری گانگلیون های سلولهای شبکیه وکتور باید به درون زجاجیه (Intra-vitreous injection) تزریق شود. همیپتور در تزریق زیر ملتحمه (Sub-conjunctival injection)

بیولوژی، پزشکی و حتی صنعت کاربرد وسیعی دارد و معمولاً برای بررسی بافتهای لایه لایه مانند پوست، دندان و شبکه استفاده می گردد (۹). در این روش یک پرتو نور لیزر به دو قسمت پرتو رفرانس و پرتو اندازه گیری تقسیم می شود. سپس پرتو اندازه گیری از چشم مورد مطالعه منعکس می شود و با پرتو رفرانس منعکس شده از آئینه رفرانس تداخل می نماید. در مرحله بعد یک interferometer میزان انسجام را اندازه می گیرد و تصویر ایجاد می شود (۱۴). در واقع فاصله نقطه ای که در مسیر پرتو اندازه گیری تداخل ایجاد می کند، از تفاوت انسجام نور تابیده شده و نور شیئی محاسبه می شود. روش OCT تصاویر سه بعدی و سطح مقطعی با کیفیت بالا از لایه های داخلی شبکه فراهم می آورد (۹ و ۱۸).

Electroretinography

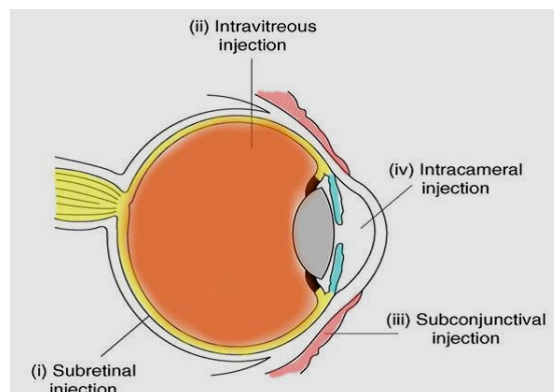
یک تحریک نوری توسط سیگنال های الکتریکی که به مغز فرستاده می شود حس میگردد، همین امر اساس روش ERG (Electroretinography) را تشکیل می دهد. در روش ERG پاسخ الکتریکی سلولهای مختلف شبکه شامل سلولهای مخروطی، استوانه ای، دوقطبی، سلولهای گانگلیون و ... توسط الکترودهای متصل شده به قرنیه و یا پوست نزدیک چشم (پایز ملتحمه) اندازه گیری می شود. چشم مورد مطالعه با مقادیر شدت نور استاندارد تحریک شده و پاسخ به صورت شدت سیگنال (ولتاژ) نسبت به زمان نمایش داده می شود. در صورتی که چشم از قبل سازش یافته با نور یا با تاریکی تحریک گردد به ترتیب الکترورتنوگرام نمایانگر عملکرد سلولهای مخروطی و یا استوانه ای خواهد بود (۲۱).

Contrast sensitivity tests

یکی از پرکاربردترین ابزارهای اندازه گیری تیزی (Visual acuity) محاسبه حساسیت به تمایز است. تستهای Contrast sensitivity توانایی تشخیص جزئیات با کنتراست کم را اندازه می گیرند. کنتراست یا تمایز از روی تفاوت شدت لومینانس دو پرتو نور تابیده شده از دو سطح مجاور هم محاسبه شده و به صورت درصد گزارش می شود. بر همین اساس تستهای متفاوتی برای اندازه گیری حساسیت تمایز طراحی شده و در دسترس هستند مانند:

Arden plates, Lea test, Vistech chart, ETDRs (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study).

بافتهای دور چشم در دسترس وکتور قرار می گیرد (۲۶). انواع روشهای تزریق وکتور در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱: روشهای تزریق وکتور در مطالعات ژن درمانی چشم

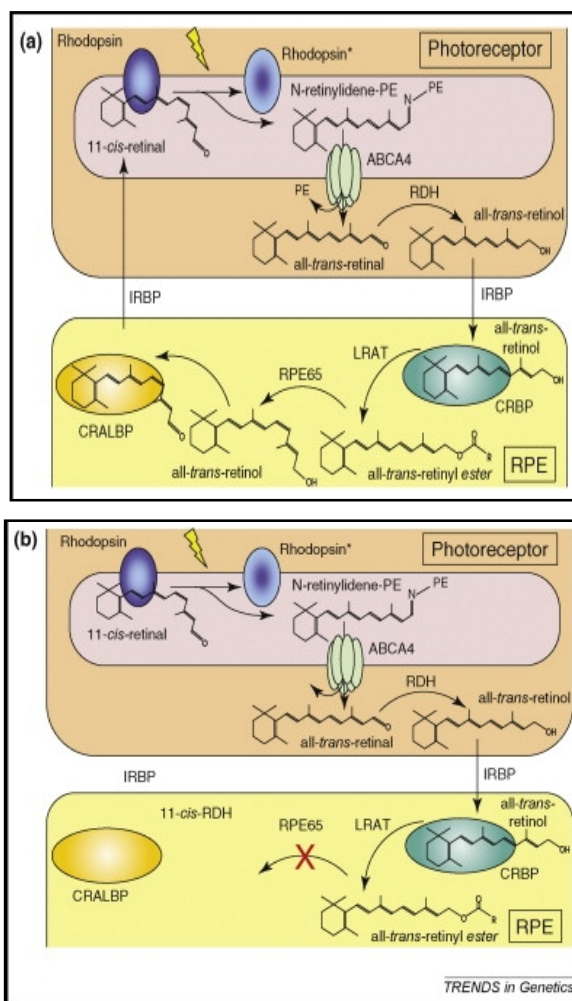
باتوجه به موقعیت آناتومی بافت هدف روش مناسب انتخاب میشود. تزریق زیرشبکیه (Subretinal) لایه رنگدانه دار شبکه و سلولهای گیرنده نور را در دسترس وکتور قرار می دهد (i). در حالیکه برای انتقال ژن به بخش درونی شبکه یعنی محل قرار گیری گانگلیون سلولها باید از روش تزریق درون زجاجیه (Intravitreal) استفاده نمود (ii). تزریق درون ملتحمه (Subconjunctival) بافت اطراف چشم (iii) و تزریق Intracameral مستقیماً فضای قدامی چشم را هدف قرار می دهد (iv). (۳۰)

روشهای رایج بررسی بینایی در مطالعات ژن درمانی چشم در یک مطالعه ژن درمانی چشم، قبل و پس از ژن درمانی قدرت بینایی و عملکرد چشم بیمار یا مدل حیوانی باید بررسی شود. بدین منظور انواع متنوع روشهای غیرتهاجمی عکسبرداری نوری، اندازه گیری سیگنالهای الکتریکی شبکه در پاسخ به نور، روشهای تصویربرداری پیشرفته از قسمتهای غیرقابل دسترس چشم، بررسی پاسخ مردمک به نور و تستهای رفتاری مربوط به بینایی به راحتی قابل انجام است. در این میان نام چند روش در اغلب مطالعات ژن درمانی چشم مکرراً به چشم می خورد که در ادامه مختصراً معرفی می شوند.

Optical coherence tomography

تصویربرداری از شبکه موجود زنده برای اولین بار در سال ۱۹۹۳ انجام شد. چندی بعد در ۱۹۹۵ از روش (Optical coherence tomography) OCT برای تصویربرداری از شبکه و ماکولار استفاده شد (۱۸). روش تصویربرداری OCT در

برای اولین بار در سال ۱۹۹۳ شناسایی شد. ژن کدکننده این آنزیم مهم بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۲۱ قرار داشته و ۱۴ اگزون آن پروتئینی به طول ۵۳۲ اسیدآمینو بیان می‌کند. این آنزیم در غشا شبکه میکروزومی لایه رنگدانه‌دار شبکیه و سلولهای مخروطی مخروطی حضور دارد، هرچند نقش آن در سلولهای مخروطی هنوز ناشناخته است. عملکرد صحیح RPE-65 برای تداوم چرخه بینایی ضروری است و نقص آن موجب کاهش شدید عملکرد شبکیه می‌شود. تاکنون ۶۰ نوع جهش متفاوت در ژن RPE-65 در گروه ناهمگنی از نابینایی ناشی از نقص شبکیه مانند نابینایی مادرزادی Leber رتینیت پیگمنتوزا گزارش شده است (۳ و ۳۱).



شکل ۲: چرخه بینایی در حضور (a) و عدم حضور ایزومراز RPE-65 (b).

فقدان آنزیم RPE-65 در لایه رنگدانه‌دار شبکیه بیماران LCA موجب توقف چرخه بازیابی فرم ۱۱-سیس رتینال می‌گردد. در ضمن تجمع مشتق استری (all-trans retinyl ester) می‌تواند موجب آسیب به سلولهای شبکیه شود. (۳)

پایان قسمت اول

دراکثر این روشها تیزیابی براساس توانایی دیدن جزئیات با کنتراست ثابت و روند کاهشی اندازه و یا اندازه ثابت و روند کاهشی کنتراست اندازه گرفته می‌شود (۲۵)

Pupillometry

پاسخ مردمک به نور یک فرایند فیزیولوژیک است که در آن مردمک بر اثر فعال یا غیرفعال شدن ماهیچه‌های متسع کننده عنبیه، منقبض یا متسع می‌شود. این پاسخ انعکاسی با افزایش سن کاهش می‌یابد (۱۴). در این فرایند قطر مردمک نه تنها در پاسخ به نور بلکه تحت تاثیر احساسات و افکار و وضعیت روانی فرد قرار دارد. این روش در برآورد میزان هوشیاری فرد و فعالیتهای مغزی بسیار پرکاربرد است. پاسخ مردمک فرایندی خود به خودی است و کنترل ارادی آن بسیار مشکل است، برای مثال در مواردی که فرد به طور ارادی به موضوع خاصی می‌اندیشد می‌تواند به طور غیرمستقیم پاسخ اتساع مردمک را کنترل نماید. قطر مردمک در نور استاندارد حدود ۳ میلی‌متر است که در شرایط تاریکی تا ۷ میلی‌متر (۲۰ درصد) افزایش می‌یابد. در روش پاپیلومتری برای اندازه گیری قطر مردمک به یک Eye Tracker نیاز است. این روش بسیار ارزان قیمت بوده و کاملاً غیر تهاجمی است (۸)

چرخه بینایی و RPE-65

چشم در پستانداران ارگان پیچیده و تخصص یافته‌ای است. در فرایند بینایی نور در شبکیه متمرکز می‌شود، جائیکه سلولهای گیرنده نور مخروطی و استوانه‌ای فوتون نور را به دام انداخته و پیام بینایی را به صورت سیگنال الکتریکی به مغز منتقل می‌کنند. رنگدانه بینایی از دو جز اصلی تشکیل شده است، بخش پروتئینی اپسین (Opsin) و بخش کروموفوری ۱۱-سیس رتینال (11-Cis retinal) که مشتقی از ویتامین آ است. جذب نور موجب ایزومریزاسیون ۱۱-سیس رتینال به فرم تمام ترانس رتینال (All trans retinal) و تغییر ساختاری در پروتئین اپسین می‌شود. این تغییر خود منجر به راهاندازی مسیر انتقال نور (phototransduction) میگردد که نهایتاً به ایجاد سیگنال الکتریکی منتج می‌شود. برای تداوم بینایی بازیابی مجدد فرم ۱۱-سیس رتینال ضروری است. بدین منظور ایزومر تمام ترانس به لایه رنگدانه‌دار شبکیه (RPE) منتقل شده و در آنجا به کمک سیستم آنزیمی از جمله ایزومراز RPE-65 به فرم اولیه ایزومر می‌شود (۳۱ و ۴). این مراحل به طور شماتیک در شکل شماره ۲ نشان داده شده است. ایزومراز RPE-65

References:

1. Albert. M, Maguire, K. A. H., Alberto Auricchio, J Fraser Wright, Eric A Pierce, Francesco Testa, Federico Mingozzi, JEANNETTE L BENNICELLI, GUI-SHUANG YING, SETTIMIO ROSSI, ANN FULTON, KATHLEEN A MARSHALL, SANDRO BANFI, DANIEL C CHUNG, JESSICA I W MORGAN, BERND HAUCK, OLGA ZELENIAIA, XIAOSONG ZHU, LESLIE RAFFI NI, FRAUKE COPPIETERS, ELFRIDE DE BAERE, KENNETH S SHINDLER, NICHOLAS J VOLPE, ENRICO M SURACE, CARMELA ACERRA, ARKADY LYUBARSKY, T MICHAEL REDMOND, EDWIN STONE, JUNWEI SUN, JENNIFER WELLMAN MCDONNELL, BART P LEROY, FRANCESCA SIMONELLI, JEAN BENNETT 2009. Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2009; 374: 1597-605, 374, 1597-1605.
2. ALBERT M. MAGUIRE, F. S., ERIC A. PIERCE, EDWARD N. PUGH, FEDERICO MINGOZZI, JEANNETTE BENNICELLI, SANDRO BANFI, KATHLEEN A. MARSHALL, FRANCESCO TESTA, ENRICO M. SURACE, SETTIMIO ROSSI, ARKADY LYUBARSKY, VALDER R. ARRUDA, BARBARA KONKLE, EDWIN STONE, JUNWEI SUN, JONATHAN JACOBS, LOU DELL'OSSO, RICHARD HERTLE, JIAN-XING MA, T. MICHAEL REDMOND, XIAOSONG ZHU, BERND HAUCK, OLGA ZELENIAIA, KENNETH S. SHINDLER, MAUREEN G. MAGUIRE, J. FRASER WRIGHT, NICHOLAS J. VOLPE, JENNIFER WELLMAN MCDONNELL, ALBERTO AURICCHIO, KATHERINE A. HIGH, AND JEAN BENNETT, 2008. Safety and Efficacy of Gene Transfer for Leber's Congenital Amaurosis. *The new engl and journa l o f medicine*, 358, 2240-2248.
3. ALEXANDER J. SMITH, J. W. B., ROBIN R. ALI 2009. Prospects for retinal gene replacement therapy. *Trends in genetics*, 25, 156-165.
4. ALEXIS-PIERRE BEMELMANS, C. K., SYLVAIN V. CRIPPA, WILLIAM W. HAUSWIRTH, JANIS LEM, FRANCIS L. MUNIER, MATHIAS W. SEELIGER, ANDREAS WENZEL, YVAN ARSENIJEVIC 2006. Lentiviral Gene Transfer of Rpe65 Rescues Survival and Function of Cones in a Mouse Model of Leber Congenital Amaurosis. *PLoS Medicine*, 3, 1892-1903.
5. ARTUR V. CIDECIYAN, T. S. A., SANFORD L. BOYE, SHARON B. SCHWARTZ, SHALESH KAUSHAL, ALEJANDRO J. ROMAN, JI-JING PANG, ALEXANDER SUMAROKA, ELIZABETH A. M. WINDSOR, JAMES M. WILSON, TERENCE R. FLOTTE, GERALD A. FISHMAN, ELISE HEON, EDWIN M. STONE, BARRY J. BYRNE, SAMUEL G. JACOBSON, AND WILLIAM W. HAUSWIRTH 2008. Human gene therapy for RPE65 isomerase deficiency activates the retinoid cycle of vision but with slow rod kinetics. *PNAS*, 105, 15, 112-117.
6. ARTUR V. CIDECIYAN, W. W. H., TOMAS S. ALEMAN, SHALESH KAUSHAL, SHARON B. SCHWARTZ, SANFORD L. BOYE, ELIZABETH A.M. WINDSOR, THOMAS J. CONLON, ALEXANDER SUMAROKA, JI-JING PANG, ALEJANDRO J. ROMAN, BARRY J. BYRNE, AND SAMUEL G. JACOBSON 2009. Human RPE65 Gene Therapy for Leber Congenital Amaurosis: Persistence of Early Visual Improvements and Safety at 1 Year. *HUMAN GENE THERAPY*, 20, 999-1004.
7. BAINBRIDGE, J. 2009. Prospects for gene therapy of inherited retinal disease. *Eye*, 23, 898-1903.
8. BRUNO LAENG, S. S., AND GUSTAF GREDEBÄCK 2012. Pupillometry: A Window to the Preconscious. *Perspectives on Psychological Science*, 7, 18-27.
9. CROSBY, S. C. 2003. Optical Coherence Tomography. *degree of Bachelor of Science, the university of Melbourne*.
10. FORD M, B. R., RAKOCZY PE, NARFSTRÖM K. 2003. Gene transfer in the RPE65 null mutation dog: relationship between construct volume, visual behavior and electroretinographic (ERG) results. *Doc Ophthalmol.*, 107, 79-86.
11. FRANCESCA SIMONELLI, A. M. M., FRANCESCO TESTA, ERIC A PIERCE, FEDERICO MINGOZZI, JEANNETTE L BENNICELLI, SETTIMIO ROSSI, KATHLEEN MARSHALL, SANDRO BANFI, ENRICO M SURACE, JUNWEI SUN, T MICHAEL REDMOND, XIAOSONG ZHU, KENNETH S SHINDLER, GUI-SHUANG YING, & CARMELA ZIVIELLO, C. A., J FRASER WRIGHT, JENNIFER WELLMAN MCDONNELL, KATHERINE A HIGH, JEAN BENNETT, AND ALBERTO AURICCHIO 2010. Gene Therapy for Leber's Congenital Amaurosis is Safe and Effective Through 1.5 Years After Vector Administration. *Molecular Therapy* 18, 643-650.
12. FRANS P. M. CREMERS, J. A. J. M. V. D. H. A. A. I. D. H. 2002. Molecular genetics of Leber congenital amaurosis. *Human Molecular Genetics*, 11, 1169-1176.
13. GREGORY M. ACLAND, G. D. A., JHARNA RAY, QI ZHANG, TOMAS S. ALEMAN, ARTUR V. CIDECIYAN, SUSAN E. PEARCE-KELLING, VIBHA ANAND, YONG ZENG, ALBERT M. MAGUIRE, SAMUEL G. JACOBSON, WILLIAM W. HAUSWIRTH & JEAN BENNETT 2001. Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness. *Nature Genetics*, 28, 92-95.
14. JAMES S WOLFFSOHN, R. C. P. 2006. Anterior ophthalmic imaging. *Clinical and Experimental Optometry* 89, 205-214.
15. JAMES W.B. BAINBRIDGE, A. J. S., SUSIE S. BARKER, SCOTT ROBBIE, ROBERT HENDERSON, KAMALJIT BALAGGAN, ANANTH VISWANATHAN, GRAHAM E. HOLDER, ANDREW STOCKMAN, NICK TYLER, SIMON PETERSEN-JONES, SHOMI S. BHATTACHARYA, ADRIAN J. THRASHER, FRED W. FITZKE, BARRIE J. CARTER, GARY S. RUBIN, ANTHONY T. MOORE, F.R.C. OPHTH., AND ROBIN R. ALI, PH.D. 2008. Effect of Gene Therapy on Visual Function in Leber's Congenital Amaurosis. *The New England Journal of Medicine*, 358, 2231-2239.
16. JI-JING PANG, B. C., ASHOK KUMAR, STEVEN NUSINOWITZ, SYED M. NOORWEZ, JIE LI, ASHA RANI, THOMAS C. FOSTER, VINCE A. CHIODO, THOMAS DOYLE, HUASHI LI, RITU MALHOTRA, JACQUELINE T. TEUSNER, J. HUGH MCDOWELL, SEOK-HONG MIN, QIUHONG LI, SHALESH KAUSHAL, AND WILLIAM W. HAUSWIRTH 2006. Gene Therapy Restores Vision-Dependent Behavior as Well as Retinal Structure and Function in a Mouse Model of RPE65 Leber Congenital Amaurosis. *MOLECULAR THERAPY* 13, 565-572.
17. JUANITA S. BRYANT, J. S. D., ELIAS REICHEL. 2012. 5.4. Gene Therapy for Retinal Disease [Online]. [Accessed.]
18. KRISTIN M. GALETTA, P. A. C., ELLIOT M. FROHMAN, AND LAURA J. BALCER 2011. Optical Coherence Tomography (OCT): Imaging the Visual Pathway as a Model for Neurodegeneration. *The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 8, 117-132.
19. KRISTINA NARFSTROM, M. L. K., M. FORD, T. M. REDMOND, E. RAKOCZY, AND R. BRAGADO T TIR 2003. In Vivo Gene Therapy in Young and Adult RPE65-/- Dogs Produces Long-Term Visual Improvement. *Journal of Heredity* 94, 31-37.
20. KRISTINA NARFSTROM, M. L. K., RAGNHEIDUR BRAGADOTTIR, MATHIAS SEELIGER, ANA BOULANGER, T. MICHAEL REDMOND, LYNETTE CARO, CHOOI-MAY LAI, AND P. ELIZABETH RAKOCZY 2003. Functional and Structural Recovery of the Retina after Gene Therapy in the RPE65 Null Mutation Dog. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44, 1663-1672.
21. M. F. MARMOR, A. B. F., G. E. HOLDER, Y. MIYAKE, M. BRIGELL, M. BACH 2009. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography. *Doc Ophthalmol* 118, 69-77.
22. MANZAR ASHTARI, L. L. C., JUSTIN F. MONROE, KATHLEEN A. MARSHALL, DANIEL C. CHUNG, ALBERTO AURICCHIO, FRANCESCA SIMONELLI, BART P. LEROY, ALBERT M. MAGUIRE, KENNETH S. SHINDLER, AND JEAN BENNETT 2011. The human visual cortex responds to gene therapy-mediated recovery of retinal function. *The Journal of Clinical Investigation*, 121, 2160-2168.
23. MICHAEL L. EDELSTEIN, M. R. A., JO WIXON, RICHARD M. EDELSTEIN 2004. Gene therapy clinical trials worldwide 1989-2004: an overview. *THE JOURNAL OF GENE MEDICINE*, 6, 597-602.
24. NADINE S. DEJNEKA, E. M. S., TOMAS S. ALEMAN, ARTUR V. CIDECIYAN, ARKADY LYUBARSKY, ANDREY

- SAVCHENKO, T. MICHAEL REDMOND, WAIXING TANG, ZHANGYONG WEI, TONIA S. REX, ERNEST GLOVER, ALBERT M. MAGUIRE, EDWARD N. PUGH JR., SAMUEL G. JACOBSON, AND JEAN BENNETT 2004. In Utero Gene Therapy Rescues Vision in a Murine Model of Congenital Blindness. *MOLECULAR THERAPY*, 9, 182-188.
25. OWSLEY, C. 2003. Contrast sensitivity. *Ophthalmology Clinics of North America* 16, 171-177.
26. PASQUALINA COLELLA, G. C. A. A. 2008. Ocular gene therapy: current progress and future prospects. *Trends in Molecular Medicine*, 15, 23-31.
27. PATRICIA CHEVEZ-BARRIOS, M. C., WILLIAM MIELER, EVELYN PAYSSE, MILTON BONIUK, CLAUDIA KOZINETZ, MARY Y. HURWITZ, AND RICHARD L. HURWITZ 2005 . Response of Retinoblastoma With Vitreous Tumor Seeding to Adenovirus-Mediated Delivery of Thymidine Kinase Followed by Ganciclovir. *JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY*, 23, 7927-7935.
28. PETER CHARBEL ISSA FEBO, R. E. M. D. F. 2012. Non-viral retinal gene therapy: a review. *Clinical and Experimental Ophthalmology* 40, 39-47.
29. SAMUEL G. JACOBSON, T. S. A., ARTUR V. CIDECIYAN, ALEXANDER SUMAROKA, SHARON B. SCHWARTZ, ELIZABETH A. M. WINDSOR, ELIAS I. TRABOULSI, ELISE HEON, STEVEN J. PITTLER, ANN H. MILAM, ALBERT M. MAGUIRE, KRZYSZTOF PALCZEWSKI, EDWIN M. STONE, AND JEAN BENNETT 2005. Identifying photoreceptors in blind eyes caused by RPE65 mutations: Prerequisite for human gene therapy success. *PNAS*, 102, 6177-6182.
30. SILVA, N. F. A. 2010. GENE THERAPY FOR STARGARDT AND OTHER ABCA4-RELATED DISEASES: LESSONS FROM THE RPE65-LCA TRIALS. Master's Degree review article, University of Coimbra.
31. XUE CAI, S. M. C., AND MUNA I. NAASH 2009. RPE65: Role in the visual cycle, human retinal disease, and gene therapy. *Ophthalmic Genet.*, 30

حکیده پایان نامه (کارشناسی ارشد)

بررسی اثر عصاره زنجبیل بر حجم باقیمانده معده در بیماران با تهویه مکانیکی بستری در بخش‌های مراقبت ویژه

میترا حکمت افشار

کارشناس ارشد پرستاری مراقبت‌های ویژه، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

استاد راهنما: دکتر لیلا جویباری، دکتر اراز بردی قورچایی

استاد مشاور: دکتر محمد علی وکیلی، دکتر غلامرضا امین

مقدمه

تاخیر در تخلیه معده و افزایش حجم باقیمانده معده از مشکلات شایع بیماران تحت تهویه مکانیکی بستری در بخش‌های مراقبت ویژه است که از طریق لوله تغذیه می‌شوند. استفاده از داروها برای رفع این مشکل با احتمال ایجاد عوارض دارویی همراه است. براساس مطالعات گیاه زنجبیل می‌تواند باعث تسریع در تخلیه معده گردد. این مطالعه با هدف تعیین اثر عصاره زنجبیل بر حجم باقیمانده معده در بیماران تحت تهویه مکانیکی بستری در بخش مراقبت‌های ویژه انجام شد.

مواد و روشها

این مطالعه از نوع کارآزمایی بالینی کنترل‌دار دو سوکور قبل و بعد است که روی ۲۴ بیمار تحت تهویه مکانیکی بستری در سه بخش مراقبت ویژه مرکز آموزشی درمانی پنج آذر گرگان انجام شد. ۲۴ بیمار که معیار ورود به مطالعه را داشتند طی تغذیه در ۴۸ ساعت ابتدای ورود به مطالعه با یک محلول استاندارد گاوآژ شدند. در روز سوم بیماران از نظر جنس و شدت بیماری (با استفاده از مقیاس آپاچی III) با یکدیگر همسان، و به صورت تصادفی در دو گروه مداخله (۱۲ نفر) و کنترل (۱۲ نفر) قرار گرفتند. سپس به گروه مداخله به مدت ۴ روز، ۵ میلی‌لیتر عصاره زنجبیل (حاوی ۱۲۰ میلی‌گرم) در دو نوبت منقسم به همراه ۴۰ میلی‌لیتر آب و گروه کنترل ۴۲/۵ میلی‌لیتر آب به عنوان پلاسبو داده شد. تجویز عصاره زنجبیل و پلاسبو در ساعت ۹ صبح و ۶ عصر انجام شد. انجام گاوآژ

یکسان تا روز ششم ادامه یافت و قبل از هر نوبت گاوآژ حجم غذای باقیمانده معده اندازه‌گیری و ثبت شد. پس از شش روز میانگین حجم باقیمانده معده بین بیماران گروه مداخله و کنترل در ۴۸ ساعت اول و ۴ روز بعدی مطالعه با یکدیگر مقایسه گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تی مستقل، تی زوجی و اندازه‌های تکراری انجام شد.

یافته‌ها

مقایسه میانگین و انحراف معیار حجم باقیمانده در دو گروه در روزهای سوم الی ششم با استفاده از آزمون تی مستقل اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$). همچنین تفاضل میانگین‌ها در دو گروه با استفاده از آزمون تی زوجی نیز معنی‌داری بوده است ($p < 0/001$). تفاوت میانگین حجم باقیمانده در بیماران گروه مداخله در مقایسه با گروه کنترل با استفاده از آزمون اندازه‌های تکراری نیز معنی‌دار بوده است ($p < 0/001$).

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد عصاره زنجبیل حجم باقیمانده معده را در مقایسه با گروه دریافت‌کننده پلاسبو در بیماران تحت تهویه مکانیکی بستری در بخش‌های مراقبت ویژه کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی:

عصاره زنجبیل، حجم باقیمانده معده، تغذیه لوله‌ای، تهویه مکانیکی

چکیده پایان نامه (کارشناسی ارشد)

بررسی فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم به متی سیلین در بیماران شهر گرگان

حمید واعظ

کارشناس ارشد میکروپ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

استاد راهنما: دکتر عزت ا... قائمی

استاد مشاور: دکتر کیومرث قاضی سعیدی

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم به متی سیلین (MRSA) از علل اصلی عفونت های بیمارستانی، افزایش مدت بستری، افزایش هزینه درمان و مرگ و میر محسوب می شوند. هدف این مطالعه تعیین فراوانی سویه های MRSA و مقاومت همزمان آنها به سایر آنتی بیوتیکها در بیماران استان گلستان است.

مواد و روش ها:

این مطالعه بر روی ۱۸۵ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران در فاصله زمانی مهر ۸۷ لغایت مهر ۸۸ انجام شده است. مقاومت به متی سیلین به وسیله ۴ متد میکرودايلوشن (بعنوان استاندارد طلایی)، PCR، اگر اسکرینینگ و دیسک دیفیوژن مورد ارزیابی قرار گرفت. مقاومت به سایر آنتی بیوتیکها در سویه های مقاوم و حساس به متی سیلین استافیلوکوکوس اورئوس بوسیله متد دیسک دیفیوژن ارزیابی شد. تمام داده ها در نرم افزار SPSS وارد و با روش χ^2 آنالیز و در تمامی موارد $P < 0.05$ معنی در نظر گرفته شد.

یافته ها:

از ۱۸۵ نمونه مورد بررسی ۶۷ (۳۶/۲ درصد) به متی سیلین مقاوم بودند. مقاومت سویه های MRSA به سایر آنتی بیوتیکها بالا بود بطوری که بیش از ۹۰ درصد سویه ها به پنی سیلین، آمپی سیلین و کوآموکسی کلاو و نزدیک به ۷۰ درصد به سفوتاکسیم، سفتریاکسون، اریترومايسين و نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند. هیچ موردی از مقاومت به ونکومايسين دیده نشد. بیشترین میزان مقاومت در نمونه های زخم (۴۶/۹ درصد) و

خلط (۴۰ درصد) مشاهده شد. حساسیت و اختصاصیت متد PCR، اگر اسکرینینگ و دیسک دیفیوژن در مقایسه با متد میکرودايلوشن به ترتیب ۸۸ و ۹۵، ۸۸ و ۸۴، ۹۸ و ۲۱ درصد بود.

نتیجه گیری:

فراوانی سویه های MRSA در منطقه ما ۳۶/۲ درصد است که در مقایسه با سایر مطالعات انجام شده در ایران و کشورهای منطقه، نسبتاً پایین است. مقاومت بالای سویه های MRSA به سایر آنتی بیوتیکها درمان آنها را با مشکل مواجه کرده است. با توجه به گران و پر زحمت بودن متدهای میکرودايلوشن و PCR و اختصاصیت پایین متد دیسک دیفیوژن، اگر اسکرینینگ می تواند روش مناسبی برای شناسایی سویه های MRSA در آزمایشگاه میکروپ شناسی باشد.

واژه های کلیدی:

استافیلوکوکوس اورئوس، متی سیلین، *mecA*، MRSA، استان گلستان