

## بررسی آزمایشگاهی اثرات ضدقارچی عصاره آبی سیر (*Allium sativum*) و ترکیب آن با فلوکونازول بر علیه گونه‌های کاندیدای شایع جدا شده از ضایعات کاندیدیازیس

دکتر عباسعلی جعفری ندوشن<sup>۱\*</sup>، مؤگان دهقانی تقتی<sup>۲</sup>، سیدمحمد میرباقری<sup>۳</sup>

### خلاصه

مقدمه: شیوع روزافزون کاندیدیازیس و به دنبال آن افزایش مصرف داروهای ضد قارچی برای درمان و پیشگیری منجر به مقاومت بعضی از گونه‌های کاندیدا نسبت به این داروها شده است. لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی برون‌تنی (*In vitro*) اثر ضد قارچی عصاره آبی سیر به تنهایی و تأثیر هم‌افزایی (Synergism) آن با فلوکونازول بر علیه گونه‌های کاندیدای شایع جدا شده از ضایعات بیماران مبتلا به کاندیدیازیس انجام شده است. روش: اثرات ضد قارچی عصاره سیر با استفاده از روش استاندارد Broth microdilution در شرایط آزمایشگاهی (برون‌تنی) بر علیه پنج گونه کاندیدا آلیکنس، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا گلابراتا (تورولوپسیس گلابراتا)، کاندیدا پاراپسیلوزیس و کاندیدا کروزه‌ای که اغلب از ضایعات بیماران مبتلا به کاندیدیازیس جدا شده بودند و همچنین سه گونه استاندارد کاندیدا بررسی شد. تأثیر هم‌افزایی عصاره سیر و فلوکونازول نیز در این مطالعه بررسی شد.

یافته‌ها: قوی‌ترین اثر عصاره سیر بر علیه کاندیدا تروپیکالیس ( $MIC=0.78\text{mg/ml}$ ) و سپس گونه‌های کاندیدا گلابراتا ( $MIC=1.56\text{mg/ml}$ ) و کاندیدا آلیکنس ( $MIC=3.12\text{mg/ml}$ ) مشاهده شد که به عنوان گونه‌های حساس به عصاره سیر شناخته شدند. در حالی که گونه کاندیدا کروزه‌ای مقاوم‌ترین گونه با حداقل غلظت بازدارنده  $6.25\text{ mg/ml}$  در مطالعه حاضر بود. هم‌چنین با ترکیب عصاره سیر و فلوکونازول حداقل غلظت مهارکننده (MIC) فلوکونازول بر علیه کاندیدا تروپیکالیس ۸ مرتبه، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا آلیکنس ۴ مرتبه و برای سایر گونه‌های مطالعه شده کاندیدا ۲ مرتبه کاهش یافت. با انجام آزمون مقایسه میانگین‌ها، تعداد کلنی‌های کاندیدای جدا شده در چاهک‌های بدون عصاره سیر در مقایسه با چاهک‌های حاوی دو غلظت عصاره سیر تفاوت معنی‌داری برای گونه‌های کاندیدا تروپیکالیس ( $P=0.001$ ) کاندیدا گلابراتا ( $P=0.001$ ) و کاندیدا آلیکنس ( $P=0.002$ ) وجود داشت. نتیجه‌گیری: گونه‌های کاندیدا خصوصاً گونه‌های مقاوم مانند کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا گلابراتا به عصاره آبی سیر حساس می‌باشند و کاربرد این عصاره همراه با فلوکونازول به صورت موضعی می‌تواند باعث افزایش اثربخشی و کاهش میزان فلوکونازول مصرفی شود.

واژه‌های کلیدی: سیر، کاندیدا، خواص ضد قارچی، برون‌تنی، هم‌افزایی، فلوکونازول

۱- استادیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد - ۲- کارشناس آزمایشگاه، بیمارستان شهید بهشتی تفت ۳- کارشناس مرکز بهداشت تفت

\* نویسنده مسؤول، آدرس: گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد • آدرس پست الکترونیک: jafariabbas@ssu.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۱۲/۱۶ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۶/۴/۶ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۴/۲۷

## مقدمه

گونه‌های کاندیدا به عنوان چهارمین عامل عفونت‌زای بیمارستانی در آمریکا گزارش شده‌اند (۲۲،۲۳). بیماری کاندیدیازیس سیستمیک در حال حاضر یکی از بیماری‌هایی است که دارای میزان مرگ و میر بالا بوده (۲۴) و همچنین باعث اقامت طولانی افراد مبتلا در بیمارستان‌ها و تحمیل هزینه‌های سنگین درمان می‌شود. به علاوه ضایعات جلدی و جلدی-مخاطی این بیماری نیز دارای انتشار وسیعی در جامعه می‌باشد (۳۰).

امروزه داروهای ضد قارچ به طور روزافزون هم به عنوان عوامل پیشگیری‌کننده و هم درمان‌کننده استفاده می‌شوند (۱۱)، که این خود منجر به پیدایش گونه‌های مقاوم به دارو می‌شود. افزایش گونه‌های مقاوم به دارو و همچنین مشاهده موارد متعدد شکست درمان باعث تشویق محققان به جستجوی داروهای جدید و همچنین بررسی اثر ترکیب داروهای مختلف با عصاره گیاهان دارویی برای دستیابی به نتایج بهتر شده است (۹،۱۵).

امروزه موارد شکست درمان و مقاومت گونه‌های مختلف کاندیدا نسبت به ترکیبات دارویی آزولی به دنبال استفاده وسیع از این داروها در درمان ضایعات جلدی، جلدی - مخاطی و سیستمیک کاندیدایی در حال افزایش است که منجر به انتخاب و ظهور گونه‌های مقاوم در جامعه می‌شود (۱۳،۳۲). در بین داروهای آزولی، فلوکونازول دارویی با عوارض جانبی کمتر و قابلیت جذب بهتر می‌باشد. متأسفانه موارد متعددی از مقاومت نسبت به این دارو گزارش شده و انتشار و افزایش گونه‌های مقاوم به این دارو در حال گسترش می‌باشد (۲۰).

در مطالعات متعدد خواص بازدارندگی سیر بر روی رشد میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله باکتری‌ها (۳،۱۸)، قارچ‌ها (۲،۷،۱۷،۲۵،۲۹) و ویروس‌ها (۱۴) نشان داده شده است. مطالعات چندی در ایران بر روی خواص ضد درماتوفیتی سیر انجام شده است که تأثیر این ماده را بر روی درماتوفیت‌ها (عوامل کچلی) نشان می‌دهد (۲۸) ولی

در مورد خواص ضد کاندیدایی سیر به خصوص خواص ترکیبی آن با فلوکونازول مطالعه‌ای تاکنون انجام نشده است. هرچند که مکانیسم تأثیر عصاره این گیاه هنوز کاملاً مشخص نیست ولی در اغلب مطالعات فعالیت ضد قارچی آن را مربوط به آلیسین و آژوئن (Ajoen) موجود در سیر می‌دانند که آلیسین می‌تواند باعث تقویت سیستم ایمنی و به خصوص افزایش قدرت بیگانه‌خواری (فاگوسیتوز) در ماکروفاژها شود (۲) و آژوئن احتمالاً باعث صدمه و تخریب دیواره سلولی کاندیدا می‌شود (۳۳). به علاوه به عقیده بعضی از محققین عصاره سیر می‌تواند ساخت پروتئین و اسیدهای نوکلئیک و لیپیدهای کاندیدا را مهار کند (۶).

هدف از انجام مطالعه حاضر ارزیابی خواص ضد قارچی عصاره سیر بر روی گونه‌های کاندیدای شایع جدا شده از ضایعات بیماران مبتلا به کاندیدیازیس و تأثیر آن بر روی افزایش خواص ضد کاندیدایی فلوکونازول در ترکیب با این دارو در آزمایشگاه بوده است.

## روش بررسی

محیط کشت: ۱۰/۲ گرم محیط RPMI (سیگما) در ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل شد و سپس با افزودن ۳۴/۶ گرم اسید مرفولین پروپان سولفونیک (Sigma, MOPS) میزان pH آن در حدود ۷ تثبیت شد. حجم نهایی محلول با آب مقطر به ۹۹۰ میلی‌لیتر رسانده و در حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. در پایان ۱۰/۲۵ میلی‌لیتر محلول استریل L-گلوتامین (سیگما) به محیط مذکور اضافه و با عبور از صافی میلیپور ۰/۲ میکرون (میلیپور - انگلیس) استریل شد. محیط فوق در حرارت ۸-۲ درجه و در محیط تاریک برای استفاده نگهداری شد (۱۱).

گونه‌های کاندیدای مورد استفاده شامل موارد زیر بودند: کاندیدا آلیکنس، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا پاراپسیلوزیس و کاندیدا کروزه‌ای که از ضایعات کاندیدیازیس جلدی و جلدی-مخاطی (مراجعی به

(National Committee for Clinical laboratory Susceptibility testing) NCCLS تعیین گردید (۲۱). برای این کار در هر چاهک میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای الیزا ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف فلوکونازول (پارس دارو) پراکنده شده در، سرم فیزیولوژی ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر عصاره سیر و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون  $2 \times 10^3$  CFU/ml سلول کاندیداهای مورد مطالعه اضافه شدند. با این کار حجم نهایی هر چاهک به ۲۰۰ میکرولیتر رسید که غلظت نهایی فلوکونازول از  $128 \mu\text{g/ml}$  تا  $0.5 \mu\text{g/ml}$  و غلظت نهایی عصاره سیر از  $6/25 \text{ mg/ml}$  تا  $0.78 \text{ mg/ml}$  (با توجه به ۴ برابر رقیق شدن مجدد داخل هر چاهک) و تعداد نهایی ۱۰۰۰ سلول کاندیدا در هر چاهک حاصل شد. در پایان میکروپلیت به مدت ۴۸ ساعت در حرارت  $35^\circ\text{C}$  در شیکر (۱۵۰ rpm) قرار داده شد. در نهایت غلظتی از دارو، سیر و یا ترکیب هر دو که مانع از رشد گونه‌های کاندیدا می‌شد و یا شمارش کمتر از ۵٪ تعداد سلول‌های کاندیدایی چاهک کنترل به دست می‌آمد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) تعیین می‌شد. لازم به ذکر است که در مورد هر غلظتی از داروی فلوکونازول، عصاره سیر و ترکیب آنها سه چاهک (سه تکرار) و برای هر کنترل ۵ تکرار انجام شد. برای کنترل بیشتر نتایج در پایان آزمایش ۱۰ میکرولیتر از ترکیب هر چاهک با ۱۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی استریل مخلوط و سپس بر روی سطح محیط کشت سابورد کستروز آگار (اکسوئید) کشت داده شد و پس از ۴۸ ساعت کلنی‌های جدا شده شمارش و نتایج حاصله به کمک تست آنالیز واریانس و با سطح اطمینان کمتر از ۰/۰۵ آنالیز آماری شد.

از سه گونه استاندارد کاندیدا آلبیکنس (ATCC 10321)، کاندیدا پاراپسیلوزیس (ATCC 2201) و کاندیدا کروزه‌ای (ATCC 6258) به عنوان گونه‌های کنترل برای انجام آزمایش حساسیت دارویی در کنار گونه‌های مشابه جدا شده از بیماران استفاده شد.

آزمایشگاه مرکزی و آزمایشگاه قارچ شناسی پزشکی یزد جدا شده بودند، به کمک روش‌های استاندارد آزمایشگاهی (۲۷،۳۱) با انجام کشت بر روی محیط CHROM agar (فرانسه) و Candida ID agar (۱)، تست لوله زایا، جذب و تخمیر قندها و تولید کلامیدو کونیدی روی محیط کورن میل آگار تشخیص داده و برای مطالعه در نظر گرفته شدند. لازم به ذکر است که از بعضی گونه‌های استاندارد کاندیدا مانند کاندیدا آلبیکنس (ATCC 10231) و کاندیدا کروزه‌ای (ATCC 2201) و کاندیدا پاراپسیلوزیس (ATCC 6258) به عنوان گونه‌های کنترل در تعیین هویت گونه‌های جدا شده از بیماران استفاده شد. از هر گونه کاندیدا یک کلنی مجزا انتخاب شد و با پراکنده نمودن آن در ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین ۰/۸۵ درصد استریل غلظت نهایی  $2 \times 10^3$  سلول مخمر در هر میلی‌لیتر به کمک لام هموسیتومتر تهیه و برای انجام آزمایش در نظر گرفته شد.

تهیه عصاره آبی سیر: یک صد گرم از خوشه‌های سیر تازه (سیر تازه اصفهان) ابتدا کاملاً با آب مقطر استریل شستشو، پوست آن جدا و به کمک دستگاه خردکن (Heidolph DIAX 600 homogenizer) کاملاً خرد شد. سپس با اضافه کردن سیر خرد شده به محیط RPMI استریل و pH برابر ۷ عصاره به غلظت نهایی  $25 \text{ mg/ml}$  تهیه گردید. با عبور دادن این محلول از سه لایه کاغذ صافی واتمن شماره ۱ ذرات نامحلول آن جدا و سپس با کمک صافی ۰/۲ میکرون میلیپور (میلیپور- انگلیس) استریل شد. این عصاره به مدت ۱۰ هفته در حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد قابل استفاده می‌باشد (۶،۲۸). بر اساس مطالعه Adetumbi و همکاران (۶) از رقت‌های متوالی  $25 \text{ mg/ml}$  تا  $0.78 \text{ mg/ml}$  عصاره مذکور در محیط RPMI استریل (به عنوان حلال) برای آزمایش اثربخشی دارویی در این مطالعه استفاده شد.

آزمایش حساسیت دارویی (Broth microdilution test): در مطالعه حاضر حداقل غلظت مهارکنندگی فلوکونازول و سیر به تنهایی و ترکیب هر دو با روش استاندارد معرفی شده توسط

## نتایج

۱۰ میکرولیتر از محلول هر چاهک و شمارش کلنی‌های جدا شده، کنترل شد که نتایج آن در جدول ۲ تا ۶ آمده است. علاوه بر ۵ گونه شایع ذکر شده، با توجه به جداسازی یک مورد کاندیدا دابلی‌ینسیس از ضایعات یک بیمار مبتلا به کاندیدیازیس دهانی که در شهر یزد برای اولین بار گزارش شد (۱) حساسیت این گونه به عصاره سیر نیز بررسی شد که حساسیتی بیشتر از کاندیدا آلبیکنس ( $MIC < 3/12 \text{ mg/ml}$ ) و کمتر از کاندیدا تروپیکالیس در مقابل عصاره سیر نشان داد. لازم به ذکر است که نتایج میزان حساسیت دارویی گونه‌های استاندارد با گونه‌های مشابه جدا شده از بیماران مشابه بود و به همین دلیل صرفاً نتایج گونه‌های گرفته شده از بیماران در این مطالعه ذکر شده است.

جدول شماره ۲ تا ۶ مقادیر MIC فلوکونازول را با توجه به کشت محصول آزمایش حساسیت دارویی در غلظت‌های کمتر یا بیشتر از MIC نشان می‌دهد. مقادیر MIC در حقیقت تعداد سلول‌های مخمری است که تقریباً معادل تعداد اولیه سلول‌های مخمری وارد شده در چاهک‌ها است. مقادیر شمارش مشخصه MIC به صورت زیر خط‌دار نمایش داده شده است.

قوی‌ترین فعالیت ضد قارچی عصاره سیر بر علیه کاندیدا تروپیکالیس ( $MIC$  برابر  $0/78 \text{ mg/ml}$ ) مشاهده شد کاندیدا گلابراتا ( $MIC$  برابر  $1/56 \text{ mg/ml}$ )، کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا پاراپسیلوزیس ( $MIC$  برابر  $3/12$ ) به ترتیب حساسیت متوسطی به عصاره سیر نشان دادند، در حالی که کاندیدا کروزه‌ای مقاوم‌ترین گونه در مطالعه حاضر بود (جدول ۱). ترکیب عصاره سیر ( $3/12$ ) و  $1/56$  میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر) با فلوکونازول باعث کاهش حداقل غلظت مهارکنندگی این دارو در مقابل تمام گونه‌های کاندیدای مورد آزمایش شد که این کاهش برای کاندیدا تروپیکالیس ۸ بار، برای کاندیدا گلابراتا و کاندیدا آلبیکنس ۴ بار و برای سایر گونه‌های مورد مطالعه دو بار بود (جدول ۱).

با مقایسه آماری میانگین تعداد کلنی‌های جدا شده با مقایسه آماری میانگین تعداد کلنی‌های جدا شده (CFU: Colony Forming Unit) در چاهک‌های بدون عصاره سیر در مقایسه با چاهک‌های دارای عصاره سیر تفاوت معنی‌داری برای گونه‌های کاندیدا تروپیکالیس ( $P=0/0001$ )، کاندیدا گلابراتا ( $P=0/001$ ) و کاندیدا آلبیکنس ( $P=0/002$ ) مشاهده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی دارو و عصاره سیر و ترکیب آنها، با کشت

جدول ۱: میزان حساسیت گونه‌های کاندیدا مورد آزمایش به عصاره سیر و فلوکونازول به تنهایی و ترکیب با یکدیگر

MIC / گونه‌های کاندیدا	سیر (mg/ml)	فلوکونازول ( $\mu\text{g/ml}$ )	فلوکونازول و سیر ( $3/12 \mu\text{g/ml}$ )	فلوکونازول و سیر ( $1/56 \mu\text{g/ml}$ )
کاندیدا آلبیکنس	۳/۱۲	۲	۰/۵	۱
کاندیدا تروپیکالیس	۰/۷۸	۶۴	۴	۸
کاندیدا گلابراتا	۱/۵۶	۳۲	۸	>۸
کاندیدا پاراپسیلوزیس	۳/۱۲	۴	۲	۲
کاندیدا کروزه‌ای	۶/۲۵	>۶۴	۳۲	۶۴

جدول ۲: شمارش کلنی (CFU/ml) گونه کاندیدا آلبیکنس در برابر فلوکونازول به تنهایی و ترکیب با دو غلظت از عصاره سیر

شرایط آزمایش	فلوکونازول ۴µg/ml	فلوکونازول ۲µg/ml	فلوکونازول ۱µg/ml	فلوکونازول ۰.۵µg/ml
بدون عصاره سیر	$< 1/1 \times 10^2$	$1 \times 10^3$	$3/7 \times 10^4$	$5/3 \times 10^7$
با عصاره سیر (۳/۱۲۵mg/ml)	.	.	$< 1/2 \times 10^2$	$1/2 \times 10^3$
با عصاره سیر (۱/۵۶mg/ml)	.	$< 1/2 \times 10^2$	$1 \times 10^3$	$1/1 \times 10^4$

جدول ۳: شمارش کلنی (CFU/ml) گونه کاندیدا تروپیکالیس در برابر فلوکونازول به تنهایی و ترکیب با دو غلظت از عصاره سیر

شرایط آزمایش	فلوکونازول ۶۴µg/ml	فلوکونازول ۳۲µg/ml	فلوکونازول ۱۶µg/ml	فلوکونازول ۸µg/ml	فلوکونازول ۴µg/ml
بدون عصاره سیر	$1/1 \times 10^3$	$2/1 \times 10^4$	$5/1 \times 10^5$	$3/2 \times 10^6$	$1 \times 10^7$
با عصاره سیر (۳/۱۲۵mg/ml)	.	.	.	$1 \times 10^2$	$1/1 \times 10^3$
با عصاره سیر (۱/۵۶mg/ml)	.	.	$1/5 \times 10^2$	$1/3 \times 10^3$	$2/4 \times 10^6$

جدول ۴: شمارش کلنی (CFU/ml) گونه کاندیدا گلابراتا در برابر فلوکونازول به تنهایی و ترکیب با دو غلظت از عصاره سیر

شرایط آزمایش	فلوکونازول ۶۴µg/ml	فلوکونازول ۳۲µg/ml	فلوکونازول ۱۶µg/ml	فلوکونازول ۸µg/ml	فلوکونازول ۴µg/ml
بدون عصاره سیر	.	$1/4 \times 10^3$	$7/1 \times 10^3$	$2/5 \times 10^4$	$1/7 \times 10^6$
با عصاره سیر (۳/۱۲۵mg/ml)	.	.	$< 1 \times 10^2$	$1/1 \times 10^3$	$2/5 \times 10^4$
با عصاره سیر (۱/۵۶mg/ml)	.	.	.	$1/3 \times 10^{3*}$	$2/9 \times 10^4$

\* مقدار MIC فلوکونازول در ترکیب با غلظت ۱/۵۶ µg/ml سیر بیشتر از ۴ و کمتر از ۸ بوده است.

جدول ۵. شمارش کلنی (CFU/ml) گونه کاندیدا پاراپاراسیتلوزیس در برابر فلوکونازول به تنهایی و ترکیب با دو غلظت از عصاره سیر

شرایط آزمایش	فلوکونازول ۸µg/ml	فلوکونازول ۴µg/ml	فلوکونازول ۲µg/ml	فلوکونازول ۱µg/ml	فلوکونازول ۰.۵µg/ml
بدون عصاره سیر	$< 1 \times 10^2$	$\frac{1}{3} \times 10^3$	$\frac{2}{4} \times 10^4$	$\frac{3}{4} \times 10^5$	$\frac{4}{5} \times 10^6$
با عصاره سیر (۳/۱۲۵mg/ml)	۰	$< 1 \times 10^2$	$\frac{1}{2} \times 10^3$	$\frac{3}{1} \times 10^4$	$\frac{5}{2} \times 10^5$
با عصاره سیر (۱/۵۶mg/ml)	۰	۰	$\frac{1}{1} \times 10^3$	$\frac{4}{2} \times 10^4$	$\frac{7}{2} \times 10^5$

جدول ۶. شمارش کلنی (CFU/ml) گونه کاندیدا کروزه‌ای در برابر فلوکونازول به تنهایی و ترکیب با دو غلظت از عصاره سیر

شرایط آزمایش	فلوکونازول ۱۲۸µg/ml	فلوکونازول ۶۴µg/ml	فلوکونازول ۳۲µg/ml	فلوکونازول ۱۶µg/ml	فلوکونازول ۸µg/ml
بدون عصاره سیر	$\frac{1}{6} \times 10^{3*}$	$\frac{1}{6} \times 10^3$	$1 \times 10^4$	$\frac{2}{6} \times 10^5$	$\frac{4}{6} \times 10^6$
با عصاره سیر (۳/۱۲۵mg/ml)	۰	$\frac{1}{3} \times 10^2$	$\frac{1}{1} \times 10^3$	$\frac{1}{1} \times 10^4$	$\frac{2}{6} \times 10^5$
با عصاره سیر (۱/۵۶mg/ml)	$\frac{2}{1} \times 10^2$	$\frac{1}{3} \times 10^3$	$\frac{1}{2} \times 10^4$	$\frac{3}{2} \times 10^5$	$1 \times 10^6$

\* مقدار MIC عصاره سیر بیشتر از ۶۴ و کمتر از ۱۲۸ بوده است.

## بحث

ضد قارچی بر علیه گونه‌های مختلف قارچی پیدا می‌شود که در این میان سیر از اهمیت به‌سزایی برخوردار است (۷).

نیاز به داروها و ترکیبات ضد قارچی جدید زمینه انجام تحقیق حاضر برای بررسی آزمایشگاهی خواص ضد کاندیدایی عصاره سیر به تنهایی و همراه با فلوکونازول بوده است. مطالعات متعددی فعالیت مهارکنندگی رشد عصاره سیر بر روی قارچ‌های مختلف از جمله درماتوفیت‌ها (۱۷، ۲۶، ۲۸) و مخمرها (۱۰، ۲۹) را نشان داده است. آزول‌ها اخیراً به عنوان وسیع‌ترین داروی ضد قارچی مورد استفاده

انتشار قارچ‌های مقاوم به داروهای ضد قارچی و شکست‌های درمانی در درمان بعضی از بیماری‌های قارچی ضرورت جستجو برای انواع جدید داروهای ضد قارچی و ترکیباتی که بتوانند باعث مهار و کنترل مکانیسم‌های مقاومت در قارچ‌ها شوند را توجیه می‌کند. این مهم منجر به تحقیق در مورد داروهای جدید به ویژه بر روی گیاهان دارویی و ترکیبات گرفته شده از آنها برای پی بردن به خواص ضد قارچی آنها به تنهایی و یا ترکیب با داروهای شیمیایی شده است. در بین منابع طبیعی برخی مواد با فعالیت

برای درمان بیماری‌های قارچی محسوب می‌شوند که به دلیل عوارض جانبی کمتر و در دسترس بودن از آنها استقبال شده است. فلوکونازول داروی انتخابی برای درمان ضایعات کاندیدیازیس و ضایعات قارچی فرصت طلب در افراد مبتلا به ایدز محسوب شده و با توجه به کم بودن عوارض جانبی آن کاربرد زیادی دارد (۸). در حالی که مطالعات و گزارش‌های متعدد مقاومت گونه‌های مختلف کاندیدا نسبت به این دارو را نشان می‌دهد و به نظر می‌رسد که ترکیب این دارو با مواد دیگری که خاصیت ضد قارچی داشته باشد می‌تواند باعث افزایش تأثیر آن بر روی گونه‌های کاندیدا باشد. هر چند تأثیر ضد قارچی عصاره سیر بر روی باکتری‌ها و قارچ‌های مختلف مطالعه شده ولی تاکنون تأثیر ترکیب عصاره سیر با فلوکونازول بر علیه گونه‌های کاندیدای جدا شده از بیماران بررسی نشده است.

در مطالعه حاضر از روش مینیاتوری NCCLS (۲۱) و از گونه‌های کاندیدایی که از نمونه‌های بالینی بیماران مبتلا به کاندیدیازیس جدا شده و تعیین گونه شده بودند (۱)، برای انجام تست‌های حساسیت دارویی با رعایت تمام استانداردهای تست مذکور استفاده شد. این روش از روش‌های معتبری است که امروزه به این منظور استفاده می‌شود (۱۱، ۲۱). با توجه به این که عصاره تازه سیر تأثیر مفیدتر و بهتری بر روی مهار رشد کاندیدا دارد (۱۹) در این مطالعه از عصاره تازه سیر استفاده شد.

با توجه به این که کاندیداتروپیکالیس مقاوم به آمفوتریسین B (۱۲) و کاندیداگلابراتا از گونه‌های مقاوم به فلوکونازول به شمار می‌رود (۱۶)، حساسیت این دو گونه در مقابل عصاره سیر در مطالعه حاضر قابل اهمیت است به طوری که ترکیب این عصاره با فلوکونازول باعث

کاهش حداقل غلظت مهار کننده فلوکونازول به میزان هشت بار بر علیه کاندیداتروپیکالیس و چهار بار در مقابل کاندیداگلابراتا شد. علاوه بر این، کاندیداآلیکنس که از شایع‌ترین عوامل ایجاد کاندیدیازیس می‌باشد نیز حساسیت متوسطی نسبت به عصاره سیر نشان داد. کردی و همکاران (۴) در مطالعه‌ای که بر روی اثر دوش مهلبی عصاره سیر و کرم مهلبی کلوتریمازول در زنان مبتلا به کاندیدیازیس واژن انجام دادند درمان موفقیت‌آمیز (۳۴/۷ درصد) آنها را به وسیله دوش مهلبی عصاره سیر گزارش کردند. آنها همچنین گونه‌های کاندیداآلیکنس و کاندیداتروپیکالیس را حساس‌ترین گونه‌ها ولی گونه کاندیداکروزه‌ای مقاوم به سیر گزارش کردند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. علاوه بر کاندیدا، تأثیر مهار سیر بر روی درماتوفیت‌های مختلف مانند میکروسپوروم کانیس، اپیدرموفیتون فلوکوزوم، تریکوفیتون تونسورانس، تریکوفیتون روبروم و میکروسپوروم جیسیوم نیز گزارش شده است (۵).

#### نتیجه‌گیری

گونه‌های کاندیدا خصوصاً گونه‌های مقاوم به داروهای معمول مانند کاندیداتروپیکالیس، کاندیداگلابراتا و کاندیداآلیکنس در این مطالعه و در شرایط آزمایشگاه نسبت به عصاره آبی سیر حساس بودند. با این حال مطالعات آزمایشگاهی بیشتر و مطالعه بر روی حیوانات حساس آزمایشگاهی لازم است تا در شرایط برون‌تنی (*In vitro*) و درون تنی (*In vivo*) میزان حساسیت این قارچ‌ها نیز بررسی شوند.

## Summary

### **In vitro Antifungal Effect of Aqueous Garlic (*Allium Sativum*) Extract and its Combination with Fluconazole Against Five Common Clinical *Candida* Isolated from Candidiasis Lesions**

Jafari Nodoushan A.A., Ph.D.<sup>1</sup>, Dehghani M., B.S.c.<sup>2</sup>, Mirbagheri SM., B.S.c.<sup>3</sup>

1. Assistant Professor of Parasitology and Mycology Dep., Medical School, Shahid Sadoughi (Yazd) University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran 2. Laboratory expert, Shahid Beheshti Hospital, Shahid Sadoughi (Yazd) University of Medical Sciences and Health Services, Taft, Yazd, Iran 3. Expert, Taft Health Centre, Shahid Sadoughi (Yazd) University of Medical Sciences and Health Services, Taft, Yazd, Iran.

**Introduction:** Increasing rate of candidiasis prevalence and consequently use of antifungal drugs as prophylactic and curative agents has led to the widespread emergence of resistant strains. Therefore this study was designed to evaluate the *in vitro* antifungal activity of an aqueous extract of garlic and the synergic effect of garlic extract with fluconazole against common clinical isolates of *Candida* species from patients with candidiasis.

**Methods:** The antifungal activity of aqueous garlic extract was investigated in an *in vitro* system using standard broth microdilution method against five common clinically isolates of *Candida* species including *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* (*T.glabrata*), *C. parapsilosis*, *C. krusei* and 3 standard strains of *Candida*. The synergic antifungal effect of garlic extract in combination with fluconazole was also determined.

**Results:** The strongest activity of garlic extract was seen against *Candida tropicalis* (MIC=0.78mg/ml), *C. glabrata* (MIC=1.56mg/ml), and *C. albicans* (MIC=3.12mg/ml) respectively. *C. krusei* was the most resistant species against garlic extract (MIC 6.25mg/ml). The minimum inhibition concentration of fluconazole was reduced eight folds against *C. tropicalis*, 4 folds against *C. albicans* and *C. glabrata*, and 2 folds for other *Candida* species in the presence of 3.12 mg/ml garlic extract. In comparing means, the isolated colonies (CFU) in wells without garlic extract and CFU in other wells showed statistical significant differences for *C. tropicalis* (P=0.0001), *C. glabrata* (P=0.001) and *C. albicans* (P=0.002).

**Conclusion:** *Candida* species particularly resistant species such as *Candida tropicalis* and *Candida glabrata* are sensitive to aqueous extract of garlic, and combination of garlic extract with fluconazole in topical use could increase the efficacy rate of fluconazole.

**Key words:** *Allium sativum*, *Candida*, Antifungal, *in vitro*, Synergism, Fluconazole

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2007; 14(3): 153-162*

## منابع

- جعفری، عباسعلی؛ انوری، محمد حسین و غفورزاده، مهین. تعیین هویت گونه‌های کاندیدا جدا شده از ضایعات ۱۵۰ بیمار مبتلا به کاندیدیازیس با استفاده از محیط کشت *Candida* ID agar و *Candida* CHROM agar. مجله پزشکی کوثر. دوره ۱۱، شماره ۴، ص ۳۰-۳۲۵.
- سلطانی، مریم؛ یادگاری، محمد حسین و صراف، محمد حسن: بررسی تأثیر آلپسین سیر بر فعالیت ماکروفاژها در بلغ کاندیدا آلپیکس (شرایط *in vitro*). مجله دانشکده پزشکی اصفهان، تابستان ۱۳۸۴، سال ۲۳، شماره ۲۷، ص ۴۹-۵۴.
- شاپوری، رضا؛ ستاری، مرتضی و زهیر، محمد حسن. اثر ضد میکروبی عصاره کلروفومی سیر (آلپسین) بر بروسلامی تنسیس (Rev1) و بروسلاآپورتوس (S19) درون ماکروفاژ. یاخته، تابستان ۱۳۸۳، سال ششم، شماره ۲۲، ص ۴-۸۱.



۴. کردی، معصومه؛ جهانگیری، نادیا؛ رخشنده، حسن و غلامی، حسن. مقایسه اثر دوش مهلبی عصاره سیر و کرم مهلبی کلوتریمازول در درمان زنان مبتلا به کاندیدیازیس واژن. مجله زنان و نازایی ایران، پاییز و زمستان ۱۳۸۳، سال ۸، شماره ۲، ص ۴۲-۴۳.
۵. لاری پور، محدثه؛ یادگاری، محمدحسین؛ حسن زهیرمحمد و اخوان سپهی، عباس. اثر سیر در جلوگیری از رشد درماتوفیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی. یاخته، ۱۳۸۵؛ سال ۸، شماره ۷، ص ۱۶-۲۹.
6. Adetumbi M, Javor GT, Lau BH. Allium sativum (Garlic) Inhibits Lipid Synthesis by Candida albicans. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30(3): 491-503.
7. Auger J, Arnault I, Diwo-Allain S, Ravier M, Molia F, Magali P. Insecticidal and fungicidal potential of Allium substances as biofumigants. *Agroindustria* 2004; 3(3): 5-8.
8. Barchiesi F, Najvar LK, Luther MF, Scalise G, Rinaldi MG, Graybill JR. Variation in fluconazole efficacy for Candida albicans strains sequentially isolated from oral cavities of patients with AIDS in an experimental murine candidiasis model. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40(5): 1317-20.
9. Boken DJ, Swindells S, Rinaldi MG. Fluconazole-resistant candida albicans. *Clin Infect Dis* 1993; 17(6): 1018-21.
10. Conner D.E, Beuchat LR. Sensitivity of Heat-Stressed Yeasts to essential oils of plants. *Appl Environ Microbiol* 1984; 47(2): 229-33.
11. Cormican MG, Pfaller MA. Standardization of antifungal susceptibility testing. *J Antimicrob Chemother* 1996; 38(4): 561-78.
12. De Marie S. New developments in the diagnosis and management of invasive fungal infections. *Haematologica* 2000; 85(1): 88-93.
13. Denning DW. Can we prevent azole resistance in fungi? *Lancet* 1995; 346(8973): 454-5.
14. Esanu V, Prahoveanu E. The effect of garlic extract, applied as such or in association with NaF, on experimental influenza in mice. *Virologie* 1983; 34(1): 11-7.
15. Glatt AE, Chirgwin K, Landesman SH. Current concepts. Treatment of infections associated with human immunodeficiency virus. *N Eng J Med* 1998; 318(22): 1439-48.
16. Hitchcock CA, Pye GW, Troke PE, Johnson EM, Warnock DW. Fluconazole Resistance in Candida glabrata. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(9): 1962-5.
17. Karunyal SA, Andrews B, Jebashree H. *In vitro* evaluation of the antifungal activity of Allium sativum bulb extract against Trichophyton rubrum, a human skin pathogen. *World J Microbiol Biotechnol* 2000; 16(7): 617-20.
18. Kudi A.A, Ngbede JE. *In vitro* antibacterial activity of aqueous garlic (Allium sativum Linn.) extract on isolates from surface wounds. *J Food Agric Environ* 2006; 4(3&4): 15-16.
19. Lemar KM, Turner MP, Lioyd D. Garlic (Allium sativum) as an anti-Candida agent: a comparison of the efficacy of fresh garlic and freeze-dried extracts. *J Appl Microbiol* 2002, 93(3): 398-405
20. Messer SA, Diekema DJ, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Pfaller MA. Activities of Micafungin against 315 Invasive Clinical Isolates of Fluconazole-Resistant Candida spp. *J Clin Microbiol* 2006; 44(2): 324-6.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards (1994): Development of *in vitro* susceptibility testing criteria and quality control parameters. approved guidelines M23-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, villanova, PA.
22. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RG, Messer SA. International surveillance of bloodstream infections due to Candida species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY program. *J Clin Microbiol* 1998; 36(7): 1886-9.
23. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Messer SA, Houston A, et al. Bloodstream

- infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997–1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(3): 747–51.
24. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Rice C, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Further standardization of broth microdilution methodology for *in vitro* susceptibility testing of caspofungin against *Candida* species by use of an international collection of more than 3,000 clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2004; 42(7): 3117–9.
  25. Prasad G, Sharma VD. Antifungal property of garlic (*Allium sativum* Linn.) in poultry feed substrate. *Poult Sci* 1975; 60:541-5.
  26. Prasad G, Sharma VD, Kumar A. Efficacy of garlic (*Allium sativum* L.) therapy against experimental dermatophytosis in rabbits. *Indian J Med Res* 1982; 75: 465-7.
  27. Sandven P. Laboratory identification and sensitivity testing of yeast isolates. *Acta Odontol Scand* 1990; 48(1): 27-36.
  28. Shams Ghahfarokhi M, Razafsha M, Allameh A and Razzaghi Abyaneh M. Inhibitory Effects of Aqueous Onion and Garlic Extracts on Growth and Keratinase Activity in *Trichophyton mentagrophytes*. Iran. *Biomed J* 2003; 7 (3): 113-118
  29. Shuford JA, Steckelberg JM, Patel R. Effects of Fresh Garlic Extract on *Candida albicans* Biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(1): 4-73.
  30. Takakura S, Fujihara N, Saito T, Kudo T, Inuma Y, Ichiyama S. National surveillance of species distribution in blood isolates of *Candida* species in Japan and their susceptibility to six antifungal agents including voriconazole and micafungin. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53(2): 283–9.
  31. Terai H, Shimahara M. Atrophic tongue associated with *Candida*. *J Oral Pathol Med* 2005; 34(7): 397–400.
  32. Warnock D. W. Azole drug resistance in *Candida* species. *J Med Microbiol* 1992; 37(4): 225-6.
  33. Yoshida S, Kasuga S, Hayashi N, Ushiroguchi T, Matsuura H, Nakagawa S. Antifungal Activity of ajoene derived from garlic. *Appl Environ Microbiol* 1987; 53(3): 615-7.

## تهیه ژل موضعی دپلتیازم برای درمان شقاق مقعد و ارزیابی آزادسازی دارو به روش‌های *In-vitro* و *Ex-vivo*

دکتر ناصر توکلی<sup>۱\*</sup>، دکتر محسن مینائیان<sup>۲</sup> و دکتر الهام سقایی<sup>۲</sup>

### خلاصه

مقدمه: شقاق مقعد (Anal fissure) شکاف‌های غیرطبیعی ظریف در پوست ناحیه آنوس می‌باشد که با علائمی مانند درد و خونریزی در محل زخم (هنگام اجابت مزاج) همراه است. از جمله داروهایی که اخیراً برای درمان این بیماری استفاده می‌شود، اشکال موضعی گلیسرین تری‌نیترات (GTN) و دپلتیازم می‌باشند. دپلتیازم یک داروی بلوکه‌کننده کانال کلسیم است که به طور مؤثر باعث کاهش فشار آنال و افزایش خون‌رسانی به موضع شده و عوارض GTN مانند سردرد، سوزش آنال و افت فشار خون را به همراه ندارد. هدف از انجام مطالعه حاضر، ارائه یک فرمولاسیون مناسب از دپلتیازم در پایه ژل است که علاوه بر ارائه یک پروفایل آزادسازی مناسب از دارو، پایداری کافی و عمر قفسه‌ای مطلوب نیز داشته باشد.

روش: چهار فرمولاسیون ژل از سه پلی‌مرهیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) گوار و کتیرا تهیه شد. خصوصیات فیزیکی فرآورده‌های منتخب از جمله آزادسازی دارو به روش *in vitro* و نفوذپذیری آن به روش *ex-vivo* توسط سل دیفوزیون فرانز و غشاءهای سنتتیک (سلولز استات) و بیولوژیک (پوست رت) مورد بررسی قرار گرفته و مقدار داروی آزاد شده از هر فرمولاسیون (در طول دوره زمانی ۵ ساعته) توسط روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۳۶ نانومتر تعیین شد. همچنین مطالعات پایداری اولیه تحت شرایط تسریع شده و تعیین عمر قفسه‌ای در مورد چهار فرمولاسیون منتخب انجام شد.

یافته‌ها: فرآورده‌های منتخب شامل ژل با پایه HPMC ۱٪ و ۱/۵٪، گوار ۱/۲۵٪ و کتیرا ۱/۵٪ دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی مطلوبی بوده و در طول آزمایشات پایداری کیفیت خود را حفظ نمودند. همچنین بررسی آزادسازی دارو توسط غشاء سنتتیک نشان داد که ژل‌های فوق به ترتیب ۸۹/۷٪، ۷۶/۷٪، ۹۴/۹٪ و ۶۶/۱٪ محتوای دارویی خود را آزاد کرده‌اند. این مقادیر در مورد عبور دارو از غشاء بیولوژیک (پوست رت) برای هر یک از فرمولاسیون‌ها به ترتیب برابر ۵۲/۷٪، ۵۰/۹٪، ۶۴/۶٪ و ۴۲/۶٪ بود.

نتیجه‌گیری: مقایسه نتایج میزان داروی آزاد شده از پایه‌های مختلف مشخص نمود که درصد آزادسازی از غشاء سنتتیک (در تمام پایه‌ها) از درصد عبور دارو از پوست رت بیشتر بوده است ( $P < 0/05$ ). کینتیک آزادسازی دارو از پایه، در هر دو روش بررسی (غشاء سنتتیک و پوست رت) به نوع عامل (پلیمر) ژل‌ساز بستگی نداشته و در مورد هر چهار فرمولاسیون از معادله هیگکوچی پیروی می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: دپلتیازم، ژل موضعی، شقاق مقعد

۱- دانشیار گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۲- دانشیار گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات

علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۳- دستیار فارماکولوژی- سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

\* نویسنده مسؤول، آدرس: گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان • آدرس پست الکترونیک: [tavakoli@pharm.mui.ac.ir](mailto:tavakoli@pharm.mui.ac.ir)

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۷/۲۱ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۶/۳/۲۰ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۴/۶

## مقدمه

شقاق مقعد یکی از بیماری‌های شایع بخش انتهایی دستگاه گوارش است که در تمام گروه‌های سنی دیده می‌شود و میزان شیوع آن در مردان و زنان تقریباً مساوی می‌باشد (۱۲).

تظاهرات بالینی این بیماری در مراحل حاد شامل درد و سوزش شدید هنگام دفع و خونریزی است که در موارد مزمن، هیپرتروفی در محل زخم و دگمه پوستی در حاشیه پروگزیمال آن نیز مشاهده می‌شود (۱۲).

اگر چه عامل اتیولوژیک این بیماری کاملاً مشخص نیست ولی حوادث ترومایی مانند یبوست مزمن (معمول‌ترین عامل)، اسهال و زایمان را جز عوامل اصلی و تشدیدکننده این بیماری می‌دانند. همچنین عملکرد نادرست اسفنکتر داخلی و ایسکمی ناشی از افزایش فشار اسفنکتر داخلی آنال از دیگر عوامل دخیل در پیشرفت و احیاناً بروز این بیماری هستند (۱۰).

امروزه اساس درمان شقاق مقعد کاهش فشار اسفنکتر داخلی آنال (که به دلیل وجود زخم دچار اسپاسم می‌شود) و متعاقباً افزایش جریان خون به این قسمت است که به دنبال آن بهبود زخم‌ها تسریع یافته و علائم ظاهری بیماری تخفیف می‌یابند. در حال حاضر راهکارهای درمانی را می‌توان در سه مرحله بیان نمود: ۱- درمان سنتی یا حمایت کننده ۲- درمان دارویی ۳- عمل جراحی

استفاده از درمان‌های سنتی (شامل وان آب گرم، کاربرد لیدوکائین و هیدروکورتیزون موضعی و مصرف فیبر غذایی) بیشتر در مورد شقاق‌های حاد و ابتدایی به کار می‌رود و در اکثر موارد پاسخ مناسبی نیز دیده می‌شود (۱۰).

درمان جراحی (Lateral sphincterotomy) اگر چه درصد قابل توجهی از شقاق‌ها را بهبود می‌بخشد اما به دلیل عوارض جانبی برگشت‌ناپذیر مانند بی‌اختیاری مدفوع، و تهاجمی بودن روش و انجام عمل تحت بیهوشی عمومی کمتر مورد توجه قرار گرفته و امروزه جزء درمان‌های مراحل نهایی به حساب می‌آید (۱۵).

درمان دارویی (Chemical sphincterotomy) بدون آسیب رساندن دایم به عملکرد اسفنکتر آنال باعث کاهش فشار در این ناحیه می‌شود و لذا به عنوان خط اول درمان جایگزین جراحی شده است.

اشکال موضعی حاوی ۰/۲ درصد گلیسرین تری نیترات (GTN) به عنوان منابع تأمین‌کننده نیتریک اکسید (مؤثر در انبساط اسفنکتر داخلی) اولین مرحله درمان دارویی در این زمینه هستند. البته عوارضی مانند سردرد، افت فشارخون، سوزش در ناحیه آنال و کاهش میزان بهبودی در استفاده طولانی مدت (به علت بروز پدیده تحمل به نیترات‌ها) باعث کاهش پذیرش و ادامه درمان از جانب بیماران شده است (۸،۱۴).

تزریق موضعی سم بوتولینوم به عنوان مهارکننده آزادسازی استیل کولین از پایانه‌های عصبی، کاربرد ژل موضعی بتانکل ۱ درصد به عنوان یک آنتاگونیست موسکارینی و ایندورامین خوراکی و موضعی به عنوان بلوک‌کننده گیرنده‌های آلفا-۱ آدرنژیک از دیگر اقدامات درمانی می‌باشند که به طور محدود مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸،۹،۱۷،۱۸).

از آن جایی که قسمت اعظم انقباض اسفنکتر داخلی آنال با حضور یون‌های کلسیم صورت می‌گیرد و تأثیرگذاری برخی از داروها به نحوی با این یون ارتباط پیدا می‌کند، مصرف خوراکی یا موضعی مهارکننده‌های کانال کلسیم مانند دیتلیازم مورد توجه خاص محققان بوده است. مقایسه فرم موضعی و خوراکی دیتلیازم نشان داده است که فرم موضعی به علت ایجاد عوارض جانبی کمتر مانند سردرد، افت فشارخون، راش و مصرف مقادیر کمتری از دارو، نسبت به فرم خوراکی ارجح است (۱۳). همچنین در مقایسه بالینی، اثر بخشی فرم موضعی دیتلیازم با پماد GTN، اثربخشی این دودارو مشابه بوده است. علاوه بر این دیتلیازم موضعی عوارض GTN را نشان نداده است (۶). بنابراین امروزه استفاده از اشکال موضعی دیتلیازم به عنوان خط دوم درمان دارویی و جانشین مناسب برای GTN موضعی مورد توجه می‌باشد (۱۳). با توجه به این که هم اکنون در بازار

۸۰ درصد آب فرمولاسیون تا دمای ۴ درجه سانتی گراد سرد شده و به مخلوط فوق همراه با هم زدن (توسط همزن مغناطیسی مدل Gallenna ساخت انگلستان) اضافه شد. بعد از تهیه کامل پایه ژل، ۲ گرم دیتلیازم و دی سدیم ادتات در مابقی آب حل و به پایه افزوده شد. در نهایت پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ کم کم به فرآورده اضافه گردید.

برای ساخت ژل گوار، پودر گوار همراه با پروپیلن گلیکول و مواد محافظ در یک بشر مخلوط گردید. سپس آب فرمولاسیون حاوی ۲ گرم دیتلیازم و دی سدیم ادتات کم کم به مخلوط حاصل اضافه شد. پلی اتیلن گلیکول نیز در نهایت به آرامی اضافه شد.

برای تهیه ژل کتیرا، ابتدا پودر کتیرا توسط گلیسرین و پروپیلن گلیکول همراه با مواد محافظ به مدت یک هفته مرطوب شد. آب فرمولاسیون حاوی دیتلیازم و دی سدیم ادتات با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد همراه با هم زدن به مخلوط حاصل اضافه شد. در نهایت پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ نیز افزوده شد.

دارویی کشورمان فرآورده موضعی مناسب و تأیید شده‌ای از دیتلیازم موجود نمی‌باشد و نیاز به این شکل دارویی بیش از پیش احساس می‌شود، در این تحقیق سعی شده است ضمن ساخت یک فرآورده موضعی مناسب از دیتلیازم، این فرآورده از لحاظ خواص فیزیکی و شیمیایی، آزادسازی ماده مؤثره و مطالعات پایداری مورد ارزیابی قرار گیرد.

### روش بررسی

۱- مواد مورد استفاده: پودر دیتلیازم هیدروکلراید (دارو پخش، ایران)، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز [K4M(HPMC) (کالرکون، انگلیس)]، صمغ گوار G3 (هرکولس، آمریکا)، صمغ کتیرا (نمونه قابل دسترس در ایران)، متیل پارابن، پروپیل پارابن، پروپیلن گلیکول، سدیم ادتات، گلیسرین و پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ (همگی مرک، آلمان).

۲- تهیه ژل‌های دیتلیازم: برای تهیه ژل هیدروکسی پروپیل متیل سلولز، ابتدا پودر HPMC با مقادیر معینی پروپیلن گلیکول (PG) و متیل و پروپیل پارابن مخلوط و

جدول ۱: اجزاء فرمولاسیون‌های مختلف ژل دیتلیازم بر حسب درصد (W/W)

F <sub>11</sub>	F <sub>10</sub>	F <sub>9</sub>	F <sub>8</sub>	F <sub>7</sub>	F <sub>6</sub>	F <sub>5</sub>	F <sub>4</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>1</sub>	کد فرمولاسیون اجزای تشکیل دهنده (%/W/W)
۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	دیتلیازم
-	-	-	-	-	-	-	۱	۱/۵	۱/۵	۱/۵	HPMC K <sub>4</sub> M
-	-	-	۱/۲۵	۱/۲۵	۱	۰/۵	-	-	-	-	گوار G3
۱/۵	۱/۵	۲	-	-	-	-	-	-	-	-	کتیرا
۸	۵	۵	۵	۵	۵	۶	۸	۸	۴	۴	پروپیلن گلیکول
۱۰	۱۰	۵	۵	۱۰	۵	۵	۱۵	۱۵	۱۰	۵	PEG 400
۶	۶	۶	-	-	-	-	-	-	-	-	گلیسرین
۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	متیل پارابن
۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	پروپیل پارابن
۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	دی سدیم ادتات
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	آب مقطر به مقدار کافی تا

نمونه در طول موج  $\lambda_{max}$  و با استفاده از منحنی استاندارد (نمودار ۱) محاسبه گردید.

۵- بررسی آزادسازی دارو به روش *In-vitro*: به منظور بررسی میزان داروی آزاد شده از فرآورده‌های منتخب ژل، سل دیفوزیون فرانس (به حجم ۲۷ میلی‌لیتر) و غشا سنتتیک از جنس سلولز استات مورد استفاده قرار گرفت. بخش گیرنده سل دیفوزیون توسط بافر فسفات با pH=۶ پر و ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه مورد آزمایش در سطح غشا سنتتیک به عنوان فاز دهنده به صورت یکنواخت پخش شد. نمونه‌گیری در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ دقیقه و متعاقباً به فواصل یکساعت تا ۵ ساعت و به میزان ۰/۶ میلی‌لیتر صورت گرفته و میزان جذب هریک از نمونه‌ها در طول موج ۲۳۶ نانومتر (طول موج حداکثر جذب دیلتیازم در محیط بافر فسفات) تعیین شد. غلظت حقیقی دارو در هر نمونه توسط معادله استاندارد و فرمول ۱ محاسبه گردید (این آزمایش برای هر فرآورده سه بار تکرار شد). برای حذف هر گونه تداخل احتمالی (ناشی از حضور سایر اجزاء موجود در فرمولاسیون‌ها) از هر فرآورده یک نمونه فاقد دارو تهیه و میزان آزادسازی دارو با روش فوق مورد بررسی قرار گرفت. اختلاف جذب میان نمونه‌های فاقد دارو و حاوی دارو به عنوان جذب حقیقی حاصل از دارو در نظر گرفته شد.

فرمول شماره ۱:

$$C_n = C + \frac{C_{n-1} \times V}{V_t}$$

$C_n = n$  غلظت حقیقی دارو در نمونه

$C = n$  غلظت ظاهری دارو در نمونه

$C_{n-1} = n-1$  غلظت حقیقی دارو در نمونه

$V =$  حجم نمونه

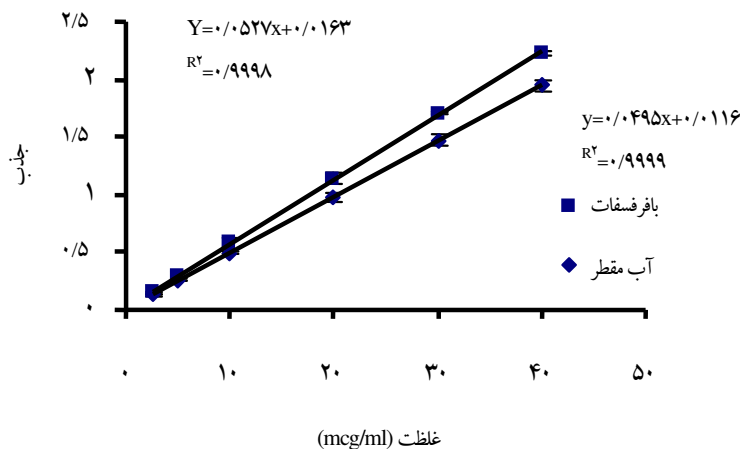
$V_t =$  حجم کل نمونه

فرمولاسیون‌های تهیه شده توسط ۳ پلیمر مورد نظر و سایر مواد تشکیل دهنده در جدول ۱ ارائه شده‌اند.

۳- بررسی خصوصیات فیزیکی و رئولوژی ژل‌های دیلتیازم: این آزمایشات شامل بررسی یکنواختی ظاهر فرآورده‌ها به صورت میکروسکوپی و ماکروسکوپی، تعیین pH فرآورده‌ها، اعمال تنش‌های حرارتی شامل آزمایش ذوب و انجماد، سرد و گرم شدن و بررسی خصوصیات رئولوژی فرآورده‌ها بود.

برای بررسی خواص رئولوژی فرآورده‌ها از دستگاه رئومتر Rheomat (مدل RM180 ساخت کارخانه Mettler سوئیس) استفاده شد. برای کار با این دستگاه که از انواع ویسکومترهای پایه و شاقول (cup and bob) است، ابتدا لازم است دستگاه کالیبره گردد. سپس نمونه مورد آزمایش به استوانه وارد شده و قسمت مخروطی درون استوانه قرار گرفته و مجموعه حاصل به دستگاه وصل می‌شود. در این حالت دستگاه در مقادیر  $D_{min}$  و  $D_{max}$  (معادل کمترین و بیشترین سرعت تنش) تنظیم گردیده و پس از شروع بکار، مقادیر نیروی کششی (بر حسب واحد پاسکال) و میزان ویسکوزیته ( $\eta$ ) در نقاط مشخصی از سرعت تنش روی مانیتور دستگاه خوانده می‌شود.

۴- تعیین مقدار دارو در فرآورده‌ها: مقدار ۰/۵ گرم از ژل به دقت توزین شده و توسط آب مقطر به صورت متوالی ۱۰۰۰ مرتبه رقیق شد و سپس محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (مدل Kubota-KN-70 ساخت ژاپن) شد. در مورد فرمولاسیون‌های دارای گوار و کتیرا، یک مرحله فیلتراسیون محلول پیش از سانتریفوژ انجام شد. مرحله فوق برای فرآورده‌های بدون دارو (پایه) نیز به عنوان شاهد انجام شد. میزان جذب UV ماده مؤثره در طول موج ۲۳۶ نانومتر (طول موج حداکثر جذب دیلتیازم در محیط آبی) توسط دستگاه اسپکترو فتومتر (UV mini 240-CE) اندازه‌گیری و غلظت دارو از روی اختلاف جذب شاهد و



نمودار ۱: منحنی استاندارد دیلتیازم هیدروکلراید در محیط آب مقطر و بافر فسفات (pH=6)

وزن  $25 \pm 150$  گرم به عنوان غشای بیولوژیک به کار برده شد. پوست تازه رت پس از آماده‌سازی و زدودن مو و لایه‌های چربی زیرین، بین بدنه و دهانه سل کشیده شد به طوری که سطح اپیدرمی آن به سمت فازدهنده و سطح درمی آن به سمت فاز گیرنده باشد (۱). بقیه مراحل آزمایش مانند روش مذکور در قسمت قبل بوده و کیتیک آزادسازی و عبور دارو و پارامترهای MDT و  $T_{50}$  نیز در این روش برای هر فرآورده محاسبه شدند.

۷- مطالعات پایداری و تعیین تاریخ انقضاء: فرآورده‌های منتخب در تیوب‌های پوشش دار بسته‌بندی شده و به مدت ۶ ماه در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس در فواصل زمانی هر ۲ ماه یکبار پایداری فرآورده از لحاظ ظاهری و محتوای ماده مؤثره مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین به منظور تعیین تاریخ انقضاء، مطابق دستورالعمل WHO تعدادی از فرآورده‌های بسته‌بندی شده در دمای  $2 \pm 40$  درجه سانتی‌گراد (به صورت عمودی) به مدت سه ماه نگهداری شده و در فواصل زمانی ۱ ماهه از لحاظ فیزیکی و ظاهری، pH، یکنواختی محتوای ماده مؤثره و خصوصیات رئولوژیک مورد بررسی قرار گرفتند.

۸- آنالیز آماری داده‌ها: برای مقایسه دو میانگین از آزمون آماری t-test و برای مقایسه بیش از دو میانگین از

کیتیک آزادسازی دارو از هر یک از فرآورده‌های منتخب توسط سه مدل کیتیکی درجه صفر، درجه یک و هیگوجی مورد مطالعه قرار گرفت و ضرایب همبستگی هر یک محاسبه شد. همچنین پارامترهای MDT (Mean Dissolution Time) یا متوسط زمان انحلال، فرمول (۲) و  $T_{50}$  (مدت زمانی که ۵۰ درصد دارو از فرآورده آزاد می‌شود) نیز برای هر یک از فرآورده‌ها محاسبه گردید. این دو پارامتر نشان‌دهنده الگوی کلی انحلال دارو بوده و برای مقایسه روند آزادسازی دارو از پایه‌ها به کار می‌روند.  
فرمول شماره ۲:

$$MDT = \frac{\sum_{j=1}^n t_j \Delta M_j}{\sum_{j=1}^n \Delta M_j}$$

در این رابطه،  $t_j$  میانگین زمان بین دو نمونه‌گیری و  $\Delta M_j$  اختلاف میزان داروی آزاد شده بین دو نمونه‌گیری است.

۶- بررسی میزان عبور دارو به روش *Ex-vivo*: برای این منظور نیز از سل دیفوزیون فرانس مشابه با روش قبل استفاده گردید با این تفاوت که به جای غشای سنتتیک، پوست ناحیه شکم موش صحرائی نر (رت) نژاد Wistar با

جدول ۲: میانگین pH و مقدار دیتیازم (بر حسب گرم) فرآورده‌ها ۴۸ ساعت پس از ساخت

مقدار دیتیازم (میانگین ±SD)	pH (میانگین ±SD)	فرمولاسیون
۲/۰۱۸ (±۰/۰۲)	۵/۶۵ (±۰/۲۱)	F <sub>3</sub>
۱/۹۹۷ (±۰/۰۴۰)	۵/۷۱ (±۰/۲)	F <sub>4</sub>
۲/۱۱۲ (±۰/۲۳)	۵/۷۵ (±۰/۲۶)	F <sub>8</sub>
۲/۱۲۰ (±۰/۲۳)	۵/۶۸ (±۰/۲۵)	F <sub>11</sub>

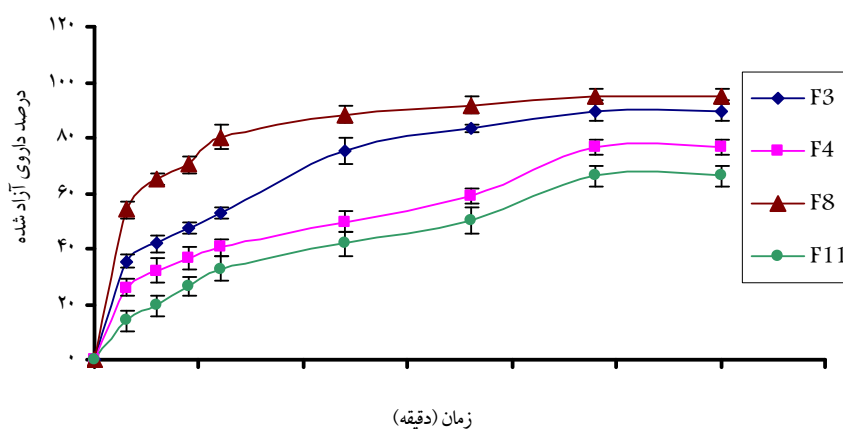
نتایج حاصل از تعیین مقدار دارو در فرآورده‌ها، ۴۸ ساعت پس از ساخت در جدول ۲ ارائه شده است. مقدار دارو در همه فرآورده‌ها در محدوده ۱۰۰±۱۰٪ قرار داشت. نمودار ۲ درصد تجمعی داروی آزاد شده در برابر زمان را نمایش می‌دهد. همچنین کینتیک آزادسازی دارو توسط سه مدل درجه صفر، درجه یک و هیگوجی مورد بررسی قرار گرفت و ضرایب همبستگی مربوط به هر یک محاسبه و در جدول ۳ نشان داده شده است. این نتایج از لحاظ آماری مورد مقایسه قرار گرفتند و در مورد هر فرمولاسیون مدل کینتیکی مناسب‌تر انتخاب شد. همچنین پارامترهای MDT و T<sub>50</sub> نیز برای هر فرآورده محاسبه گردید که در جدول ۳ ذکر شده‌اند.

آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و متعاقب آن از تست دانکن (Duncan) استفاده گردید. در همه آنالیزها ارزش P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد. برنامه آماری به کار رفته SPSS نسخه ۱۲ بود.

## نتایج

از میان فرمولاسیون‌های مندرج در جدول ۱، ۴ فرمولاسیون بر اساس سازگاری ماده ژل‌ساز با دارو و سپس داشتن ظاهر و قوام نسبی مناسب انتخاب شده و سایر آزمایشات بر روی این ۴ فرمولاسیون صورت گرفت.

نتایج حاصل از بررسی خواص فیزیکی فرمولاسیون‌های منتخب، ۴۸ ساعت پس از ساخت نشان داد که این فرآورده‌ها از لحاظ ماکروسکوپی و میکروسکوپی یکنواخت، فاقد ذرات قابل لمس و بدون حباب هوا می‌باشند. همچنین pH فرآورده‌ها نزدیک به pH مورد استفاده (pH کانال آنال ۶ است) است که در جدول ۲ نشان داده شده‌اند. فرآورده‌ها پس از تحمل استرس‌های حرارتی هم‌چنان کیفیت اولیه خود را حفظ کرده و تغییری در رنگ و ظاهر (از لحاظ جدا شدن فازها و یا ایجاد کریستال) آنها مشاهده نشد. رفتار رئولوژی فرآورده‌ها با استفاده از رئوگرام‌های حاصله حاکی از آن است که همه فرآورده‌ها دارای جریان شبه‌پلاستیک بوده و فاقد تیکسوتروپی می‌باشند.



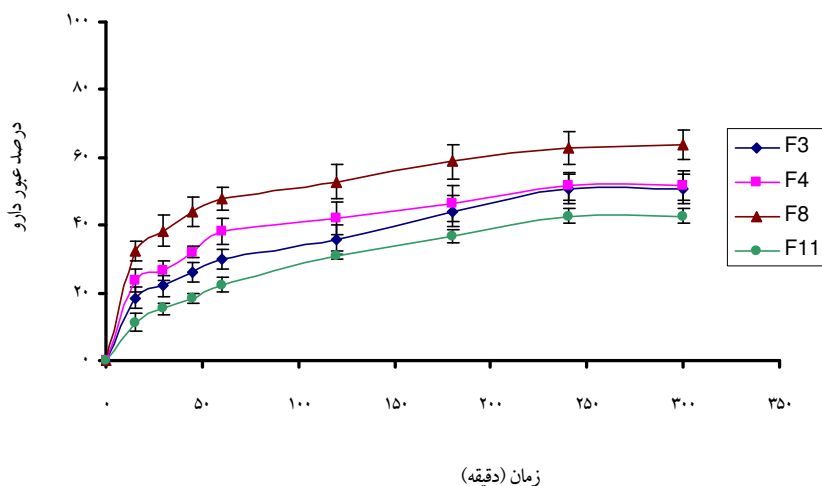
نمودار ۲: درصد آزادسازی دارو در برابر زمان در فرآورده‌های منتخب به روش غشای سنتتیک (n=۳)



جدول ۳: ضرایب همبستگی کیتیک‌های درجه صفر، درجه یک و هیگوچی و مقادیر  $T_{50}$  و  $MDT$  مربوط به فرآورده‌های

(In-vitro) متنخب در روش غشای سنتیک

$T_{50}$ (min)	$MDT (\pm SD)$ (min)	هیگوچی	درجه یک	درجه صفر	فرمولاسیون
۹۴/۶۷	۱۸/۷۵۶±۰/۴۹	۰/۹۸۵۳	۰/۹۶۹۳	۰/۸۲۷	F <sub>3</sub>
۴۷/۴۲	۱۶/۸۴±۰/۲۶	۰/۹۳۵۵	۰/۸۸۶۱	۰/۷۵۰۷	F <sub>4</sub>
۱/۲۴	۱۱/۲۵۶±۰/۴۳	۰/۷۶۳۵	۰/۶۵۵۱	۰/۴۶۳۷	F <sub>8</sub>
۱۵۰/۹۹	۱۷/۳۹۷±۰/۲۰	۰/۹۷۳۹	۰/۹۱۰۸	۰/۸۴۳۲	F <sub>11</sub>

نمودار ۳: درصد عبور دارو در برابر زمان در فرآورده‌های متنخب به روش پوست جدا شده رت ( $n=3$ )جدول ۴: ضرایب همبستگی کیتیک‌های درجه صفر، درجه یک و هیگوچی و مقادیر  $T_{50}$  و  $MDT$  مربوط به فرآورده‌های متنخب

در روش پوست رت (Ex-vivo)

$T_{50}$ (min)	$MDT (\pm SD)$ (min)	هیگوچی	درجه یک	درجه صفر	فرمولاسیون
۲۴۳/۱۲	۱۶/۸۷۴±۲/۰۷	۰/۹۰۳۸	۰/۷۹۹۶	۰/۶۹۹۲	F <sub>3</sub>
۲۱۲/۹۵	۱۳/۲۰۴±۰/۲۶	۰/۹۷۵۹	۰/۹۱۱۳	۰/۸۳۸۸	F <sub>4</sub>
۱۰۵/۴۴	۱۳/۱۸۹±۰/۵۹	۰/۸۵۵۸	۰/۷۸۲۹	۰/۶۲۷۰	F <sub>8</sub>
۳۵۸/۱۸	۱۸/۲۰۷±۰/۹۹	۰/۹۸۹۴	۰/۹۲۲۱	۰/۸۷۹۶	F <sub>11</sub>

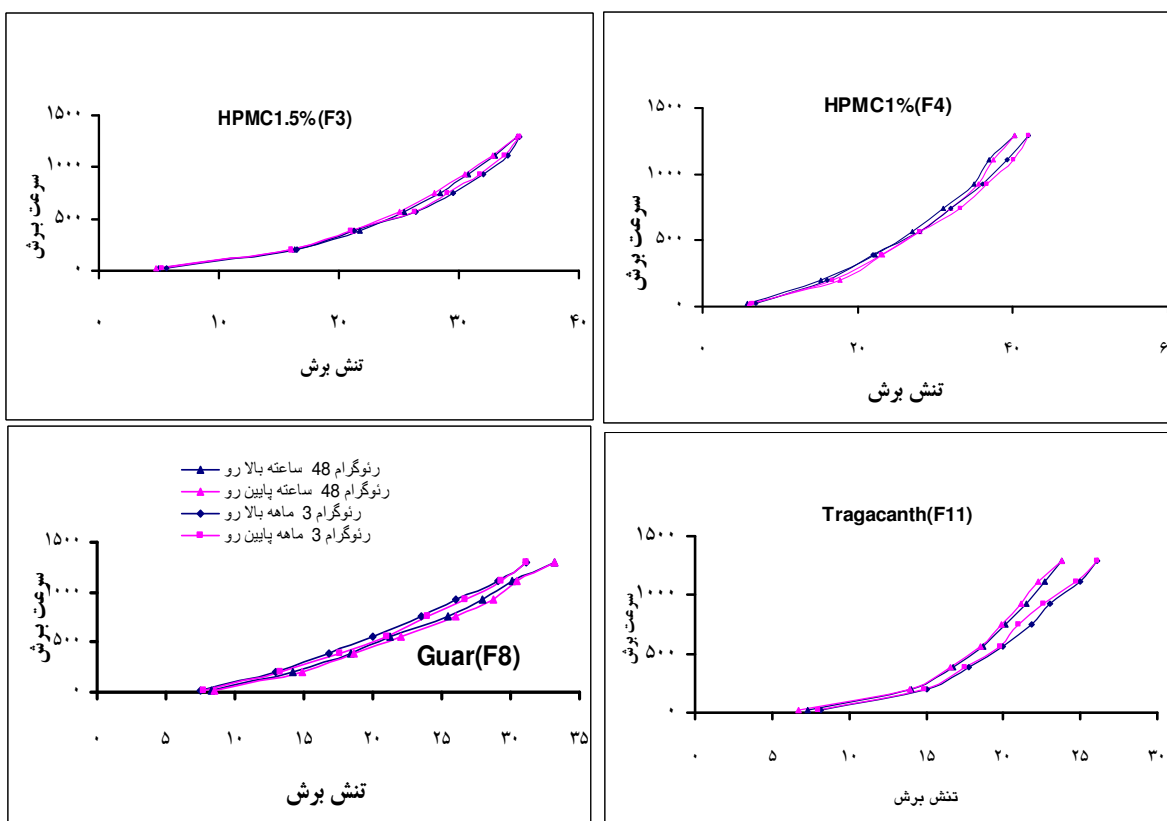
فرآورده محاسبه شد که در جدول ۴ ارائه شده‌اند. در بررسی ۶ ماهه فرآورده‌ها در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد (با فواصل ۲ ماهه) تغییری در خصوصیات ظاهری فرآورده‌ها مشاهده نشد (از لحاظ رنگ، بو، یکنواختی ظاهر) و محتوای ماده مؤثره در محدوده

نتایج حاصل از بررسی مقدار داروی عبور کرده از پوست رت در نمودار ۳ نشان داده شده است. ضرایب همبستگی حاصل از بررسی کینتیک‌های درجه صفر، درجه یک و هیگوجپی تعیین و در جدول ۴ نشان داده شده‌اند. پارامترهای MDT و  $T_{50}$  نیز در این آزمایش برای هر

جدول ۵: نتایج تعیین مقدار دیلتیازم در فرآورده‌های منتخب در یک دوره سه ماهه (دمای  $40 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد) ( $n=3$ )

میانگین مقدار دارو (برحسب گرم)			فرمولاسیون
۳ ماه بعد از ساخت	۲ ماه بعد از ساخت	۱ ماه بعد از ساخت	
$2/108 \pm 0/04$	$2/115 \pm 0/04$	$2/124 \pm 0/04$	F <sub>3</sub>
$2/039 \pm 0/03$	$2/021 \pm 0/02$	$2/022 \pm 0/02$	F <sub>4</sub>
$2/083 \pm 0/83$	$2/042 \pm 0/37$	$2/107 \pm 0/32$	F <sub>8</sub>
$2/005 \pm 0/46$	$2/083 \pm 0/62$	$2/117 \pm 0/57$	F <sub>11</sub>

نمودار ۴: رنوگرام فرمولاسیون‌های ژل ۱/۵ HPMC/۱ HPMC/۱ گوار و کتیرا ۴۸ ساعت و ۳ ماه پس از ساخت



این پلیمر یک پلی ساکارید آنیونیک می باشد اما در محدوده وسیعی از pH (۸/۵-۱/۹) کاملاً پایدار است و در حقیقت بیشترین پایداری را در pH های پایین از خود نشان می دهد (۲۵). این مطلب توجه کننده عدم تداخل دارو و پایه است. پلیمر طبیعی دیگری که مورد مطالعه قرار گرفت، صمغ گوار بود. در مورد این ماده، عدم تداخل پایه ژل و دارو را میتوان به غیر یونی بودن ساختار پلیمر مربوط دانست (۲۵).

تغییر در سایر اجزاء فرمولاسیون (به جز عامل ژل ساز) با هدف تهیه فرآورده هایی مطلوب از نظر ظاهری، پایداری و متناسب با موضع مورد استفاده صورت گرفت. به طور مثال مقادیر مؤثری از مواد محافظ (۲/۰ درصد متیل پارابن و ۰/۰۵ درصد پروپیل پارابن) و شلات کننده (۰/۰۵ درصد دی سدیم اتات) به منظور پایداری فرآورده ها در طول مطالعات پایداری و تعیین عمر قفسه ای استفاده شد (۵،۱۶). از آنجایی که موضع مورد استفاده بافت مخاطی آسیب دیده است، از حداقل مقادیر پروپیلن گلیکول (۲۰-۵ درصد) به عنوان افزایش دهنده جذب استفاده شد (۲۴). تغییر در مقدار (درصد) پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ نیز برای بهبود خاصیت پخش شوندگی فرآورده ها و به تأخیر انداختن تشکیل فیلم (به خصوص در مورد ژل های HPMC) صورت گرفت (۲۰). با توجه به نتایج حاصل از مطالعات پایداری (عدم تغییر pH، محتوای ماده مؤثره، رفتار رئولوژیک و خصوصیات ظاهری فرآورده ها) و تطابق آن با منابع می توان عمر قفسه ای حدود ۲ سال را برای فرآورده ها پیشنهاد کرد (۷،۱۹).

با توجه به ضرایب همبستگی مربوط به هر یک از معادلات درجه صفر، درجه یک و هیگوجی و مقایسه آنها از لحاظ آماری (توسط تست آماری ANOVA یک طرفه) مشخص شد که آزادسازی همه فرمولاسیون های منتخب در هر دو روش بررسی (غشاء سنتتیک و پوست رت) از معادله هیگوجی پیروی می کنند. این یافته ها مطابق با خطوط راهنمای FDA می باشد (۱۱). بنابراین می توان

قابل قبول (۱۰±۱۰۰ درصد) قرار داشت. همچنین فرآورده های منتخب در طول سه ماه نگهداری در دمای ۲±۴۰ درجه سانتی گراد از لحاظ کیفیت ظاهری، محتوی دارویی و pH تغییر چندانی از خود نشان ندادند (جدول ۵). رفتار رئولوژیک فرآورده ها در طول این زمان هم چنان شبه پلاستیک و بدون تیکسوتروپی بود ( نمودار ۴).

## بحث

در دهه های اخیر هیدروژل های حاصل از پلیمرهای طبیعی (مانند کنیرا)، پلیمرهای نیمه صنعتی (مانند مشتقات سلولز) و یا صنعتی (مانند کربومر) به عنوان حاملی مناسب در صنایع داروسازی مورد استفاده قرار گرفته اند. این پایه ها دارای خصوصیات چون ویسکوزیته مناسب، چسبندگی (به مخاط یا پوست) مطلوب و عدم ایجاد تحریک و یا حساسیت در موضع مورد استفاده هستند (۲۲). دپلیتازم به صورت نمک هیدروکلراید با  $pK_a=5/5$  یک ترکیب اسیدی و محلول در آب است که با در نظر داشتن این خصوصیات هدف اولیه مطالعه یافتن پایه مناسبی برای دارو بود.

هیدروکسی پروپیل متیل سلولز، مشتق سلولزی است که در تهیه فرآورده موضعی دپلیتازم مورد استفاده قرار گرفت. افزودن ماده مؤثره به این پایه عملاً تداخل و ناسازگاری به دنبال نداشت که با توجه به خصوصیات فیزیکیوشیمیایی این پلیمر، از جمله غیر یونی بودن ساختار آن و پایداری در محدوده وسیعی از pH، چنین نتیجه ای را می توان انتظار داشت. در ساختار این پلیمر عملاً گروه هایی جهت واکنش و جانشینی با کاتیون ها و الکترولیت های احتمالی (موجود در محیط انحلال) وجود ندارد (۲۵).

کنیرا نیز یک پلیمر طبیعی است که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. افزودن دارو به این پایه در غلظت های مختلف ماده ژل ساز و همراه با سایر اجزاء فرمولاسیون تغییری در ساختار ژل به وجود نیاورد. اگر چه

دارای بیشترین و ژل گوار دارای کمترین مقادیر MDT و T50 می‌باشد (جدول ۴). در بررسی آزادسازی دارو از فرمولاسیون‌های ۱ و ۱/۵ درصد HPMC در دو روش غشاء سنتتیک و پوست رت، میزان آزادسازی پس از ۵ ساعت از پایه ۱ درصد HPMC به ترتیب ۸۹/۷۱ درصد و ۵۲/۶۶ درصد و از پایه ۱/۵ درصد HPMC به ترتیب ۷۶/۷۵ درصد و ۵۰/۹۱ درصد می‌باشد. از آن جایی که تمام اجزاء این دو فرمولاسیون به جز درصد ماده ژل‌ساز یکسان می‌باشند می‌توان گفت که مقدار داروی آزاد شده از پایه وابسته به غلظت پلیمر موجود در آن بوده به طوری که با افزایش غلظت پلیمر به علت به دام افتادن دارو در آن و عدم خروج سریع و آسان دارو از شبکه پلیمری، مقدار داروی آزاد شده کاهش می‌یابد. این تفاوت در دو پایه ۱/۵ و ۲ درصد ژل (HPMC CPS 50) مورد استفاده برای تهیه ژل کلرفنیرآمین نیز مشاهده شده است (۳).

نکته مورد توجه در این مطالعه و سایر مطالعات مشابه که از فرآورده‌های نیمه جامد به عنوان یک سیستم دارورسانی استفاده شده است، این است که در هیچ یک از مطالعات *In-vitro* هدف رسیدن به درصد آزادسازی مشخص شده (همانند آنچه برای اشکال دارویی جامد خوراکی در فارماکوپه‌ها مشاهده می‌شود) نیست بلکه ابتدا هدف یافتن پایه‌ای مناسب برای حمل دارو و متناسب با موضع مورد استفاده است و سپس بهینه کردن فرآورده از لحاظ خصوصیات فیزیکیوشیمیایی و پایداری است. بدیهی است که بررسی دقیق اثر بخشی و مورد پذیرش بودن یک فرمولاسیون مستلزم انجام مطالعات بالینی می‌باشد که مورد نظر محققین برای انجام مطالعات بعدی می‌باشد.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که پشتیبانی و امکانات مالی اجرای طرح را فراهم نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

نتیجه گرفت که اولاً کیتیک آزادسازی دارو مستقل از نوع پایه فرآورده نیمه جامد است (کرم، پماد، ژل) و ثانیاً با توجه به همین مطالعه و سایر مطالعاتی که توسط انواع مختلف پلی‌مرهای ژل ساز صورت گرفته، کیتیک آزادسازی مستقل از نوع پلیمر به کار رفته است (۴، ۲۱، ۲۲، ۲۳). در مقایسه میزان داروی آزاد شده از پایه (صرف نظر از نوع پایه) مشخص شد که درصد آزادسازی از غشاء سنتتیک (در تمام پایه‌ها) از درصد عبور دارو از پوست رت بیشتر بوده است ( $P < 0.05$ ). این تفاوت معنی‌دار مربوط به پیچیدگی ترکیب پوست و مقاومت آن نسبت به نفوذ مولکول‌های دارو می‌باشد. در مطالعه‌ای که روی کلرفنیرآمین مالئات در پایه ژل هیدروکسی پروپیل متیل سلولز صورت گرفته چنین تفاوتی مشاهده می‌شود به طوری که آزادسازی دارو از پایه توسط غشاء سنتتیک ۷/۲۱ درصد و عبور آن از پوست رت ۱/۲۶ درصد بود ( $P < 0.05$ ) (۳). همچنین در مطالعه دیگری که طی آن آزادسازی و نفوذ ترتینوئین از فرآورده‌های تجاری ژل و کرم دارو توسط غشاء سنتتیک و پوست رت مورد بررسی قرار گرفت، این اختلاف معنی‌دار (در هر دو روش غشاء سنتتیک و پوست رت) مشاهده گردید؛ به طوری که میزان داروی آزاد شده در پایان آزمایش معادل ۳۱/۳ درصد برای غشاء سنتتیک و ۱۴/۲۸ درصد برای پوست رت بود (۲). در مطالعه حاضر، بررسی آزادسازی دارو از پایه‌های مختلف پس از گذشت ۵ ساعت نشان داد، بیشترین آزادسازی از ژل گوار به میزان ۹۴/۹ درصد (توسط غشاء سنتتیک) و ۶۴/۶۵ درصد (توسط پوست رت) و کمترین میزان از ژل کتیرا به میزان ۶۶/۱۱ درصد (توسط غشاء سنتتیک) و ۴۲/۶۴ درصد (توسط پوست رت) بوده است. محاسبه مقادیر MDT و T50 که بیان‌کننده الگوی انحلال دارو در زمان مشخص هستند نشان داد که هر دو پارامتر در همه پایه‌ها دارای اختلاف آماری بودند ( $P < 0.05$ ). بر اساس داده‌های حاصل از عبور دارو از پوست رت، ژل کتیرا

## Summary

### Preparation of Diltiazem Topical Gel for the Treatment of Anal Fissure and *In-vitro*, *Ex-vivo* Drug Release Evaluations

Tavakoli N., Ph.D<sup>1</sup>., Minaïyan M., Ph.D.<sup>2</sup>, Saghaei E., Pharm D.<sup>3</sup>

1. Associate Professor of Pharmaceutics, Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. 2. Associate Professor of Pharmacology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. 3. Ph.D Student of Toxicology, School of Pharmacy, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Introduction:** Anal fissures are small tears in the lining skin of the anus presenting with typical symptoms of pain and bleeding during defecation. Several new forms of medicines such as glyceryl trinitrate (GTN) ointments and diltiazem, a calcium channel-blocking agent, have been recently used for the treatment of these fissures. Diltiazem relaxes the muscle of anal sphincter and consequently increases blood flow to promote healing. It does not have GTN side effects like headache, anal burning and hypotension. The objective of this study was to formulate a suitable topical gel from diltiazem and then to investigate its physicochemical stability and also the drug release profiles from the bases.

**Methods:** Various formulations of gel base including Guar 1.25%, Tragacanth 1.5%, HPMC 1%, and HPMC 1.5% were prepared and *in vitro* release and penetration characteristics of diltiazem from each preparation were studied through a hydrophilic dora pore diffusion barrier and membrane excised rat skin using Franz cell over a period of 5 hours. The amount of drug released from topical preparations was determined spectrophotometrically at  $\lambda_{max}=236$  nm. Stability studies and shelf life assessments were performed too.

**Results:** Gel formulations containing HPMC, Guar and Tragacanth presented both good chemical and physical stabilities. The rates of cumulative drug release from HPMC 1%, HPMC 1.5%, Guar 1.25% and Tragacanth 1.5% bases using synthetic membrane were 89.7%, 76.7%, 94.9% and 66.1% respectively. For excised rat skin test, the cumulative percent of penetrated drug at the end of each experiment were 52.7 %, 50.9%, 64.6% and 42.6% for HPMC 1%, HPMC 1.5%, Guar 1.25% and Tragacanth 1.5% bases respectively.

**Conclusion:** The comparative study showed that the percent of drug release from synthetic membrane was more than the percent of penetrated drug through excised rat skin for all bases ( $P<0.05$ ). It was concluded that the kinetics of diltiazem release *in vitro* was not affected by the kind of gel forming agent and for all of the formulations, Higuchi's kinetic model was suitable to explain their kinetics.

**Key words:** Diltiazem, Topical gel, Anal fissure

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2007; 14(3): 163-175*

## منابع

- ۱- توکلی، ناصر؛ مینائیان، محسن و لاوی، رویا: فرمولاسیون فرآورده موضعی دوکسپین مؤثر در درمان آگزمای اتوپیک و ارزیابی جذب پوستی دارو در پوست جدا شده موش صحرائی. مجله ارمغان دانش، ۱۳۸۳، سال نهم، شماره سی پنجم، ص ۱۰-۱.
- ۲- ملاذ، الهه؛ توکلی، ناصر و ابراهیمی، رضا: ارزیابی فیزیکیوشیمیایی، مطالعه پایداری و آزادسازی دارو از فرآورده‌های موضعی ترینیوئین. مجله پزشکی هرمزگان، ۱۳۸۳، سال هشتم، شماره چهارم، ص ۱۹۹-۲۰۷.
3. Babar A, Bhandari RD, Plakogiannis FM. *In vitro* release studies of chlorpheniramine maleate from topical bases using cellulose membrane and hairless mouse skin. *Drug Dev Ind Pharm* 1991; 17: 1027-40.
4. Babar A, Solanki UD, Cutie AJ, Plakogiannis F. Piroxicam release from dermatological bases: *In vitro* studies using cellulose membrane and hairless mouse skin. *Drug Dev Ind Pharm* 1990; 16: 523-540.
5. Betageri G, Sunil P: Semisolid preparations. In: Swarbrick J, Boylan JC (Eds). *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. 2<sup>nd</sup> ed., London, Marcel Dekker, 2002; pp2436-8.
6. Bielecki K, Kolodziejczak M. A prospective randomized trial of diltiazem and glyceryl trinitrate ointment in the treatment of chronic anal fissure. *Colorectal Dis* 2003; 5(3): 256-7.
7. Board N: *Modern Technology of Cosmetics*. India, Asia Pacific Business Press Inc, 2003; pp52, 82-90.
8. Brisinda G, Maria G, Bentivoglio AR, Cassetta E, Gui D, Albanese A. A comparison of injections of botulinum toxin and topical nitroglycerin ointment for the treatment of chronic anal fissure. *N Engl J Med* 1999; 341(2): 65-9.
9. Carapeti EA, Kamm MA, Phillips RK. Topical diltiazem and bethanechol decrease anal sphincter pressure and heal anal fissures without side effects. *Dis Colon Rectum* 2000; 43(10): 1359-62.
10. Castillo ED, Margolin DA. Anal fissures: Diagnosis and management. *Techniques in Gastrointestinal Endoscopy* 2004; 6 (1): 12-16.
11. Flynn GL, Shah VP, Tenjarla SN, Corbo M, DeMagistris D, Feldmon TG , *et al.* Assessment of value and applications of *in vitro* testing of topical dermatological drug products. *Pharm Res* 1999; 16 (9): 1325-30.
12. Isselbacher KJ, Epstein A. Diverticular, vascular and other disorders of the intestine and peritoneum. In: Braunwald E, Fauci A.S., Kasper D.L, Hauser S.L. (Eds) *Harrison's principles of internal medicine*. 15<sup>th</sup> ed., New York, McGraw-Hill, 2001; pp 1700-1.
13. Jonas M, Neal KR, Abercrombie JF, Scholefield JH. A randomized trial of oral vs. topical diltiazem for chronic anal fissures. *Dis Colon Rectum* 2001; 44(8): 1074-8.
14. McLead RS, Evans J. Symptomatic care and nitroglycerin in the management of anal fissure. *J Gastro intest Surg* 2002; 6(3): 278-80.
15. Nelson RL. A review of operative procedures for anal fissure. *J Gastro intest Surg* 2002; 6(3): 284-9.
16. Owen SC: Edetic Acid. In: Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ (Eds). *Hand book of pharmaceutical excipients*. 4<sup>th</sup> ed., London, Pharmaceutical Press, 2003; pp 225-8.
17. Phillips R. Pharmacologic treatment of anal fissure with Botoxin, diltiazem or Bethanechol. *J Gastrointest Surg* 2002; 6(3): 281-3.
18. Pitt J, Craggs MM, Henry MM, Boulos PB. Alpha-1 adrenoreceptor blocker: potential new treatment for anal fissures. *Dis Colon Rectum* 2000; 43(6): 800-3.
19. Poucher WA: *Phoucher's perfumes, cosmetics and soaps*. 9<sup>th</sup> ed., Vol. 3, London, Chapman & Hall, 1993; pp 446-52, 620, 628.

20. Price JC: Polyethylenglycol. In: Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ (Eds). Hand book of pharmaceutical excipients. 4<sup>th</sup> ed., London, Pharmaceutical Press, 2003; pp 392-8.
21. Rebelo ML, Pina ME. Release kinetics of tretinoin from dermatological formulations. *Drug Dev Ind Pharm* 1997; 23(7): 727-730.
22. Realdon N, Ragazzi E, DalZotto M, Dalla Fini G. Possibilities of conveying a cationic drug in carbomer hydrogels. *Drug Dev Ind Pharm* 1998; 24(4): 337-43.
23. Tas C, Ozkan Y, Savaser A, Baykara T. *In vitro* release studies of chlorpheniramine maleate from gels prepared by different cellulose derivatives. *Farmaco* 2003; 58(8): 605-11.
24. Waller PJ: Propylenglycol. In: Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ (Eds). Handbook of pharmaceutical excipients. 4th ed. London, Pharmaceutical Press, 2003; pp 442-4.
25. Zatz JL, Berry JJ, Alderman DA: Viscosity-Imparting agents in disperse systems. In: Lieberman HA, Rieger MM, Banker GS (Eds). Pharmaceutical dosage forms: Disperse systems. 2<sup>nd</sup> ed., New York, Marcel Dekker, 1996; pp287-313.





## ارتباط غلظت مس، روی و مارگرهای رادیکال‌های آزاد در کارگران شاغل در صنایع مس

دکتر احمد غلامحسینیان<sup>۱\*</sup>، دکتر غلامعباس محمدی<sup>۱</sup>، مهدیه نظری<sup>۲</sup>، دکتر محمود یگانه<sup>۳</sup>، دکتر حامد زحمتکش<sup>۴</sup> و مسعود ترک‌زاده<sup>۴</sup>

### خلاصه

مقدمه: مس و روی نقش مهمی در واکنش‌های اکسیداتیو ایفا می‌کنند و مطالعات *in vivo* اثرات متفاوت این عناصر را نشان داده است. در این مطالعه تأثیر مواجهه با مس و روی بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیس میوتاز (SOD) و تولید مالون دی‌آلدهید (MDA) اریتروسیستی و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم (TAS) مورد بررسی قرار گرفته است.

روش: در این تحقیق ۷۰ نفر از کارکنان مرد مجتمع مس و ۷۰ نفر فرد سالم در محدوده سنی ۳۵-۵۵ سال مورد مطالعه قرار گرفتند. غلظت مس و روی به روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی و فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD اریتروسیستی و آنتی‌اکسیدان کل به روش رنگ سنجی اندازه‌گیری شد. با استفاده از واکنش اسیدتیوباریتوریک غلظت مالون‌دی‌آلدهید به دست آمد.

یافته‌ها: غلظت مس و روی در سرم کارگران به ترتیب  $113/8 \pm 2/2$  و  $148/3 \pm 3/2$  میکروگرم در دسی‌لیتر بود که در مقایسه با مقادیر آنها در گروه شاهد (به ترتیب  $104/5 \pm 1/5$  و  $107/7 \pm 2$  میکروگرم در دسی‌لیتر) بالاتر بود ( $P < 0/001$ ). فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD اریتروسیستی کارگران به ترتیب برابر  $7621/7 \pm 199/3$  U/gHb و  $1421/7 \pm 111/1$  بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). میزان TAS در گروه آزمون به طور معنی‌داری از افراد شاهد بیشتر بود ( $1/6 \pm 0/03$  در مقابل  $1/4 \pm 0/01$  میلی‌مول در لیتر،  $P < 0/001$ ). همچنین مقدار MDA گروه مورد برابر  $245/8 \pm 3/7$  nmol/gHb بود که از میزان آن در گروه شاهد با  $205 \pm 3/2$  nmol/gHb به طور معنی‌داری بالاتر بود. ارتباط معنی‌داری بین غلظت مس و روی با سایر فاکتورهای مورد مطالعه مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: در این تحقیق مشخص شد که استرس اکسیداتیو در کارگرانی که در معرض تماس با مس و روی بودند افزایش یافته که برای مقابله با آن دفاع اکسیدان نیز افزایش یافته است.

واژه‌های کلیدی: مس، روی، کارگران، مالون‌دی‌آلدهید، کاتالاز، سوپراکسید دیس میوتاز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام

۱- دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان ۳- کارشناس اداره بهداشت کار، مجتمع مس سرچشمه کرمان ۴- کارشناس مرکز بین‌المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی ماهان

\* نویسنده مسؤول، آدرس: گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان • آدرس پست الکترونیک: agnajar@yahoo.com

دریافت مقاله: ۸۵/۱۰/۲۸ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۶/۲/۳۰ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۳/۹

## مقدمه

فلزات به دلیل دارا بودن ویژگی‌های ساختمانی و کوآنزیمی نقش مهمی در فرایندهای زیستی ایفا می‌کنند. مس و روی از جمله مهم‌ترین فلزات واسطه‌اند که برای حفظ هموستاز سلولی ضروری می‌باشند به طوری که مقادیر بسیار زیاد یا کم آنها می‌تواند سبب ایجاد عوارض پاتولوژیک شود. روی در متابولیسم سلولی بی‌همتا است زیرا جزء اصلی جایگاه کاتالیزوری حداقل یک آنزیم در هر طبقه‌بندی آنزیم است (۷،۱۲).

مس نیز یکی از اجزاء مهم چندین پروتئین داخل و خارج سلولی همچون سیتوکروم اکسیداز، سوپراکسید دیس میوتاز و سرولوپلاسمین است که نقش مهمی در رشد، تکامل و بقاء ایفا می‌کنند (۲۵). نقش روی به عنوان جزئی از سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به صورت *in vivo* و *in vitro* مطالعه شده است. گزارش شده که کمبود آن منجر به آسیب اکسیداتیو به اجزاء سلولی و بروز تغییراتی در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود (۱۳،۲۴). به نظر می‌رسد که روی (Zn) عمل آنتی‌اکسیدانی خود را از طریق اتصال به محل‌هایی در لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA که محل قرار گرفتن آهن و مس است انجام می‌دهد (۲،۱۴). بررسی‌های *in vitro* نشان داده‌اند که مس توانایی تولید گونه‌های فعال اکسیژن را از طریق واکنش فنتون دارد که نتیجه آن، واکنش گونه‌های فعال اکسیژن با بیومولکول‌هایی چون لیپیدها و تشکیل رادیکال‌های پراکسی لیپید است (۹). پراکسیداسیون لیپیدهای LDL می‌تواند آتروژنز را با افزایش تبدیل ماکروفاژها به سلول‌های کف مانند (foam cells) تسریع کند (۶). مطالعه Sokol و همکاران بر روی موش‌هایی که از رژیم غذایی غنی از مس تغذیه می‌کردند نشان داد که مقدار مالون‌دی‌آلدهید، یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی، در آنها افزایش یافته است (۲۲) در حالی که Santamaria و همکاران نشان دادند که دوزهای کم نمک سولفات مس (۵mg/kg) با اثر آنتی‌اکسیدانی خود آسیب‌های نورو توتوکسیک اسید کوئینولینیک (quinolinic acid) را در موش کاهش می‌دهد (۲۰).

با توجه به اثر اکسیداتیو مس در غلظت‌های بالا و اثر آنتی‌اکسیدانی آن که در بعضی مطالعات دیده شده است و همراهی آن با فلز روی (۲،۱۴) این سؤال مطرح می‌شود که وضعیت اکسیداتیو افرادی که به علت شرایط شغلی در تماس مزمن با فلز مس هستند (۲،۱۴) چگونه است؟ از آنجا که هیچ نوع مطالعه *in vivo* در مورد اثر مس بر مارکرهاي آنتی‌اکسیدان در چنین افرادی گزارش نشده است، این مطالعه بر روی کارگران مجتمع مس سرچشمه کرمان انجام شد تا اثر مورد نظر بررسی شود.

## روش بررسی

در این مطالعه ۱۴۰ مرد ۳۵ تا ۵۵ ساله مورد مطالعه قرار گرفتند. این افراد به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل ۷۰ نفر از کارکنان مجتمع مس سرچشمه کرمان بودند که در معرض مس قرار داشتند. گروه شاهد نیز شامل ۷۰ مرد از ساکنان شهر کرمان بودند. افراد مورد مطالعه در دو گروه، در یک محدوده سنی قرار داشتند. فشارخون و قندخون ناشتای افراد اندازه گرفته شد که هیچ‌یک سابقه فشارخون بالا و دیابت نداشتند (فشارخون کمتر یا مساوی ۱۴۰mmHg و قندخون ناشتا کمتر از ۱۱۰mg/dl) (۱۱).

برای اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر حدود ۵ سی‌سی خون از افراد در وضعیت ناشتا گرفته شد. حدود ۲ سی‌سی خون در لوله حاوی EDTA ریخته و بلافاصله غلظت هموگلوبین خون به وسیله دستگاه Sysmex اندازه گرفته شد. سپس نمونه سانتریفیوژ گردید و پلاسما و Buffy coat جداسازی شدند. از گلبول‌های قرمز پس از شستشو با بفر فسفات سالین جهت تهیه همولیزانت با آب استفاده گردید. از بقیه خون هم برای تهیه سرم استفاده شد. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه در دمای ۷۰°C- نگهداری شدند (۲۳).

مقدار مس (Cu) و روی (Zn) در پلاسما به روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی اندازه گرفته شد. در این مطالعه از دستگاه جذب اتمی Varian مدل AA220 استفاده شد. نمونه‌های پلاسما با آب مقطر رقیق شدند و از

## نتایج

افراد مورد مطالعه در دو گروه شاهد و مورد از نظر سن و مقدار نخ سیگار مصرفی جور شده بودند و محاسبات آماری نیز نشان داد که بین این پارامترها در دو گروه اختلاف معنی داری وجود نداشت ( $P > 0/05$ ).

بررسی غلظت فلزات مس و روی در گروه مورد و مقایسه آن با گروه شاهد نشان داد که میانگین غلظت مس و روی در گروه مورد (به ترتیب  $113/8 \pm 2/2 \mu\text{g/L}$  و  $148/3 \pm 3/2 \mu\text{g/L}$ ) بیش از گروه شاهد (به ترتیب  $104/5 \pm 1/5 \mu\text{g/L}$  و  $107/7 \pm 2/0 \mu\text{g/L}$ ) است و این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود ( $P < 0/001$ ).

فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT اریتروسیتهی در گروه مورد به ترتیب  $1498/5 \pm 12/3 \text{U/gHb}$  و  $7621/7 \pm 199/3 \text{U/gHb}$  و در گروه شاهد به ترتیب  $1421/7 \pm 11/1 \text{U/gHb}$  و  $7049/1 \pm 157/4 \text{U/gHb}$  بود که در مورد SOD افزایش معنی دار بود ( $P < 0/001$  و  $P = 0/026$ ). میانگین غلظت آنتی‌اکسیدان کل در سرم گروه مورد  $1/6 \pm 0/03 \text{mmol/L}$  بود که نسبت به گروه شاهد  $1/4 \pm 0/01 \text{mmol/L}$  بیشتر و اختلاف آنها از نظر آماری معنی دار بود ( $P < 0/05$ ). بررسی غلظت مالون‌دی‌آلدهید نشان داد که میانگین غلظت آن در گروه مورد  $245/8 \pm 3/7 \text{nmol/g Hb}$  (بیش از گروه شاهد  $205 \pm 3/2 \text{nmol/g Hb}$ ) است ( $P < 0/001$ ) (جدول ۱).

نمک‌های سولفات مس و روی نیز برای تهیه استانداردها استفاده گردید (۲۱). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در اریتروسیته‌ها به روش رنگ‌سنجی آنزیمی و با استفاده از کیت Randox اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) اریتروسیتهی نیز به روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از کروموژن Purpald اندازه گرفته شد (۸). از مالون‌دی‌آلدهید (MDA) به عنوان یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی، برای بررسی شدت پراکسیداسیون استفاده شد و مقدار آن در اریتروسیته‌ها به روش اسپکتروفتومتری و به کمک تیوباریتوریک اسید اندازه‌گیری شد (۱۰). مقادیر مربوط به فعالیت SOD، CAT و MDA نسبت به غلظت هموگلوبین گزارش شدند. غلظت آنتی‌اکسیدان کل (TAS) با استفاده از کیت (Randox) TAS اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. به منظور مقایسه داده‌ها با توزیع نرمال در دو گروه از student t-test و برای بررسی برابری واریانس‌ها از Leven's test استفاده شد. بررسی ارتباط بین غلظت فلزات مس و روی با سایر فاکتورهای اندازه‌گیری شده به کمک Pearson's linear correlation test صورت گرفت. نتایج به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  گزارش گردیدند و اختلاف در حد  $P \leq 0/05$  از نظر آماری معنی دار منظور گردید.

جدول ۱. نتایج حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای مختلف در دو گروه مورد و شاهد

P	شاهد Mean (SEM)	مورد Mean (SEM)	گروه پارامتر
0/001	104/5 (1/5)	113/8 (2/2)	Cu( $\mu\text{g/L}$ )
<0/001	107/7 (2/0)	148/3 (3/2)	Zn( $\mu\text{g/L}$ )
<0/001	1421/7 (11/1)	1498/5 (12/3)	SOD(U/gHb)
0/026	7049/1 (157/4)	7621/7 (199/3)	CAT(U/gHb)
<0/001	1/4 (0/01)	1/6 (0/03)	TAS(mmol/L)
<0/001	205 (3/2)	245/8 (3/7)	MDA (nmol/gHb)

فلز اکسیداسیون LDL را تسریع می‌کند (۳). همچنین در یک مطالعه حیوانی که از مقادیر زیاد مس در رژیم غذایی استفاده شد افزایش MDA و محصولات پراکسیداسیون لیپیدی مشاهده گردید (۱۹).

در مطالعه حاضر مشخص شد که مقدار مس در گروه مورد با وجودی که در محدوده مقادیر طبیعی قرار دارد به‌طور معنی‌داری بیش از گروه شاهد است در حالی که مقدار فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT، غلظت TAS و نیز مقدار MDA افزایش نشان داد. افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدهید در این گروه نشان دهنده بالا بودن سطح استرس اکسیداتیو نسبت به گروه شاهد است که می‌تواند به اثر اکسیداتیو مس مربوط باشد. اما افزایش سطح آنتی‌اکسیدانی ممکن است به علت القاء فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان در اثر افزایش استرس اکسیداتیو رخ داده باشد. غلظت روی در گروه مورد هم بیشتر از گروه شاهد بود. اثر آنتی‌اکسیدانی روی در مطالعات زیادی مشاهده شده است. بررسی اثر روی در پراکسیداسیون لیپیدی غشاء نشان داده که روی مانع اتصال فلزاتی چون آهن و مس به سطح غشاء و آغاز اکسیداسیون آن می‌شود (۲۷). در بررسی دیگری که با استفاده از مکمل‌های حاوی روی انجام شده مشخص شد که میزان محصولات پراکسیداسیون لیپیدی و سیتوکین‌های التهابی کاهش یافته است (۱۶). در حالی که استفاده از مکمل‌های حاوی هر دو فلز مس و روی سبب افزایش فعالیت آنزیم SOD در کبد و قلب موش گردید که این مسأله به افزایش تجمع آنها در این دو بافت ارتباط داده شد که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۴). افزایش فعالیت آنزیم SOD در مطالعه حاضر هم می‌تواند به علت افزایش سطح مس و روی به صورت مزمن رخ داده باشد. گرچه هیچ ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد.

به‌طور کلی، در مطالعه حاضر مشخص شد که در گروه مورد یعنی کارکنانی که در تماس با مس هستند هر چند میزان مس و روی در سرم کارگران در محدوده طبیعی است ولی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته است که این یافته با سنجش مقدار آنزیم‌ها تأیید شد. ولی افزایش فعالیت

بررسی آماری با استفاده از ارتباط خطی پیرسون (pearson's linear correlation) برای بررسی ارتباط بین غلظت فلزات و سایر فاکتورها نشان داد که هیچ نوع رابطه معنی‌داری بین آنها وجود ندارد ( $P > 0/05$ ). از سوی دیگر بررسی ارتباط سایر متغیرها نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین آنتی‌اکسیدان کل و آنزیم SOD در گروه مورد وجود دارد ( $r = 0/6, P < 0/05$ ).

## بحث

مواد معدنی برای رشد و نمو و سلامت انسان از اهمیت زیادی برخوردارند و در تعداد زیادی از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بدن دخالت دارند. امروزه مشخص شده که درگیر کردن فلزات با چیلاتورهای اسیدآمینهای و پپتیدی به خصوص فلزاتی مثل مس و روی دسترسی حیاتی آنها را برای سلول بیشتر می‌کند (۱،۲۶). مس و روی کوفاکتور آنزیم‌های بسیاری هستند که از آن میان می‌توان به یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیس‌میوتاز (SOD) اشاره کرد. هرچند این عناصر به مقدار کم در غذا ضروری هستند ولی مقادیر زیاد آنها می‌تواند مسمومیت ایجاد کند. در صورت عدم کنترل دقیق مقدار آنها، این خطر وجود دارد که واکنش‌های ناخواسته رادیکال‌های آزاد صورت گیرد. برخلاف اثر فوق روی و مس فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند. در مورد روی این اثر از طریق سنتز متالوتیونین و نیز بازداری پراکسیداسیون چربی‌های وابسته به NADPH و جلوگیری از کاهش گلوکوتایون انجام می‌پذیرد (۵،۱۵). نشان داده شده که کمپلکس‌های مس - اسیدآمین می‌تواند از رهاسازی آهن از فریتین ممانعت کند که این پدیده نقش آنتی‌اکسیدانی مس را به اثبات می‌رساند (۱۷).

در مطالعه انجام شده بر روی تعدادی از افراد میانسال (۷۰-۵۰ ساله) مشخص شد که استفاده از مکمل‌های حاوی مس (Ymg/dl) نه تنها اثر پراکسیدانی ندارد بلکه گلبول‌های قرمز خون را نیز در برابر اکسیداسیون محافظت می‌کند (۱۸). از طرف دیگر بررسی اثر مس بر پراکسیداسیون لیپیدی به صورت *in vitro* نشان داد که این

### سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشگاه علوم پزشکی کرمان و مرکز تحقیقات مجتمع صنایع مس سرچشمه کرمان که هزینه انجام این مطالعه را مشترکاً عهده‌دار بوده‌اند سپاسگزاری می‌کنیم. از مرکز بین‌المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی ماهان که در انجام آزمایشات عناصر کمیاب ما را یاری داده‌اند قدردانی می‌کنیم.

سیستم آنتی‌اکسیدان در این گروه نشانه تحریک این سیستم برای مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو در مقایسه با گروه شاهد بود که می‌تواند خنثی‌کننده استرس اکسیداتیو و حافظ سلامت کارکنان باشد. با توجه به بالا بودن سطح استرس اکسیداتیو در کارکنان، به نظر می‌رسد که استفاده از مکمل‌های غذایی آنتی‌اکسیدان مانند ویتامین‌های E و C در کاهش اثرات اکسیداتیو مفید باشد.

### Summary

#### The Relationship between Copper & Zinc Concentration and Free Radical Markers in Copper Industry Workers

Gholamhoseinian A., Ph.D.<sup>1</sup>, Mohammadi Gh., Ph.D.<sup>1</sup>, Nazary M., B.Sc.<sup>2</sup>, Yeganeh M., M.D.<sup>3</sup>, Zahmatkesh H., M.D.<sup>3</sup>, Torkzadeh M., M.Sc.<sup>4</sup>

1. Associate Professor of Biochemistry, School of Medicine and Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences Kerman, Iran 2. M.Sc. Student of Biochemistry, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran 3. Expert, Occupational Health Office, Sarcheshmeh Copper Industry, Sarcheshmeh, Iran 4. Expert, Mahan International Center for Science & high Technology, and Environmental Sciences, Kerman, Iran

**Introduction:** Copper and zinc play a key role in oxidative reactions and *in vivo* studies have shown their different effects. In this study we examined the influence of exposure to copper and zinc on catalase and superoxide dismutase (SOD) activities in erythrocytes, total serum antioxidant capacity and malondialdehyde (MDA) production of copper industry workers.

**Methods:** In the present study, 70 workers in a Copper Industry and 70 healthy controls with the age range of 35-55 years were studied. The catalase assay and SOD activity in RBC lysate and total antioxidant were measured by spectrophotometric methods. Using thiobarbitoric acid reaction, MDA concentration was determined.

**Results:** The results showed a higher copper and zinc concentration in serum of worker group ( $113.8 \pm 2.2$  &  $148.3 \pm 3.2 \mu\text{g/L}$  respectively,  $P < 0.001$ ) in comparison with the control group ( $104.5 \pm 1.5$  &  $107.7 \pm 2 \mu\text{g/L}$  respectively). Serum catalase and SOD activities in RBC were higher in workers ( $7621.7 \pm 199.3$  &  $1489.5 \pm 12.3 \mu\text{l}$ ) than in the control group ( $7049.1 \pm 157.4$  &  $1421.7 \pm 11.1 \mu\text{l}$  respectively,  $P < 0.05$ , for SOD only). Serum total antioxidant was significantly higher in workers than controls ( $1.6 \pm 0.03$  vs.  $1.4 \pm 0.01$ ) and it was the same for MDA concentration ( $245.5 \pm 3.7 \text{nmol/gHb}$  in the worker group compared to  $205 \pm 3.2 \text{nmol/gHb}$  in the control group). No correlation were found between copper and zinc concentrations and the other factors ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** These results suggest that occupational exposure to copper and zinc induces oxidative stress followed by anti oxidative defense system

**Key words:** Copper, Zinc, Copper Workers, Malondialdehyde, Catalase, Super oxide dismutase, Total antioxidant capacity

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2007; 14(3): 177-183*

## References

- Baker DH, Ammerman CB. Copper bioavailability. In: Bioavailability of nutrients for animals. San Diego, Academic Press, 1995.
- Bray TM, Bettger WJ. The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radic Biol Med* 1990; 8(3): 281-91.
- Burkitt MJ. A critical overview of the chemistry of copper-dependent low density lipoprotein oxidation: Roles of lipid hydroperoxides, alpha-tocopherol, thiols and ceruloplasmin. *Arch Biochem Biophys* 2001; 394(1): 117-35.
- Buzadzic B, Korac B, Lazic T, Obradovic D. Effect of supplementation with Cu and Zn on antioxidant enzyme activity in the rat tissues. *Food Res Inter* 2002; 35: 217-20.
- Gibbs PN, Gore MG, Jordan PM. Investigation of the effect of metal ions on the reactivity of thiol groups in human 5-aminolaevulinate dehydratase. *Biochem J* 1985; 225(3): 573-80.
- Haidari M, Javadi E, Kadkhodae M, Sanati A. Enhanced susceptibility to oxidation and diminished vitamin E content of LDL from patients with stable coronary artery disease. *Clin Chem* 2001; 47(7): 1234-40.
- Hambidge M. Human zinc deficiency. *J Nutr* 2000; 130(5S suppl): 1344S-9S.
- Johansson LH, Hakan Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Anal Biochem* 1998; 174: 331-6.
- Linder MC, Hazegh-Azam M. Copper biochemistry and molecular biology. *Am J Clin Nutr* 1996; 63(5): 797S-811S.
- Lykkesfeldt J. Determination of malondialdehyde as dithiobarbituric acid adduct in biological samples by HPLC with fluorescence detection: comparison with ultraviolet visible spectrophotometry. *Clin Chem* 2001; 47(9): 1725-7.
- Maxwell SR. Coronary artery disease-Free radical damage, antioxidant protection and the role of homocysteine. *Basic Res Cardiol* 2000; 95(suppl 1): 165-71.
- McCall KA, Huang CA, Fierke C. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. *J Nutr* 2000; 130(5S suppl) : 1437S-46S.
- Oteiza PI, Olin KL, Fraga CG, Keen CL. Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *J Nutr* 1995; 125(4): 823-9.
- Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr* 2000; 130(5S suppl): 14447S-54S.
- Prasad AS, Bao B, Beck FW, Kucuk O, Sarka FH. Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Radic Biol Med* 2004; 37(8): 1182-90.
- Prasad AS. The role of zinc in brain and nerve functions. In: Metals and oxidative damage in neurological disorders. New York, Plenum Press, 1997; pp95-111.
- Reif DW. Ferritin as a source of iron for oxidative damage. *Free Radic Biol Med* 1992; 12(5): 417-27.
- Rock E, Mazur A, O'connor JM, Bonham MP, Rayssiguier Y, Strain JJ. The effect of copper supplementation on red blood cell oxidizability and plasma antioxidants in middle-aged healthy volunteers. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(3): 324-9.
- Sansinanea AS, Cerone SI, Streitenberger SA, Garcia C, Auza N. Oxidative effect of hepatic copper

- overload. *Acta Physiol Pharmacol* 1998; 48(1): 25-31.
20. Santamaria A, Flores-Escartin A, Martinez JC, Osorio L, Galvan-Arzate S Pedraza-Chaverri J, *et al*. Copper blocks quinolinic acid neurotoxicity in rats: contribution of antioxidant systems. *Free Radic Biol Med* 2003; 35(4): 418-27.
  21. Smith JC, Butrimovitz GP, Purdy WC. Direct measurement of zinc in plasma by atomic absorption spectroscopy. *Clin Chem* 1979; 25(8): 1487-91.
  22. Sokol RJ, Devereaux M, Mierau G, Hambidge KM, Shikes RH. Oxidant injury to hepatic mitochondrial lipids in rats with dietary copper overload. *Gastroenterology* 1990; 99(4): 1061-71.
  23. Sudha K, Rao AV, Rao S, Rao A. Modification by vitamin E. Free radical toxicity and antioxidants in parkinson's disease. *Neurol India* 2003; 51(1): 60-62.
  24. Tate DJ, Miceli MV, Newsome DA. Zn protects against oxidative damage in cultured human retinal pigment epithelial cells. *Free Radic Biol Med* 1999; 26(5-6): 704-13.
  25. Uauy R, Olivares M, Gonzalez M. Essentiality of copper in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 97(5 suppl): 952S-9S.
  26. Wedekind KJ, Hortin AE, Baker DH. Methodology for assessing zinc bioavailability. *J Anim Sci* 1992; 70(1): 178-84.
  27. Zago MP, Oteiza PI. The antioxidant properties of zinc: Interactions with iron and antioxidants. *Free Radic Biol Med* 2001; 31(2): 266-74.





## نقش آنژیوتانسین II در تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نقش نیتریک اکسید در پاسخ‌های عروقی به آنژیوتانسین II در التهاب حاد مفصل زانوی خرگوش

دکتر حمید نجفی پور<sup>۱\*</sup>، نجمه صادقی<sup>۲</sup> و دکتر احمد غلامحسینیان<sup>۳</sup>

### خلاصه

مقدمه: ثابت شده است در بسیاری از بافت‌ها در شرایط التهابی تولید نیتریک اکسید (NO) افزایش می‌یابد و نیز آنژیوتانسین II (AngII) در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نقش دارد. از آن جا که تنظیم جریان خون مفصل زانو در شرایط التهابی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، مطالعه حاضر به بررسی نقش AngII در تولید ROS و نقش NO در تنظیم جریان خون مفصل زانو و تعدیل اثرات آنژیوتانسین II بر عروق مفصلی در شرایط التهاب حاد پرداخته است.

روش: مطالعه بر روی ۲۴ خرگوش نر نژاد سفید نیوزلندی در سه گروه آزمون و یک گروه شاهد انجام شد. التهاب حاد با تزریق ۰/۵ سی سی محلول کاراگینین ۲٪ در مفصل زانو ایجاد شد. ۲۴ ساعت بعد در حیوانات گروه اول تحت بیهوشی با تیوپنتال سدیم، شریان کاروتید جهت ثبت فشار شریانی و ورید ژوگولر جهت تزریق L-NAME و شریان صافن جهت تزریق آنژیوتانسین و لوزارتان کانول گذاری شدند. جریان خون مفصلی توسط دستگاه لیزر داپلر ثبت شد. مقاومت عروقی از تقسیم فشارخون به جریان خون محاسبه شد. بافت مفصل زانوی حیوانات گروه دوم برای هموژنیزاسیون و اندازه گیری ROS در روشناور بافت مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات گروه سوم ۲ ساعت قبل از ایجاد التهاب، لوزارتان (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) دریافت کردند.

یافته‌ها: مقاومت عروق مفصلی در اثر L-NAME افزایش معنی داری پیدا کرد. مقاومت عروقی در پاسخ به تزریق آنژیوتانسین با غلظت ۱۰<sup>-۶</sup> مولار به میزان معنی داری افزایش یافت. این پاسخ در حضور L-NAME به میزان معنی داری تشدید گردید (P<۰/۰۱). لوزارتان اثرات آنژیوتانسین بر عروق مفصلی را کاملاً مهار کرد. میزان آنتی اکسیدان تام و فعالیت آنزیم کاتالاز در روشناور بافت مفصل گروه دوم نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ولی از نظر آماری معنی دار نبود. لوزارتان موجب کاهش معنی دار میزان کاتالاز مفصل ملتهب شد (P<۰/۰۱).

نتیجه گیری: NO نقش مهمی در تنظیم جریان خون و در تعدیل پاسخ‌های انقباضی به آنژیوتانسین II در مفصل ملتهب بازی می‌کند. آنژیوتانسین II موجب افزایش ROS و در نتیجه میزان آنتی اکسیدان در مفصل ملتهب شده و این افزایش، از طریق گیرنده AT<sub>1</sub> صورت گرفته است.

واژه‌های کلیدی: آنژیوتانسین II، نیتریک اکسید، گونه‌های فعال اکسیژن، التهاب حاد، کاراگینین، مفصل زانو، خرگوش

۱- استاد گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۳- دانشیار

گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

\* نویسنده مسؤول، آدرس: مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان • آدرس پست الکترونیک: najafipourh@kmu.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۱۱/۳ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۶/۳/۱۷ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۳/۲۴

## مقدمه

بیماری های التهابی مفاصل از بیماری های شایع در سنین بالا می باشند. گرچه امروزه راه های درمانی مختلفی برای کنترل این بیماری ها اعمال می شود، ولی هیچ کدام به درمان کامل و قطعی بیماری منتهی نگردیده و بیشتر نقش تسکین درد برای بیماران دارند. علت این امر ناشناخته بودن مکانیسم های ایجاد بیماری است.

مطالعه ی قبلی علاوه بر نشان دادن حضور گیرنده های آنژیوتانسین در مفصل سالم، نقش نیتریک اکسید (NO) را در پاسخ عروقی مفصل به آنژیوتانسین II بررسی کرده و نشان داد که نیتریک اکسید در تنظیم تون عروقی مفصل سالم نقش دارد، اما اثر انقباضی آنژیوتانسین II روی این عروق را تغییر نمی دهد (۱۰). NO در شرایط فیزیولوژیک، اتساع عروق خونی را حفظ می کند (۴) و این مخالف اثر آنژیوتانسین II می باشد (۱۰). NO به مقدار زیادی در شرایط التهابی تولید می شود (۴). بنابراین بررسی نقش این ماده در پاسخ به آنژیوتانسین II در شرایط التهاب ارزش زیادی دارد. از طرف دیگر استفاده از L-NAME [مهارکننده غیر اختصاصی آنزیم [Nitric Oxide Synthetase (NOS)] می تواند اثر ثانویه ای بر جریان خون مفصل داشته باشد و به دلیل مهار cNOS (constitutive NOS) موجب کاهش نشت عروقی شود، بنابراین دارای اثر ضد آرتروز می باشد (۱۷). مطالعات دیگری حاکی از نقش NO در تشدید پاسخ التهابی از طریق افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن است (۱).

تحقیقات نشان داده اند که آنژیوتانسین II در عروق مغزی و اندوتلیوم عروق، تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS: Reactive Oxygen Species) را با واسطه NADPH-Oxidase القا می کند (۱۳). مطالعه دیگری نشان داده است که این عمل از طریق گیرنده AT<sub>1</sub> صورت می گیرد (۲۱). اما مطالعه ای که نشان دهنده مکانیسم تولید، افزایش یا کاهش ROS در بافت سینیوم در وضعیت التهابی باشد یافت نشد. بر اساس مطالعات انجام شده، ROS می تواند عملکرد اندوتلیوم عروق را از طریق NO

scavenging و تبدیل آن به پراکسی نیتريت مختل کند (۶). بر اساس مطالعه دیگری، استرس اکسیداتیو باعث القای مرگ در سلول های اندوتلیال می شود (۱۹) و اثرات سمی در روند تقسیم سلولی دارد (۱۶). همچنین پراکسید هیدروژن تولید شده توسط NADPH-Oxidase باعث هیپرتروفی سلول های عضله صاف در پاسخ به آنژیوتانسین II می شود (۲۰).

اهمیت پاتوفیزیولوژی تولید سوپراکسید به واسطه آنژیوتانسین II در این است که این فرایند از طریق تحریک اکسیدازهای وابسته به NADH/ NADPH صورت می گیرد. یون های سوپراکسید تولید شده در عروق التهابی سبب اختلال عملکرد سلول های اندوتلیال عروقی می گردند (۵). ROS موجب تولید فاکتور رشد اندوتلیال عروقی شده و شواهدی وجود دارد که این ماده مسیرهای تخریب غضروف های مفصلی در زمان التهاب را تقویت می نماید (۳). همچنین احتمال فعال شدن این سیستم طی افزایش استرس اکسیداتیو نیز منتفی نیست (۱۲). مطالعات دیگری نشان داده که در شرایط التهابی سیستم رنین- آنژیوتانسین موضعی فعال شده و موجب افزایش تولید آنژیوتانسین II که یک منقبض کننده عروقی است در موضع التهاب می گردد (۲۲).

لذا با توجه به موارد فوق، هدف اصلی این مطالعه بررسی نقش NO در تنظیم جریان خون پایه مفصل در حالت التهابی حاد و در پاسخ این عروق به آنژیوتانسین II و نقش آنژیوتانسین II در تولید گونه های فعال اکسیژن در شرایط التهاب حاد در این مفاصل بود.

## روش بررسی

آزمایش بر روی ۲۴ خرگوش نژاد سفید نیوزلندی انجام گرفت. حیوانات به سه گروه آزمایش و یک گروه شاهد تقسیم شدند (n=۶ در هر گروه) و طبق مراحل زیر عمل گردید. التهاب مفصل زانو با تزریق داخل مفصلی ۰/۵ میلی لیتر محلول ۲٪ carrageenan ایجاد شد (۹). محلول مذکور در سرنگ ۱ سی سی و سرسوزن شماره ۲۸ از طریق

بلوک‌کننده تولید NO است به صورت داخل وریدی (3mg/kg) از طریق کانول ورید ژوگولر تزریق گردید (۱۰) تا تولید NO متوقف و نقش NO در تنظیم جریان خون پایه مشخص گردد. ۴۵ دقیقه بعد آنژیوتانسین  $10^{-6}$  مولار مجدداً تزریق تا پاسخ عروق مفصلی به این ماده در غیاب NO ارزیابی شود. در پایان  $0/3$  میلی لیتر محلول لوزارتان ۱ میلی مولار از طریق کانول شریانی نزدیک مفصل تزریق و دو دقیقه بعد دوز آنژیوتانسین  $10^{-6}$  مولار تکرار گردید تا نقش گیرنده های  $AT_1$  در پاسخ عروقی به آنژیوتانسین ارزیابی شود.

گروه دوم: در این گروه ۲۴ ساعت پس از ایجاد التهاب حاد، تحت بیهوشی با تیوپتال سدیم حیوان کشته شد و مفصل زانو باز و بافت سینویوم شامل کپسول‌های قدامی و خلفی زانو جدا و هموژنیزه گردید. برای اندازه‌گیری مقدار ROS از دو شاخص اندازه‌گیری استفاده گردید. شاخص اول مقدار Total antioxidant بود که توسط کیت شرکت Randox اندازه‌گیری شد (۱۱) و شاخص دوم فعالیت آنزیم کاتالاز بود که با اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت (۱۸). علت اندازه‌گیری کاتالاز در کنار مقدار آنتی‌اکسیدان تام این بود که در سیستم آنتی‌اکسیدانی چندین عامل دخالت دارند و نقش تک‌تک آنها یکسان نیست لذا فعالیت کاتالاز به عنوان شاخص دیگری از کل آنتی‌اکسیدان‌ها اندازه‌گیری گردید.

روش هموژنیزه کردن بافت به این ترتیب است که بافت مورد نظر جدا و به قطعات ریز خرد و در بافر فسفات نگهداری می‌شود (20:1w/v) (100mM;PH=7.4) ( $T=5^{\circ}C$ ). نمونه‌ها با استفاده از ۱۰ بار گذر از یک سیستم خردکننده که در بخش فوقانی هموژنیزر قرار دارد هموژنیزه می‌شوند (۸). برای جدا کردن مایع رویی لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه در حالت سکون قرار داده شدند تا باقی‌مانده‌های بافت در ته آن رسوب کنند و بعد روشن‌آور آهسته به داخل لوله دیگری ریخته شد.

گروه سوم: در این گروه دو ساعت قبل از تزریق کاراگینین، ۱۰ میلی گرم لوزارتان به ازای هر کیلوگرم وزن

ناحیه میانی تاندون پاتلا (Mid patellar tendon) ۲۴ ساعت قبل از آزمایش به داخل فضای مفصل تزریق شد. برای انجام این عمل حیوان با هالوتان ۳٪ در مخلوط ۶۷ درصد  $N_2O$  و ۳۰ درصد  $O_2$  برای مدت کوتاهی بیهوش گردید (۹). مطالعه قبلی با همین روش نشان داد که بر اساس هر دو شاخص اندازه‌گیری قطر مفصل و هیستولوژی بافت مفصلی، این روش منجر به ایجاد التهاب حاد مفصلی می‌گردد (۹). افزایش قطر مفصل نیز در این مطالعه مشاهده گردید.

گروه اول: ابتدا حیوانات با تزریق داخل صفاقی تیوپتال سدیم (50mg/kg) بیهوش شدند. در صورت نیاز در طول جراحی از بیهوشی گازی با ترکیب فوق استفاده گردید. پس از کانول‌گذاری تراشه (برای تسهیل در بیهوشی استنشاقی) و کانول‌گذاری کاروتید (برای ثبت فشارخون شریانی) شریان صافن که در بخش قدامی-جانبی ساق پا قرار دارد به صورت روبه بالا کانول‌گذاری شد، به نحوی که نوک کانول به نزدیکی انشعابات شریانی مفصل برسد. کانول شریان کاروتید از طریق یک ترانسدیوسر فشار به دستگاه فیزیوگراف (Beckman R611 USA) وصل گردید تا منحنی تغییرات فشارخون (سیستولی و دیاستولی) را روی نوار دستگاه ثبت نماید. آنگاه پوست ناحیه قدامی مفصل به همراه بافت‌های زیر تا بافت سینویوم برداشته و توسط یک فیلم شفاف (Cling film) نازک پوشیده شد تا خشک نگردد. پروب دستگاه فلوومتر لیزرداپلر (model MBF 3D, Moor Instruments Axminster UK) در سطح بخش قدامی-جانبی کپسول قدامی مفصل قرار گرفت تا به طور مداوم جریان خون مفصلی (Joint blood flow: JBF) را نشان دهد (۱۰). یک ساعت پس از اتمام اعمال جراحی ابتدا  $0/1$  میلی لیتر آنژیوتانسین  $10^{-6}$  مولار از طریق شریان صافن تزریق گردید. این غلظت آنژیوتانسین حداکثر پاسخ انقباضی را در عروق مفصلی ایجاد می‌کند بدون آنکه اثر قابل توجهی بر فشارخون شریانی حیوان بگذارد (۱۰). آنگاه (Nitro- L- Arginin Methyl Ester) L-NAME که یک

### نتایج

اثر آنژیوتانسین II و لوزارتان قبل و بعد از L-NAME بر مقاومت عروقی مفصل زانو:

شکل ۱، تاثیر آنژیوتانسین II با غلظت  $10^{-6}$  مولار بر مقاومت عروق مفصلی را نشان می دهد. آنژیوتانسین II با غلظت  $10^{-6}$  مولار قبل از L-NAME منجر به افزایش مقاومت عروقی به میزان  $457/7 \pm 236$  درصد ( $4/57$  برابر) و در حضور L-NAME به میزان  $1748/2 \pm 765$  درصد ( $17/48$  برابر) شد ( $P < 0.01$ ). L-NAME به تنهایی مقاومت عروق مفصلی را  $81/9 \pm 12/9$  درصد افزایش داد ( $P < 0/01$ ). لوزارتان به تنهایی تأثیری بر مقاومت عروق مفصلی نداشت. اثر بلوک کنندگی پاسخ انقباضی آنژیوتانسین توسط لوزارتان در حضور و غیاب L-NAME یکسان و به طور کامل بود.

تعیین مقدار آنتی اکسیدان تام و فعالیت آنزیم کاتالاز:

مقدار آنتی اکسیدان تام در روشناور بافت هموژنیزه مفصل گروه انتهایی نسبت به گروه شاهد به طور غیر معنی دار افزایش نشان داد (شکل ۲A). میانگین این مقدار در گروه انتهایی  $0/51 \pm 0/11$  میلی مول در لیتر و در گروه شاهد  $0/34 \pm 0/13$  میلی مول در لیتر بود. میانگین مقدار آنتی اکسیدان تام در گروه سوم که داروی لوزارتان دریافت کرده بودند  $0/36 \pm 0/17$  میلی مول در لیتر بود که در حد گروه شاهد است.

فعالیت آنزیم کاتالاز در روشناور بافت هموژنیزه مفصل گروه انتهایی نسبت به گروه شاهد افزایش یافت اما این افزایش به مرز معنی داری نرسید. این میزان در دو گروه به ترتیب  $11/1 \pm 3/1$  و  $17/8 \pm 2/3$  واحد بود (شکل ۲B). فعالیت این آنزیم در گروه سوم که داروی لوزارتان دریافت کرده بودند  $6/6 \pm 1/4$  واحد بود که در مقایسه با گروه انتهایی کاهش معنی داری را نشان داد ( $P < 0/01$ ).

به حیوان داده شد (۱۵). دارو در یک سی سی آب حل شده و با سرنگ یک سی سی به حیوان خورانده شد و ۲۴ ساعت بعد مانند گروه دوم آنتی اکسیدان ها در روشناور بافت هموژنیزه شده، اندازه گیری گردید.

گروه شاهد: در این گروه، به جای carrageenan،  $0/5$  میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل در مفصل تزریق گردید و مانند گروه دوم عمل شد. مقدار ROS در روشناور بافت هموژنیزه اندازه گیری شد.

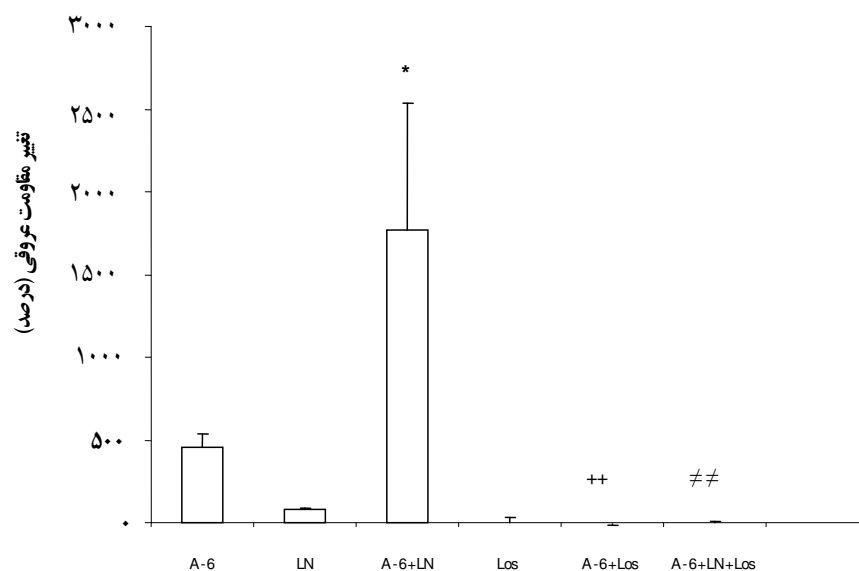
آنژیوتانسین II و کاراگینین از شرکت سیگما (انگلستان) و لوزارتان از شرکت مرک (آلمان) خریداری گردیدند.

محاسبه مقاومت عروقی: مقادیر جریان خون مفصلی قبل و بعد از هر تزریق ثبت شدند. فشار متوسط شریانی، با استفاده از منحنی فشارخون روی کاغذ فیزیوگراف با اضافه کردن  $\frac{1}{3}$  فشار نبض (اختلاف فشار سیستولی و دیاستولی) به فشار دیاستول محاسبه شد (۱۰). مقاومت عروقی مفصل از تقسیم فشار متوسط شریانی بر جریان خون مفصلی  $\left( R = \frac{\Delta p}{Q} \right)$  محاسبه گردید (۱۰). آنگاه تغییرات جریان خون، فشارخون و مقاومت عروقی به صورت درصد تغییر هر متغیر و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

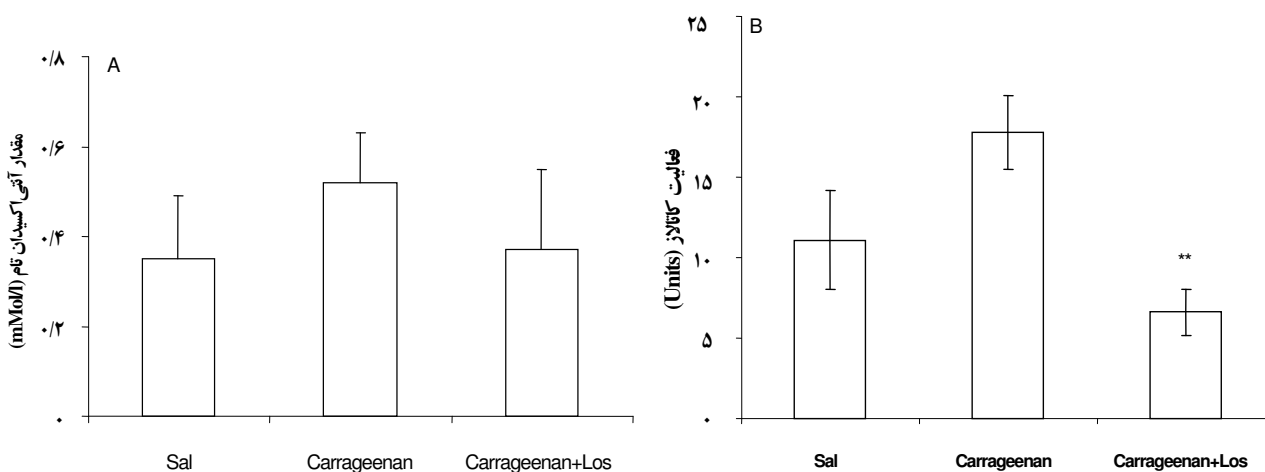
$$\text{درصد تغییر در متغیر X} = \frac{b-a}{a} \times 100$$

که در آن a مقدار متغیر x قبل از مداخله و b مقدار متغیر x بعد از مداخله است.

تجزیه و تحلیل آماری: برای مقایسه مقادیر یک متغیر قبل و بعد از یک مداخله از آزمون Student Paired t استفاده شد. برای مقایسه مقادیر متغیرها بین گروهها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ONE WAY ANOVA) و به دنبال آن Posthoc Tukey's استفاده شد. مقادیر روی نمودارها میانگین  $\pm$  خطای معیار (Mean  $\pm$  SE) می باشند. مقادیر  $P < 0/05$  از نظر آماری معنی دار منظور گردید.



**شکل ۱:** تغییرات مقاومت عروق مفصل التهابی حاد در اثر آنژیوتانسین II، L-NAME (LN) و متعاقب آن تکرار آنژیوتانسین II قبل و بعد از لوزارتان. در حضور LN پاسخ انعکاسی آنژیوتانسین II تشدید شد. لوزارتان نیز اثرات آنژیوتانسین را به طور کامل مهار کرد.  $P < 0.05 = *$  در مقایسه با  $A^6$ ،  $P < 0.01 = ++$  در مقایسه با  $A^6$  و  $P < 0.01 = \neq$  در مقایسه با  $A^6 + LN$ ،  $n = 6$  در هر مورد،  $Los = Losartan$ ،  $A = Angiotensin II$ .



**شکل ۲:** مقدار آنژی اکسیدان تام (A) و فعالیت آنزیم کاتالاز (B) در روشناور بافت هموژنیزه شده مفصل زانوی خرگوش در سه گروه شاهد (Sal)، التهابی (Carrageenan) و پیش درمان شده با لوزارتان (Carrageenan+Los). التهاب موجب افزایش غیر معنی دار در تولید مقدار آنژی اکسیدان تام شد که این افزایش توسط لوزارتان از بین رفت. فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر التهاب افزایش یافت اما این افزایش به مرز معنی داری نرسید. لوزارتان موجب کاهش معنی دار فعالیت این آنزیم شد ( $P < 0.01$ )،  $n = 6$  در هر گروه.

## بحث

تزریق L-NAME به تنهایی موجب ۸۱٪ افزایش در مقاومت عروقی مفصل شد (شکل ۱) که تأییدکننده این است که NO در تنظیم تون پایه عروق مفصلی در شرایط التهابی نقش دارد. در مطالعه روی مفصل سالم این میزان ۲۵٪ بوده (۷) که به میزان معنی داری کوچکتر است ( $P < 0.01$ ) و نشان دهنده نقش بیشتر NO در تنظیم تون عروقی مفصل در شرایط التهابی و افزایش تولید این ماده در این شرایط است. پاسخ عروق مفصلی ملتهب به آنژیوتانسین II با غلظت  $10^{-6}$  مولار در حضور L-NAME به میزان معنی داری شدیدتر از پاسخ در غیاب L-NAME است (شکل ۱). این امر نشان می دهد که NO در شرایط التهابی نقش انقباضی آنژیوتانسین II روی عروق مفصلی را به میزان زیادی تعدیل می نماید. پاسخ عروق مفصل سالم به همین دوز آنژیوتانسین II در مطالعه قبلی (۷) افزایش  $115 \pm 653$  در صد در مقاومت عروقی بعد از تزریق L-NAME و  $109 \pm 506$  در صد قبل از تزریق L-NAME بوده است ( $P = 0/1$ ). از مقایسه داده های دو مطالعه روی مفاصل سالم و التهابی نتیجه گرفته می شود که التهاب شدت پاسخ عروق مفصلی به آنژیوتانسین را تغییر نداده است ولی در حالی که در مفصل سالم NO نقش تعدیلی در پاسخ عروق به آنژیوتانسین II نداشته (۱۰) در مفصل التهابی نقش تعدیل کنندگی مهمی در پاسخ عروق به آنژیوتانسین II پیدا نموده است.

از طرف دیگر NO در شرایط التهابی موجب فعالیت سیکلواکسیژناز و افزایش تولید  $PGE_2$  و ایترلوکین-۱ بتا ( $IL-1\beta$ ) نیز می شود (۲). به همین دلیل تزریق آنژیوتانسین II متعاقب L-NAME (مهاری تولید NO) موجب انقباض شدیدتری در عروق مفصلی گردیده است (شکل ۱). بنابراین می توان به این مسأله اشاره کرد که علی رغم نظر بعضی محققان مبنی بر این که حذف NO از طریق کاهش تولید پروستاگلندین ها و  $IL-1$  در مفاصل آرتریتیک می تواند اثرات مفید درمانی داشته باشد (۱۴، ۱)، بر اساس مشاهدات این تحقیق، حذف آن از طریق کاهش جریان

خون و تشدید هیپوکسی ممکن است باعث تشدید اثرات تخریبی التهاب گردد. از آنجا که غضروف های مفصلی بافت هایی فاقد عروق هستند و برای تأمین نیازهای غذایی و اکسیژنی خود به مایع مفصلی وابسته اند و این مایع از جریان خون مفصل تأمین می شود، این امر می تواند تعادل بین تحویل سوسترا و مصرف انرژی را در مفصل ملتهب مختل کند. از طرف دیگر بر اساس مطالعه دیگری آنژیوتانسین II از طریق گیرنده های  $AT_1$  در پرخونی عملی اختلال ایجاد می کند (۷). لذا کاهش تولید NO می تواند اثرات تعدیلی آنرا بر آنژیوتانسین کاهش داده و منجر به تشدید این اثرات آنژیوتانسین نیز گردد.

در این مطالعه مکانیسم تولید گونه های فعال اکسیژن طی التهاب حاد ۲۴ ساعته در مفصل زانوی خرگوش نیز مورد بررسی قرار گرفت.

شکل ۲ میزان آنتی اکسیدان تام را در روشناور بافت هموژنیزه مفصل زانوی خرگوش در سه گروه شاهد، التهابی و التهابی درمان شده با لوزارتان نشان می دهد. میزان تولید آنتی اکسیدان تام در گروهی که داروی لوزارتان را که یک بلوک کننده اختصاصی گیرنده های  $AT_1$  می باشد دریافت کرده بودند، تفاوتی با حد میزان پایه آن در گروه شاهد نداشته است. از آنجا که تولید آنتی اکسیدان ها شاخصی از تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) می باشد عدم افزایش آنها می تواند نشان دهنده دو احتمال باشد. یکی این که همان طور که آنژیوتانسین در تنظیم جریان خون پایه در شرایط التهاب حاد نقش نداشت (شکل ۱- اثر لوزارتان) در اینجا نیز در تولید ROS نقش نداشته باشد و التهاب به علت عوامل دیگری به غیر از ROS ایجاد شده باشد یا به عبارت دیگر التهاب ناشی از کاراگینین از مسیر ROS عمل نکرده باشد. دوم این که تأثیر این نوع التهاب بر تولید انواع مختلف ROS یکسان نباشد و در نتیجه برآیند کلی تولید ROS که آنتی اکسیدان تام است افزایش نشان نداده باشد. احتمال دوم بیشتر است زیرا همان طور که در مورد فعالیت کاتالاز نشان داده شده (شکل ۲) لوزارتان توانسته میزان آنزیم کاتالاز را که یکی از

یافته‌های آن به بیماری‌های مزمن مفصلی قابل تعمیم گردد.

### نتیجه گیری

NO در تنظیم تون پایه عروق مفصلی دارای التهاب حاد نقش مهمی دارد و اثرات انقباضی آنژیوتانسین II را که در این شرایط می‌تواند به صورت موضعی تولید و جریان خون مفصلی را کاهش دهد تعدیل می‌نماید. تولید کاتالاز که یکی از آنزیم‌های مهم مقابله کننده با گونه‌های فعال اکسیژن است در مفصل التهابی افزایش می‌یابد و آنژیوتانسین II از طریق گیرنده‌های AT<sub>1</sub> خود در این پدیده نقش دارد. بنابراین وجود NO که معمولاً در شرایط التهابی از آن به عنوان یک فاکتور التهاب‌زا نام برده می‌شود بر اساس نتایج این مطالعه دارای اثرات مفید می‌باشد.

مقاله حاضر از پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی به شماره ثبت ۳۱۱۷ و مورخه مهر ۱۳۸۵ دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان: «بررسی پاسخ عروق مفصلی به آنژیوتانسین II و تعیین نوع گیرنده‌های آن و نقش گونه‌های فعال اکسیژن و نیتریک اکسید در التهاب حاد مفصلی در خرگوش» استخراج گردیده است.

آنتی‌اکسیدان‌هاست به میزان معنی داری کاهش دهد. در این رابطه تحقیقات قبلی نشان داده اند که آنژیوتانسین II تولید ROS در عروق مغزی، اندوتلیوم و adventitia با واسطه NADPH-oxidase را القا می‌کند (۱۳) و این عمل از طریق گیرنده AT<sub>1</sub> صورت می‌گیرد (۲۱).

در مطالعه حاضر نیز با توجه به کاهش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه التهابی توسط لوزارتان (شکل ۲)، آنژیوتانسین II در تولید کاتالاز از مسیر گیرنده‌های AT<sub>1</sub> نقش داشته است.

محققین نشان داده‌اند که آنژیوتانسین می‌تواند تولید سوپراکسید را از طریق تحریک اکسیدازهای وابسته به NADPH/NADH واسطه‌گری کند و احتمال این که این فرایند در بین گونه‌های مختلف، متفاوت باشد وجود دارد. احتمال فعال شدن این سیستم طی افزایش استرس اکسیداتیو در انسان نیز وجود دارد (۱۲). بنابراین احتمال وجود مسیری غیر از مسیر آنژیوتانسین برای تولید ROS هم در التهاب وجود دارد که یکی از آنها توسط NO است (۱). با توجه به این که در شرایط کلینیکی پزشکان بیشتر با التهابات مزمن مفصلی مواجه می‌باشند پیشنهاد می‌شود مطالعه حاضر در شرایط التهاب مزمن تکرار شود تا

### Summary

#### Role of Angiotensin II in Reactive Oxygen Species Production and Modulatory Role of Nitric Oxide (NO) in Vessel Responses to AngII in Acute Joint Inflammation in the Rabbit

Najafipour H., Ph.D.<sup>1</sup>, Sadeghi N., B.Sc.<sup>2</sup>, Gholamhosseinian A., Ph.D.<sup>3</sup>

1. Professor of Physiology, School of Medicine & Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. 2. M.Sc. Student of Physiology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. 3. Associate Professor of Biochemistry, School of Medicine & Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

**Introduction:** It has been approved that in most tissues NO production increases during acute inflammation and Angiotensin II has a role in production of reactive oxygen species (ROS). As regulation of joint blood flow (JBF) is important in this situation, this study was performed to investigate the interaction of local Ang II and ROS production and the modulatory role of NO on regulation of JBF during acute inflammation.

**Methods:** The study was performed on 24 Newzealand white rabbits divided into three experimental and one control groups. Acute knee joint inflammation was produced by intraarticular injection of 0.5 ml of a 2% solution of carrageenan in knee joint. In the first group after 24 hours animals were anesthetized by thiopental sodium and carotid artery, jugular vein and saphenous artery were cannulated for recording blood pressure, injection of L-NAME and local injection of AngII and losartan respectively. Blood flow was

recorded by laser Doppler flow meter. Joint vascular resistance (JVR) was calculated by dividing arterial blood pressure (ABP) by JBF. In the second group, knee joint tissue was used for homogenization and ROS measurement. In the third group, Losartan (10mg/kg) was administrated orally 2 hours before induction of inflammation.

**Results:** L-NAME increased JVR significantly. JVR in response to AngII was significantly increased. This response was significantly potentiated by L-NAME ( $P<0.01$ ). Losartan completely blocked the effect of AngII on JVR. Data showed that total amount of antioxidant and catalase activity nonsignificantly increased in inflamed group. Losartan significantly returned the catalase activity of the inflamed joint to the control level ( $P<0.01$ ).

**Conclusion:** NO plays a role in the regulation of joint vascular tone and modulates the AT<sub>1</sub> receptor response to AngII in acutely inflamed joints. Ang II increased the production of ROS and as a result the amount of antioxidants in acutely inflamed joints and this is via angiotensin II and through AT<sub>1</sub> receptors.

**Key words:** Angiotensin II, Nitric oxide, Reactive oxygen species, acute inflammation, Carragenan, knee joint, Rabbit

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2007; 14(3): 185-193*

## References

1. Cuzzocrea S. Role of nitric oxide and reactive oxygen species in arthritis. *Curr Pharm Des* 2006; 12(27): 3551-70.
2. de Mello SB, Novaes GS, Laurindo IM, Muscara MN, Maciel FM, Cossermelli W. Nitric oxide synthase inhibitor influences prostaglandin and interleukin-1 production in experimental arthritic joints. *Inflamm Res* 1997; 46(2): 72-7.
3. Fay J, Varoga D, Wruck CJ, Kurz B, Goldring MB, Pufe T. Reactive oxygen species induce expression of vascular endothelial growth factor in chondrocytes and human articular cartilage explants. *Arthritis Res Ther* 2006; 8(6): R189.
4. Ferrel AJ, Blake DR, Palmer RM, Moncada S. Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 1992; 51(11): 1219-22.
5. Haruna Y, Morita Y, Komai N, Yada T, Sakuta T, Tomita N, et al. Endothelial dysfunction in rat adjuvant-arthritis: Vascular superoxide production by NAD(P)H oxidase and uncoupled endothelial nitric oxide synthase. *Arthritis Rheum* 2006; 54(6): 1847-55.
6. Ischiropoulos H, Beckman JS. Oxidative stress and nitration in neurodegeneration: cause, effect or association? *J Clin Invest* 2003; 111(2): 163-9.
7. Kazama K, Wang G, Frys K, Anrather J, Iadecola C. Angiotensin II attenuates functional hyperemia in the mouse somatosensory cortex. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285(5): H1890-9.
8. Lawler JM, Song W, Demaree SR. Hindlimb unloading increases oxidative stress and disrupts antioxidant capacity in skeletal muscle. *Free Radic Biol Med* 2003; 35(1): 9-16.
9. Najafipour H. Alteration in  $\alpha$ - and  $\beta$ -Adrenoceptor profile of rabbit knee joint blood vessels due to acute inflammation. *Exp Physiol* 2000; 85(3): 267-73.
10. Najafipour H, Ketabchi F. The receptors and role of angiotensin II in knee joint blood flow regulation and role of nitric oxide in modulation of their function. *Microcirculation* 2003; 10(5): 383-90.
11. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative



- stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem* 1997; 43(7): 1209-14.
12. Omland T, Johnson W, Gordon MB, Creager MA. Endothelial function during stimulation of renin-angiotensin system by low-sodium diet in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280(5): H2248-54.
  13. Pagano PG, Clark JK, Cifuentes-Pagano ME, Clark SM, Callis GM, Quinn MT. localization of a constitutively active, phagocyte -like NADPH-oxidase in rabbit aortic adventitia: enhancement by angiotensin II. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94(26): 14483-14488
  14. Salvemini D, Seibert K, Masferrer JL, Settle SL, Misko TP, Currie MG, et al. Nitric oxide and cyclooxygenase pathway. *Adv prostaglandin. Tromb Oxane Leukot Res* 1995; 23: 491-3.
  15. Sanz M, Ganado P, Tejerina T. Two angiotensin AT<sub>1</sub> receptor antagonists, irbesartan and losartan, effects in cholestrol-fed rabbits. *Eur J Pharmacol* 2002; 442(1-2): 99-106.
  16. Shackelford R, Kaufmann WK, Paules RS. Cell cycle control, checkpoint mechanisms, and genotoxic stress. *Environ Health Perspect* 1999; 107 suppl 1: 5-24.
  17. Stefanovic-Racic M, Meyers K, Meschter C, Coffey JW, Hoffman RA, Evans CH. Comparison of the nitric oxide inhibitors methylarginine and aminoguanidine as prophylactic and therapeutic agents in rat adjuvant induced arthritis. *J Rheum* 1995; 22(10): 1922-8.
  18. Visick JE, Clarake S. RpoS- and OxyR-Independent induction of HPI catalase at stationary phase in Escherchia coli and identification of rpoS mutations in common laboratory strains. *J Bacteriol* July 1997; 179(13): 4158-4163.
  19. Walsh DA, Catravas J, Wharton J. Angiotensin converting enzyme in human synovium: increased stromal [<sup>125</sup>I] 351A binding in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59(2): 125-31.
  20. Wang HD, Johns DG, Xu S, Cohen RA. Role of superoxide anion in regulating pressor and vascular hypertrophic response to angiotensin II. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282(5): H1697-702.
  21. Wang JH, Redmond HP, Watson RW, Bouchier-Hayes D. Induction of human endothelial cell apoptosis requires both heat shock and oxidative stress responses. *Am J Physiol* 1997; 272(5 pt 1): C1543-51.
  22. Wassmann S, Nickenig G. Interrelationship of free oxygen radicals and endothelial dysfunction: modulation by statins. *Endothelium* 2003; 10(1): 23-33.



## ارزیابی رادیوگرافیک تکامل

### دندان‌های مولر سوم و ارتباط آن با سن تقویمی در نژاد ایرانی

دکتر مهناز شیخی\*، دکتر آرش قدوسی<sup>۱</sup>، دکتر مسعود قادی پاشا<sup>۲</sup> و دکتر مهناز صفایان<sup>۳</sup>

#### خلاصه

مقدمه: تخمین سن یکی از مهم‌ترین موضوعاتی است که در پزشکی قانونی برای طرح درمان و تعیین حقوق بیمار اهمیت دارد. علی‌رغم روش‌های گوناگونی که برای تخمین سن وجود دارد، هنوز روش عملی، غیرتهاجمی و سریع برای مردم کشورمان وجود ندارد. هدف از این تحقیق تهیه و تنظیم معیاری دقیق و اساسی برای تخمین سن تقویمی براساس روند تکامل دندان مولر سوم بالا و پایین در کلیشه‌های پانورامیک در کشور ایران و به صورت بومی در نژاد ایرانی می‌باشد.

روش: در این تحقیق ۷۵۰ عدد کلیشه پانورامیک مربوط به سال‌های ۱۳۷۲ تا ۱۳۸۵ از افراد سالم در محدوده سنی ۵/۵ تا ۲۵ سال در ۵ شهر ایران جمع‌آوری شدند. ملاک تعیین شهرهای مورد بررسی حتی‌الامکان بر اساس میزان پراکندگی قومی و جغرافیایی و امکان دسترسی به تعداد زیاد نمونه بود. این شهرها عبارت بودند از اصفهان، اهواز، مشهد، کرمان و تبریز که از هر شهر ۱۵۰ کلیشه تهیه شد. سپس کلیشه‌ها به طور تصادفی بین دو رادیولوژیست تقسیم شد و هر یک به صورت جداگانه بر اساس روش طبقه‌بندی کلسیفیکاسیون دمرجیان به بررسی میزان تکامل دندان ۸ فک بالا و پایین در کلیشه‌ها پرداختند. سپس بر اساس اطلاعات گزارش شده توسط هر دو رادیولوژیست و سن تقویمی دقیق هر فرد و با استفاده از آزمون‌های آماری وابستگی چندگانه و ضریب همبستگی اسپیرمن و پیرسون داده‌ها تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: از ۷۵۰ عدد گرافی جمع‌آوری شده ۵۳۵ کلیشه مربوط به جنس زن (۷۰٪) و ۲۱۵ عدد (۳۰٪) متعلق به بیماران مرد بود. یافته‌ها تفاوت آماری معنی‌داری میان فک پایین در ارتباط با تکامل دندان نشان می‌داد. به‌نحوی که در مردان در فک بالا تمام مراحل کلسیفیکاسیون سریع‌تر از فک پایین بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به تحقیق انجام شده روش دمرجیان برای تخمین سن در نژاد ایرانی معتبر است. سن کلسیفیکاسیون دندان مولر سوم در دو جنس زن و مرد در فک بالا و پایین یکسان نبوده که حاکی از ارتباط بین جنس و کلسیفیکاسیون دندان است.

واژه‌های کلیدی: پزشکی قانونی، تکامل دندان مولر سوم، نژاد ایرانی، سن تقویمی

۱- استادیار دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۲- استادیار دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان ۳- استادیار، سازمان پزشکی قانونی کشور

۴- دندان پزشکی

\* نویسنده مسؤول، آدرس: سازمان پزشکی قانونی کرمان ● آدرس پست الکترونیک: m\_ghadipasha@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۱۰/۱۶ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۶/۴/۱۰ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۴/۲۰

## مقدمه

با توجه به افزایش موارد درخواست از پزشکی قانونی برای تخمین سن اجساد مجهول‌الهویه یا مجرمینی که سن خود را کتمان می‌کنند یا افرادی که مدعی هستند سن واقعی آنها با سن شناسنامه‌ای آنها یکسان نیست، محققین همواره درصدد پیدا کردن راهی برای تخمین سن انسان‌ها می‌باشند. اهمیت تخمین دقیق سن تقویمی در پزشکی قانونی تا این حد است که گاهی با مشخص شدن سن واقعی مجازات فرد محکوم به اعدام به حبس تخفیف می‌یابد یا مجازات کیفری مشخص شده برای فرد مجرم از حبس به جریمه نقدی تبدیل می‌شود. راه‌هایی که تاکنون برای تخمین سن مورد استفاده قرار می‌گرفته عبارتند از:

- بررسی میزان تکامل استخوان‌ها به خصوص در مراکز ثانویه استخوان‌سازی با استفاده از رادیوگرافی مناطقی مانند مچ دست (۱).

- بررسی تکامل دندان‌ها از نظر بافت‌شناسی (روش گوستاوسن) که مستلزم کشیدن دندان می‌باشد و بسیار تهاجمی و وقت‌گیر است (۲).

- بررسی تکامل دندان‌ها از طریق رادیوگرافی بیمار و مقایسه با جداول زمان‌بندی رویش دندان‌های انسان به صورت عمومی (مانند جدول کرد و نفلد ولوگان) که این روش با وجود آسان بودن به علت تنوع زیاد سن رویش و تأثیر نژاد روی تکامل دندان‌ها غیرواقعی بوده و دقیق نیست (۳).

در سال ۱۹۷۳ دمرجیان و همکارانش روشی را ابداع کردند که با استفاده از این روش توانستند به صورت اختصاصی و بر اساس تکامل دندان‌ها در رادیوگرافی پانورامیک بیمار سن تقویمی را در افراد با نژاد فرانسوی کانادایی تخمین بزنند. آنها سیر تکامل دندان را در ۸ مرحله A تا H به علاوه صفر طبقه‌بندی کردند که مرحله A شروع کلسیفیکاسیون نوک کاسپ‌ها است و مرحله H آخرین مرحله تکاملی است که آپکس ریشه بسته می‌شود. مرحله صفر نیز بیانگر عدم شروع کلسیفیکاسیون بوده که جوانه دندان در گرافی به صورت یک رادیولوژی دیده می‌شود.

آنها تحقیق خود را بر روی ۷ دندان دائمی فک پایین سمت چپ در ۲۹۲۸ کلیشه پانورامیک انجام دادند و دو جدول یکی جدول شاخص‌ها و دیگری جدول تبدیل تهیه کردند. آنها برای هر دندان در هر مرحله تکاملی که بود شاخص خاصی تعیین کردند و سپس ۷ شاخص به دست آمده از ۷ دندان را با هم جمع کرده تا شاخص نهایی بلوغ به دست آید. سپس با کمک جدول تبدیل، این شاخص نهایی را به سن تقویمی تبدیل نمودند (۴).

محدودیت روش دمرجیان عدم امکان تخمین سن بعد از ۱۴-۱۵ سالگی یعنی زمان تکمیل کلسیفیکاسیون دندان ۷ (بسته شدن آپکس دندان) است. از آنجا که سنین بحرانی که تعیین‌کننده حق و حقوق و مسئولیت کیفری بوده است از نظر پزشکی قانونی بالاتر از ۱۵ سال می‌باشد، استفاده از روش دمرجیان برای تخمین سن کاربردی نیست (۵).

از آنجا که دندان ۸ تنها دندانی است که تکامل کلسیفیکاسیون آن تا سنین بزرگسالی ادامه دارد، امروزه محققین تصمیم به اجرای روش دمرجیان بر روی دندان ۸ به صورت منفرد گرفته‌اند. تاکنون کاربرد شاخص دمرجیان در تخمین سن تقویمی بر اساس تکامل دندان مولر سوم در تعداد معدودی از نژادهای اروپایی و آسیایی بررسی شده است ولی به علت تنوع گسترده مورفولوژی و بیولوژی این دندان و اثبات نقش نژاد در تکامل دندانی استفاده از سیر تکاملی این دندان برای تخمین سن در برخی کشورها از جمله هندوستان که دارای تنوع نژادی هستند قابل اعتماد نیست. هدف مطالعه حاضر کاربرد شاخص دمرجیان در تخمین سن تقویمی بر اساس تکامل دندان مولر سوم برای اولین بار در نژاد ایرانی می‌باشد.

## روش بررسی

در این تحقیق برای اینکه بتوانیم ارتباط بین تکامل دندان عقل و سن تقویمی را از روی رادیوگرافی پانورامیک در نژاد ایرانی بررسی نمایم ناچار بودیم کلیشه‌های پانورامیک تحت بررسی را از میان اقوام و قبایل مختلف سراسر ایران جمع‌آوری کنیم. کلیشه‌های مورد مطالعه شامل

(تفاضل تاریخ تولد فرد در شناسنامه و تاریخ گرفتن پانورامیک) داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری وابستگی چندگانه و ضریب همبستگی اسپیرمن و پیرسون با سطح معنی دار ۰/۰۵ توسط نرم‌افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل شدند. برای سهولت محاسبات آماری ماه‌ها به صورت کسری از سال محاسبه شده‌اند.

### نتایج

تعداد کلیشه‌های موجود در هر سن در جدول ۱ مشخص شده است. در این جدول علاوه بر مشخص شدن تعداد جمعیت نمونه‌ها در هر سن به صورت کلی، جمعیت در هر سن به تفکیک جنس نیز بیان شده است.

جدول ۱: توزیع فراوانی سن بیماران تحت مطالعه

سن	جنس	مذکر	مؤنث	کل
۵-۶		۳	۲	۵
۶-۷		۴	۳	۷
۷-۸		۱۱	۱۴	۲۵
۸-۹		۱۶	۵۱	۶۷
۹-۱۰		۲۸	۴۷	۷۵
۱۰-۱۱		۱۸	۵۹	۷۷
۱۱-۱۲		۱۸	۵۲	۷۰
۱۲-۱۳		۲۳	۴۶	۶۹
۱۳-۱۴		۱۴	۳۱	۴۵
۱۴-۱۵		۱۴	۲۷	۴۱
۱۵-۱۶		۱۲	۴۳	۵۵
۱۶-۱۷		۸	۲۸	۳۶
۱۷-۱۸		۵	۲۲	۲۷
۱۸-۱۹		۵	۲۴	۲۹
۱۹-۲۰		۸	۲۱	۲۹
۲۰-۲۱		۵	۲۰	۲۵
۲۱-۲۲		۶	۱۸	۲۴
۲۲-۲۳		۱۰	۱۴	۲۴
۲۳-۲۴		۴	۴	۸
۲۴-۲۵		۲	۵	۷
۲۵-۲۶		۱	۴	۵
مجموع		۲۱۵	۵۳۵	۷۵۰

کلیشه‌های پانورامیک جمع‌آوری شده از دانشکده‌های دندانپزشکی و مطب‌های خصوصی ۵ شهر واقع در ۵ ناحیه مجزای ایران با قومیت متفاوت بودند. شهرهای انتخابی اصفهان (مرکز)، تبریز (شمال غرب و نژاد ترک)، مشهد (شمال شرق و نژاد افغانی)، کرمان (جنوب شرقی) و اهواز (جنوب غربی و نژاد عرب) بودند. تعداد کلیشه‌های پانورامیک جمع‌آوری شده از هر شهر ۱۵۰ عدد بود و در مجموع ۷۵۰ رادیوگرافی از سراسر ایران فراهم شد. کلیشه‌های جمع‌آوری شده متعلق به بیماران در محدوده سنی ۵ تا ۲۵ سال بود که هیچ‌گونه سابقه ضربه یا نقایص کلسیفیکاسیون دندان ۸ نداشتند. کلیه کلیشه‌ها مربوط به سال‌های ۱۳۷۲ تا ۱۳۸۵ بوده که به طریقه استاندارد و بدون هیچ‌گونه اشکال تکنیکی تهیه شدند. از ۷۵۰ کلیشه مورد بررسی ۵۳۵ نفر زن (۷۰٪) و ۲۱۵ نفر (۳۰٪) مرد بودند. به علت تعداد زیاد رادیوگرافی‌ها و برای افزایش دقت در کار، کلیشه‌ها برای خواندن و بررسی بین دو رادیولوژیست که هیچ‌گونه توافق قبلی در مورد خواندن گرافی‌ها نداشتند تقسیم شدند. و هر یک به صورت جداگانه با توجه به تصاویر و تعریف دقیق شاخص تکاملی دمرجیان به بررسی تکامل دندان ۸ در هر دو فک بالا و پایین پرداختند. البته فک بالا تنها در رادیوگرافی‌هایی تحت بررسی قرار می‌گرفت که میزان سوپرایمپوز نواحی مجاور بر روی دندان ۸ کمتر و خواندن آن امکان‌پذیر بود.

مشاهده‌گرها به هر یک از دندان‌های ۸ بالا و پایین بر اساس روش دمرجیان بسته به میزان تکامل یک شاخص از A تا H به علاوه صفر اختصاص دادند. برای افزایش دقت و برای بررسی میزان هم‌خوانی دو رادیولوژیست، ۳۰ رادیوگرافی از ۱۵۰ رادیوگرافی هر شهر بین دو رادیولوژیست به صورت مشترک خوانده شد و پس از دو ماه این ۳۰ رادیوگرافی مشترک دوباره خوانی شد و بر این اساس Inter rater reliability و Intera rater reliability دو مشاهده‌گر ارزیابی شد.

پس از جمع‌آوری گزارشات دو رادیولوژیست همراه با سن تقویمی دقیق هر فرد در هنگام گرفتن رادیوگرافی

برای بررسی دقت تحقیق ضریب همبستگی اسپیرمن و پیرسون بین سن برآورد شده و سن تقویمی بیمار محاسبه شده که در جدول ۲ نشان داده شده است. از آنجا که داده‌های این تحقیق بیشتر کیفی محسوب می‌شود ضریب همبستگی اسپیرمن از دقت بیشتری برخوردار است. جدول ۳ فاکتورهای آماری مورد بررسی برای تخمین سن از روی رادیوگرافی دندان مولر سوم در فک بالا و پایین را نشان می‌دهد. جدول ۴ محدوده سنی و همچنین میانگین سنی برآورده شده را در هر یک از مراحل کلسیفیکاسیون دمرجیان (از A تا H به علاوه صفر) در نژاد ایرانی برای مولر سوم فک بالا و پایین در هر دو جنس نشان می‌دهد که براساس فاکتورهای آماری ارائه شده در جدول ۳ به دست آمده‌اند. بر اساس ضریب همبستگی اسپیرمن

برای بررسی دقت تحقیق ضریب همبستگی اسپیرمن و پیرسون بین سن برآورد شده و سن تقویمی بیمار محاسبه شده که در جدول ۲ نشان داده شده است. از آنجا که داده‌های این تحقیق بیشتر کیفی محسوب می‌شود ضریب همبستگی اسپیرمن از دقت بیشتری برخوردار است. جدول ۳ فاکتورهای آماری مورد بررسی برای تخمین سن از روی رادیوگرافی دندان مولر سوم در فک بالا و پایین را نشان می‌دهد. جدول ۴ محدوده سنی و همچنین میانگین سنی برآورده شده را در هر یک از مراحل کلسیفیکاسیون دمرجیان (از A تا H به علاوه صفر) در نژاد ایرانی برای مولر سوم فک بالا و پایین در هر دو جنس نشان می‌دهد که براساس فاکتورهای آماری ارائه شده در جدول ۳ به دست آمده‌اند. بر اساس ضریب همبستگی اسپیرمن

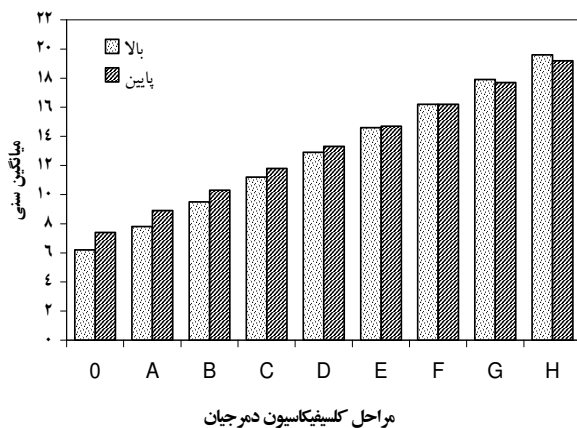
با توجه به داده‌های جدول ۲ ضرایب همبستگی سن واقعی و سن برآورد شده بر اساس مدل رگرسیون در دندان‌های مولر سوم بالا و پایین همگی بالای ۰/۵ گزارش شده است که بیان کننده دقت بالای نتایج حاصل از تحقیق می‌باشد. بر اساس نمودار ۱ و ۲ تفاوت بین سن کلسیفیکاسیون دندان مولر سوم در فک بالا و پایین در هر دو جنس زن و مرد می‌باشد. همچنین نتایج به دست آمده اختلاف سنی بین دو جنس زن و مرد در مراحل مختلف کلسیفیکاسیون را نشان می‌دهد که اثبات کننده تأثیر جنس بر زمان کلسیفیکاسیون دندان است.

جدول ۲: ضرایب همبستگی سن واقعی و سن برآورد شده براساس مدل رگرسیون در دندان‌های مولر سوم بالا و پایین بر حسب جنسیت

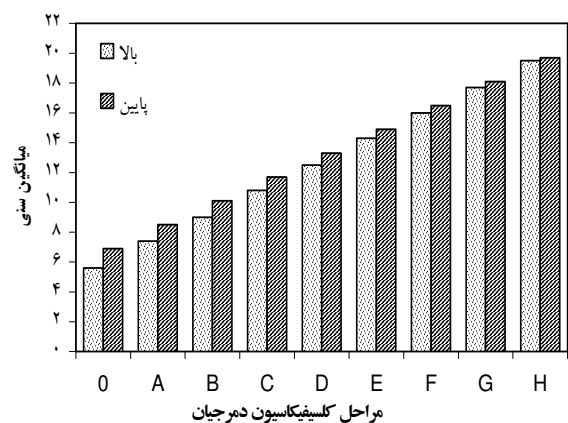
جدول ۳: فاکتورهای آماری مورد بررسی برای تخمین سن از روی رادیوگرافی دندان مولر سوم در فک بالا و پایین

دندان	ضرایب همبستگی	
	اسپیرمن	پیرسون
مولر سوم فک بالا	زن	۰/۸۱
	مرد	۰/۷۴
مولر سوم فک پایین	زن	۰/۸۰
	مرد	۰/۸۳

فرمول رگرسیون	خطای تخمین سن	فاکتورهای آماری مورد بررسی	
		موقعیت دندان عقل	جنس
$Y=6/17+1/68X$	$\pm 0/07$	فک بالا	زن
$Y=5/63+1/73X$	$\pm 0/15$		مرد
$Y=7/4+1/47X$	$\pm 0/05$	فک پایین	زن
$Y=6/86+1/61X$	$\pm 0/08$		مرد



نمودار ۲: میانگین سنی بدست آمده برای زنان ایرانی در هر یک از مراحل کلسیفیکاسیون دمرجیان



نمودار ۱: میانگین سنی به دست آمده برای مردان ایرانی در هر یک از مراحل کلسیفیکاسیون دمرجیان

جدول ۴: ضریب وابستگی شاخص دمرجیان در برآورد سن تقویمی از روی مولر سوم فک بالا و پایین در هر دو جنس زن و مرد در نژاد ایرانی

فک پایین		فک بالا		موقعیت دندان مولر سوم	
مرد	زن	مرد	زن	جنس	مراحل تکامل
۶/۵-۷/۲ (۶/۹)	۷/۱-۷/۶ (۷/۴)	۴/۹-۶/۴ (۵/۶)	۵/۸-۶/۵ (۶/۲)	عدم معنی شدن به صورت لوسنی	 0
۸-۸/۹ (۸/۵)	۸/۶-۹/۲ (۸/۹)	۶/۴-۸/۳ (۷/۴)	۷/۴-۸/۳ (۷/۸)	تشکیل مینای نوک کلسب به صورت ناپیوسته	 A
۹/۵-۱۰/۶ (۱۰/۱)	۱۰-۱۰/۷ (۱۰/۳)	۸-۱۰/۱ (۹)	۹-۱۰ (۹/۵)	تکمیل مینای نوک کلسب به صورت پیوسته	 B
۱۱/۱-۱۲/۳ (۱۱/۷)	۱۱/۴-۱۲/۲ (۱۱/۸)	۹/۶-۱۲ (۱۰/۸)	۱۰/۶-۱۱/۸ (۱۱/۲)	شروع تشکیل عاج تاج	 C
۱۲/۶-۱۴ (۱۳/۳)	۱۲/۸-۱۳/۷ (۱۳/۳)	۱۱/۲-۱۳/۹ (۱۲/۵)	۱۲/۲-۱۳/۵ (۱۲/۹)	تکمیل مینا و عاج تاج	 D
۱۴/۱-۱۵/۷ (۱۴/۹)	۱۴/۲-۱۵/۲ (۱۴/۷)	۱۲/۸-۱۵/۸ (۱۴/۳)	۱۳/۸-۱۵/۳ (۱۴/۶)	شروع تشکیل ریشه	 E
۱۵/۷-۱۷/۴ (۱۶/۵)	۱۵/۸-۱۷/۸ (۱۶/۲)	۱۴/۳-۱۷/۷ (۱۶)	۱۵/۴-۱۷ (۱۶/۲)	روند تشکیل طول ریشه	 F
۱۷/۲-۱۹/۱ (۱۸/۱)	۱۷/۱-۱۸/۳ (۱۷/۷)	۱۵/۹-۱۹/۵ (۱۷/۷)	۱۷/۱-۱۸/۸ (۱۷/۹)	تکمیل طول ریشه با آپکس باز	 G
۱۸/۷-۲۰/۷ (۱۹/۷)	۱۸/۵-۱۹/۸ (۱۹/۲)	۱۷/۵-۲۱/۴ (۱۹/۵)	۱۸/۷-۲۰/۵ (۱۹/۶)	بسته شدن آپکس	 H

## بحث

مطالعه حاضر نشان‌دهنده دقت روش دمرجیان در تعیین سن می‌باشد. کوشی و همکاران در هندوستان مطالعه‌ای مشابه روی ۱۸۴ نفر در جنوب هند انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که تخمین سن به روش دمرجیان در هند جنوبی فاقد دقت لازم می‌باشد. آنها علت عدم موفقیت روش دمرجیان در تخمین سن را وجود تنوع نژادی زیاد در بین هندیان دانستند و با توجه به اثر نژاد بر روی تکامل دندانی نتوانستند نتیجه قابل قبولی از تحقیق خود داشته باشند (۸). در حالی که نتایج تحقیقات حاضر حاکی از این مسئله است که با وجود تنوع قومی در ایران اختلاف نژادی در حدی نیست که نتوان به نتیجه ثابتی دست یافت.

در ژاپن آران و همکاران همین تحقیق را روی ۱۲۸۲ پانورامیک از بیماران ژاپنی انجام دادند. آنها به این نتیجه رسیدند که تخمین سن به روش دمرجیان در ژاپنی‌ها از دقت کافی برخوردار است. این یافته با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. از آنجا که این تحقیق به درخواست پزشک قانونی ژاپن برای محدوده سنی خاص ۱۴ تا ۲۱ سال انجام شده است بررسی دقت روش دمرجیان در مراحل 0, A, B کلسیفیکاسیون به علت بالا بودن محدوده سنی تحت مطالعه معنی‌دار نبوده است (۴) در حالی که در تحقیق حاضر چون محدوده سنی از ۵ سال به بالا در نظر گرفته شده است تمامی مراحل 0 و A تا H معنی‌دار بوده است. نتایج به دست آمده از مطالعه روی نژاد ژاپنی در مراحل C تا H با نتایج گزارش شده از مطالعه مشابه روی نژاد ایرانی در همان مراحل یکسان نمی‌باشد که نشان دهنده تأثیر نژاد بر کلسیفیکاسیون دندانی است. در نژاد ژاپنی در هر دو فک بالا و پایین در تمام مراحل، تکامل دندان ۸ در مردان سریع‌تر از زنان رخ داده در صورتی که در نژاد ایرانی همان‌طور که در جدول ۴ نشان داده شده است تنها در مورد فک بالا مردان از نظر سن تکامل دندان ۸ جلوتر از زنان هستند ولی در فک پایین از چنین قانون مشخصی پیروی نمی‌شود. از طرف دیگر با مقایسه سن کلسیفیکاسیون در هر یک از مراحل در نژاد ژاپنی و ایرانی می‌توان به این

نتیجه رسید که سن معدنی شدن دندان عقل در جوانان ایرانی در تمام مراحل کلسیفیکاسیون کمتر از نژاد ژاپنی است. که این مطالب نیز تأیید کننده نظریه تأثیر نژاد بر تکامل دندانی می‌باشد. شاید بتوان با بررسی دقیق‌تر در این مورد نقش عوامل محیطی، اقلیمی و یا موضعی را نیز در آن به اثبات رساند.

کولمن و همکاران دقت روش دمرجیان برای تخمین سن را روی تکامل ریشه در جوانان اسکاندیناویا بررسی کردند (۹). آنها به این نتیجه رسیدند که بین زنان و مردان در سن کلسیفیکاسیون در مراحل تکمیل ریشه یعنی مراحل E, F, G, H اختلاف ناچیزی وجود دارد. اما در نژاد ایرانی کمترین اختلاف سنی در مرحله H دندان مولر سوم فک بالا دیده می‌شود. میانگین سنی در مرحله شروع تشکیل ریشه (E) در جوانان اسکاندیناوی ۱۵ سال و در جوانان ایرانی حدود ۱۴/۵ سال گزارش شده است در حالی که مرحله تکمیل ریشه (H) در جوانان اسکاندیناوی حدود ۲۰ سال و در جوانان ایرانی حدود ۱۹/۵ سال می‌باشد. بنابراین سن شروع و تکمیل ریشه در نژاد اسکاندیناویا تقریباً مشابه نژاد ایرانی می‌باشد و تنها اختلاف ناچیزی بین این دو وجود دارد که اثبات کننده نقش نژاد در تکامل دندانی می‌باشد.

گانست و همکاران در مطالعه‌ای روی ۲۵۱۳ بیمار بلژیکی دقت روش دمرجیان برای تخمین سن از روی تکامل ریشه را مورد بررسی قرار دادند (۷). آنها به این نتیجه رسیدند که بین زنان و مردان در سن کلسیفیکاسیون در مراحل تکمیل ریشه یعنی مراحل E, F, G, H اختلاف معنی‌داری وجود دارد. این یافته با نتایج حاضر مطابقت داشت. سن همه بیماران در مرحله تکمیل ریشه بیشتر از ۱۸ سال گزارش شده است در حالی که در نژاد ایرانی از حدود مرحله G به بعد بالاتر از ۱۸ سال می‌باشد که نشان می‌دهد جوانان ایرانی از نظر سن کلسیفیکاسیون دندان ۸ نسبت به جوانان بلژیکی جلوتر هستند که اثبات کننده تأثیر نژاد در تکامل دندانی است.



این تحقیق نتیجه گرفته شده که تقدم و تأخر تکامل دندان‌های مولر سوم در فک بالا نسبت به پایین در زنان و مردان ایرانی به صورت مشابه نمی‌باشد. همچنین بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان گفت که سن تکامل دندان ۸ در بین زنان و مردان ایرانی در تمام مراحل یکسان نبوده است و در فک بالا از نظر سن تکامل دندان ۸ در تمام مراحل، مردان جلوتر از زنان می‌باشند ولی در مورد فک پایین در مراحل 0, A, B, C مردان جلوتر و در مراحل E, F, G, H زنان جلوتر و در مرحله D دارای سن مشابهی می‌باشند.

### تشکر و قدردانی

از خانم دکتر روشنگر غفاری و آقای دکتر مسعود فیض‌بخش که در انجام این تحقیق کمک شایانی نموده‌اند کمال تشکر را داریم.

سولاری و همکاران در اسپانیا مطالعه‌ای را بر روی سن دندانی با استفاده از روش دمرجیان انجام دادند. آنها به این نتیجه رسیدند که سن کلسیفیکاسیون دندان ۸ در مردان اسپانیایی در هر دو فک بیشتر از زنان می‌باشد (۱۰) که این نتیجه در فک پایین برای نژاد ایرانی صادق نمی‌باشد. در نژاد اسپانیایی در تمام مراحل در هر دو جنس فک بالا از فک پایین جلوتر است، هر چند این نتیجه در مورد مردان ایرانی قابل تعمیم است ولی در زنان ایرانی غیر قابل استناد می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیقات نیز تأثیر نقش نژاد در تکامل دندانی را اثبات می‌کند (۱۰).

### نتیجه

با توجه به تحقیق انجام شده دقت روش دمرجیان برای تخمین سن جوانان ایرانی معتبر بوده و از دقت بالایی برخوردار است و نتایج گزارش شده قابل اعتماد می‌باشد. در

### Summary

#### Radiographic Survey of Third Molars Development in Relation to Chronological Age in Iranian Population

Sheykhi M., D.D.S.<sup>1</sup>, Ghodoosi A., D.D.S.<sup>2</sup>, Ghadipasha M., M.D.<sup>3</sup>, Safaiyan M., D.D.S.<sup>4</sup>

1. Assistant Professor, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran 2. Assistant Professor, School of Dentistry, Khorasgan Islamic Azad University, Khorasgan, Iran. 3. Assistant Professor of Legal Medicine, Legal Medicine Organizations, Kerman, Iran 4. Dentist

**Introduction:** Age estimation is one of the important issues for treatment planning and determination of patient's rights in forensic medicine. In spite of various methods which have been introduced for age estimation, there is still no specific practical, non-invasive, and rapid method of age estimation for Iranian population. The aim of this study was to find a precise criteria for age estimation in Iranian native population based on the development of the maxillary and the mandibular third molar teeth.

**Methods:** In this study 750 panoramic radiographs which were taken from 1993 to 2006 and belonged to healthy persons between 5.5-25 years old were collected in 5 different cities. Our criteria for selection of the cities was based on racial and geographic distribution and access to high amount of the cases. The cities were Isfahan, Ahvaz, Mashhad, Kerman and Tabriz. One hundred and fifty radiographs were collected from each city. The radiographs were randomly divided between two radiologists who independently evaluated the development of the mandibular and the maxillary third molar teeth based on Demergian calcification criteria. Statistical analysis was performed by Spearman and Pearson coefficient of correlations.

**Results:** From 750 panoramic radiographs 535 (70%) and 215 (30%) belonged to females and males respectively. According to the results, in both genders, there is a significant difference between the upper and

lower jaws regarding to the tooth development of the third maxillary molar ( $P < 0.05$ ). So that, upper third molars in male people were calcified faster in all Demirjian phases in comparison with female ones.

**Conclusion:** Demirjian formation stages is applicable for age estimation in Iranian population. The age of calcification was not similar in male and females that shows the role of gender on teeth calcification stage.

**Key word:** Forensic medicine, Third molar calcification, Tooth development, Iranians, Chronological age

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2007; 14(3): 195-202*

## منابع

۱. باصفا، م، (مترجم): مباحث عمومی ارتودنسی نوین. تألیف: پروفیت و، فیلدز ه: چاپ سوم، مشهد، انتشارات بهسرو. ۱۳۸۱، ص ۹۹.
۲. فقیه، منزوی بابک: تعیین معیارهای تخمین سن جسد بر اساس پارامترهای دندانی در اجساد ۲۵ تا ۶۰ ساله و مقایسه آن با سن تقویمی اجساد و مدل گوستاوسن. پایان‌نامه دکترای عمومی دندان پزشکی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان. ۱۳۸۰.
۳. قیقانی، ق (مترجم): دندانپزشکی کودکان و نوجوانان. تألیف: مک‌دونالد، ر، آوری، د، چاپ هشتم. تهران، انتشارات شایان نمودار. ۱۳۸۴، ص ۱۸۹.
4. Arany S, Iino M, Yoshioka N. Radiographic survey of third molar development in relation to chronological age among Japanese Juveniles. *J Forensic Sci* 2004; 49(3): 534-8.
5. Chaillet N, Demirjian A. Dental maturity in south France: A comparison between Demirjian's method and Polynomial functions. *J Forensic Sci* 2004; 49(5): 1059-64.
6. Demirjian A, Goldestein H, Tanner JM. A new system of dental age assessment. *Hum Biol* 1973; 45(2): 211-27.
7. Gunst K, Mesotten K, Carbonez A, Willems G. Third molar root development in relation to chronological age: a large sample sized retrospective study. *Forensic Sic Int* 2003; 136(1-3): 52-7.
8. Koshy S, Tandon S. Dental age assessment: the applicability of Demirjian's method in South Indian Children. *Forensic Sci Int* 1998; 94(1-2): 73-85.
9. Kullman L, Johanson G, Akesson L. Root development of the lower third molar and its relation to chronological age. *Swed dent J* 1992; 16(4): 161-7.
10. Solari AC, Abramovitch K. The accuracy precision of third molar development as an indicator of chronological age in Hispanics. *Forensic Sci* 2002; 47(3): 531-5.

## بررسی ارتباط بین متریت بعد از زایمان با مایع آمنیون آغشته به مکونیوم

دکتر زهره سالاری<sup>۱\*</sup>، دکتر مهدیه رنجبر<sup>۲</sup> و دکتر مریم رنجبر<sup>۲</sup>

### خلاصه

مقدمه: عفونت رحمی یکی از علل افزایش موربیدیته مادر پس از زایمان است که علل مستعدکننده متعددی برای بروز آن مطرح گردیده است. با توجه به احتمال همراهی بین دفع مکونیوم جنین و ابتلا مادر به متریت و با توجه به اهمیت عارضه متریت در مادر، این مطالعه در زمینه ارتباط دفع مکونیوم توسط جنین و ابتلای مادر به متریت پس از زایمان صورت گرفت.

روش: در این مطالعه مقطعی و تحلیلی که در سال ۱۳۸۴ در بخش زنان و مامایی بیمارستان افضل پور انجام شد، ۱۵۰ خانم باردار با مایع آمنیون شفاف و ۱۵۰ نفر با مایع آمنیون آغشته به مکونیوم که سن حاملگی بالای ۳۷ هفته داشتند از نظر ابتلای به متریت پس از زایمان مقایسه گردیدند.

یافته‌ها: سطح تحصیلات مادران، تعداد حاملگی، میانگین دفعات معاینه واژینال، نحوه زایمان و میانگین وزن نوزادان در دو گروه اختلاف آماری معنی‌داری نداشت اما میانگین سنی مادران و آپگار نوزادان متولد شده در دو گروه تفاوت آماری معنی‌داری داشت، به گونه‌ای که میانگین سن مادران با مایع آمنیوتیک آغشته به مکونیوم بیشتر و آپگار نوزادان آنها کمتر از مادران با مایع آمنیوتیک شفاف بود. میزان ابتلا به متریت پس از زایمان در افراد با مایع آمنیون شفاف کمتر از افراد با مایع آمنیون آغشته به مکونیوم بود (۲/۷ درصد در مقابل ۱۰ درصد) که این اختلاف از نظر آماری نیز معنی‌دار بود ( $P=0/014$ ).

نتیجه‌گیری: در این مطالعه بروز متریت در گروه با مایع آمنیون شفاف به طور معنی‌داری کمتر از گروه با مایع آمنیون آغشته به مکونیوم بود که نشان‌دهنده اهمیت دفع مکونیوم در بروز عفونت پس از زایمان بوده و مراقبت‌های دقیق برای پیشگیری از بروز آن را می‌طلبد.

واژه‌های کلیدی: آندومتریت، مایع آمنیوتیک شفاف، مایع آمنیوتیک آغشته به مکونیوم

۱-استادیار بیماری‌های زنان و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی کرمان ۲-پزشک عمومی

\* نویسنده مسؤل، آدرس: بخش زنان و زایمان، بیمارستان افضل پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان • آدرس پست الکترونیک: Zohreh\_salari@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۴/۲۸ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۶/۲/۲۴ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۳/۹

## مقدمه

با وجود گذشت حدود ۷۰ سال از ورود به عصر آنتی‌بیوتیک‌ها، عفونت‌های دستگاه تناسلی همچنان تهدیدی شایع و گاه خطرناک برای زنان، پس از زایمان به شمار می‌روند. هرچند که در زمینه کنترل عفونت پس از زایمان پیشرفت‌های قابل ملاحظه‌ای رخ داده است، ولی هنوز هم عفونت چهارمین علت شایع مرگ و میر مادران محسوب می‌شود.

شایع‌ترین علت تب پس از زایمان عفونت رحم است که در حدود ۱ تا ۳ درصد، پس از زایمان واژینال و تا ۲۷ درصد موارد، پس از عمل سزارین (حتی در صورت درمان آنتی‌بیوتیک پیشگیرانه) رخ می‌دهد (۴،۸،۹). آندومتریت یکی از مهم‌ترین عوارض تب‌دار در خانم‌ها پس از زایمان می‌باشد. تب پس از زایمان به درجه حرارت ۳۸ درجه سانتیگراد یا بیشتر در ۱۰ روز اول پس از زایمان به جز ۲۴ ساعت اول اطلاق می‌گردد. یافته‌های بالینی همراه که تشخیص آندومتریت را تأیید می‌کنند، حساسیت رحمی، وجود ترشح بدبو و لکوسیتوز (۳۰۰۰۰-۱۵۰۰۰ سلول در میکرولیتر) می‌باشند (۶،۸).

در مورد علل مستعدکننده عفونت رحمی پس از زایمان، فاکتورهای متعددی از قبیل نحوه زایمان، طولانی شدن مدت پارگی پرده‌ها، معاینات واژینال متعدد و کوریوآمینونیوت مطرح شده‌اند (۶،۱۶). یکی از عواملی که در برخی مطالعات به ارتباط آن با عفونت رحمی اشاره شده است، دفع مکنونیوم توسط جنین می‌باشد که می‌تواند همراه با عفونت حین زایمان و بعد از زایمان باشد (۳،۱۱،۱۵،۱۶). در یک سری مطالعات که طی سال‌های ۲۰۰۳-۲۰۰۰ انجام شده است، میزان بروز متریته پس از زایمان در گروه با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم بیشتر گزارش شده است (۷،۱۰،۱۱،۱۶). در مطالعه‌ای دیگر که در سال ۱۹۹۹ انجام شده بر شروع آنتی‌بیوتیک پروفیلاکسی در افراد با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم (با توجه به احتمال بیشتر بروز متریته در این افراد) تأکید شده است (۲).

چند مکانیسم برای بروز عفونت پس از زایمان به دنبال

دفع مکنونیوم پیشنهاد شده است به عنوان مثال از بین رفتن خواص آنتی‌باکتریال مایع آمنیون به دنبال دفع مکنونیوم که نهایتاً باعث تقویت رشد باکتری‌ها می‌گردد. به علاوه، مهار عملکرد فاگوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها به علت نقص پاسخ ایمنی میزبان در موارد دفع مکنونیوم نیز به عنوان یک علت مطرح شده است (۵،۱۸). مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم در ۷ تا ۲۲ درصد حاملگی‌ها و بیشتر در حاملگی‌های ترم یا پست ترم رخ می‌دهد (۱۸) دفع مکنونیوم در گذشته نشانه‌ای از زجر جنینی در نظر گرفته می‌شد که فقط در واکنش به هیپوکسی رخ می‌دهد (۶،۱۵). ولی امروزه مشخص شده است که دفع مکنونیوم در اکثر موارد تظاهراتی از بلوغ طبیعی دستگاه گوارش است، یا در نتیجه تحریک عصب واگ در اثر تحت فشار قرار گرفتن بند ناف رخ می‌دهد. با وجود این دفع مکنونیوم را هنوز هم نشانه‌ای از پیامد نامطلوب پری‌ناتال می‌دانند. دفع مکنونیوم در مایع آمنیون در غلظت‌های متفاوت کم (mild)، متوسط (moderate) و زیاد (thick) ظاهر می‌شود (۶).

اگرچه عوارض نوزادی همراه با دفع مکنونیوم به طور وسیع بررسی شده‌اند و اقداماتی نیز برای درمان عوارضی همچون سندرم آسپیراسیون مکنونیوم پیشنهاد شده است (۴)، اما تأثیر آن بر مادران کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. اهمیت احتمال همراهی بین دفع مکنونیوم و عفونت بعد از زایمان و این که عفونت بعد از زایمان باعث عوارض جدی در مادر از قبیل خونریزی‌های طولانی مدت و احتمال سپسیس مادری و در مجموع، افزایش ناتوانی مادر می‌شود، نگارندگان را بر آن داشت تا مطالعه‌ای در زمینه ارتباط دفع مکنونیوم و متریته بعد از زایمان انجام دهند تا در صورت وجود ارتباط بین این دو، در افرادی که مایع آمنیون آنها آغشته به مکنونیوم می‌باشد، آنتی‌بیوتیک پروفیلاکسی حتی در زایمان‌های واژینال شروع شود (۱۸).

## روش بررسی

این مطالعه از نوع مقطعی و تحلیلی بود که در سال ۱۳۸۴ در بخش زنان و مامائی بیمارستان افضل‌پور شهر کرمان

## نتایج

از نظر سطح تحصیلات، بیشتر مادران با مایع آمنیون شفاف، تحصیلات زیردیپلم و دیپلم و بیشتر مادران در گروه دوم تحصیلات در حد دیپلم داشتند و از لحاظ آماری اختلاف معنی داری بین دو گروه وجود نداشت ( $P=0/318$ ).  
از نظر نحوه زایمان (زایمان واژینال یا سزارین) نیز بین دو گروه به لحاظ آماری اختلاف معنی داری وجود نداشت ( $P=0/81$ ).

مقایسه میانگین سن، سن حاملگی، تعداد حاملگی و سنوات تحصیل بین دو گروه مادران، در مورد دو متغیر سن و تعداد حاملگی بین دو گروه تفاوت معنی داری را نشان داد، به گونه‌ای که میانگین این دو متغیر در مادران با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم بیش از مادران با مایع آمنیون شفاف بود (جدول ۱). میانگین دفعات معاینه واژینال قبل از زایمان در گروه اول ۴/۴۱ و در گروه دوم ۴/۸۶ بود که اختلاف آماری معنی داری بین دو گروه وجود نداشت ( $P=0/291$ ).

همانطور که جدول ۲ نشان می‌دهد، ۲/۷ درصد مادران با مایع آمنیون شفاف و ۱۰ درصد مادران با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم به متریت مبتلا شدند که اختلاف آماری معنی داری از نظر ابتلا به متریت بین دو گروه وجود داشت ( $P=0/016$ ). گرچه بین غلظت مکنونیوم در مایع آمنیون با ابتلا به متریت ارتباط معنی دار آماری وجود نداشت ( $P=0/31$ ) اما در بین مادرانی که غلظت مکنونیوم در مایع آمنیون آنها کم، متوسط و زیاد بود به ترتیب ۴/۵، ۱۰/۷ و ۱۴ درصد مبتلا به متریت شده بودند که بیانگر افزایش درصد متریت به دنبال افزایش غلظت مکنونیوم است (جدول ۳).

در بررسی علائم متریت در افراد مبتلا، تمامی این افراد تب، ۳/۱۵ درصد خونریزی واژینال بیش از حد، ۳۱/۵ درصد رحم جمع نشده، ۴۷/۳ درصد حساسیت شکمی و ۶۳/۱ درصد ترشحات واژینال داشتند. در این بررسی تب و ترشحات واژینال شایع‌ترین علائم در مادران مبتلا به متریت بودند.

انجام شد. جمعیت مورد مطالعه ۳۰۰ خانم باردار با سن حاملگی ۳۷-۴۲ هفته بودند که جهت زایمان در بخش زنان و مامائی بستری و بر اساس معاینه واژینال در دو گروه ۱۵۰ نفره، شامل کسانی که مایع آمنیون شفاف داشته و کسانی که مایع آمنیون آنها آغشته به مکنونیوم بود، قرار گرفتند. حجم نمونه با توجه به نتایج مطالعات مشابه و با در نظر گرفتن  $P1=0/03$  و  $P2=0/15$  و با استفاده از فرمول محاسبه حجم نمونه برای مقایسه نسبت‌ها در دو گروه مستقل، در هر گروه ۱۰۵ نفر برآورد گردید که برای افزایش توان مطالعه به ۱۵۰ نفر در هر گروه افزایش یافت. مشخصات افرادی که برای زایمان مراجعه نموده و در زایشگاه بستری شده بودند، در فرم جمع‌آوری اطلاعات وارد شده و یکی از پژوهشگران در روزهای دوم تا دهم پس از زایمان بدون اطلاع از این که آیا فرد مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم داشته یا خیر، بیمار را از نظر علائم متریت (شامل تب، حساسیت رحمی، وجود لوشیای بدبو، جمع نشدن رحم (Subinvolution) و خونریزی واژینال شدید) معاینه و نتایج را ثبت می‌کرد. این بررسی در افراد ساکن شهر کرمان به دلیل تسهیل دسترسی به آنها انجام شد. شماره تلفن و آدرس منزل از بیمار گرفته شده و هنگام مرخص شدن به بیمار توصیه می‌شد که برای معاینه به بیمارستان افضل‌پور مراجعه نماید. در صورت عدم مراجعه، دو نوبت به بیمار یادآوری می‌شد و در صورتی که با وجود یادآوری مجدد، بیمار مراجعه نمی‌نمود از مطالعه حذف می‌شد.

سن حاملگی ۳۷ هفته یا بیشتر و شروع دردهای زایمانی به عنوان معیارهای ورود به مطالعه و تب ۳۸ درجه سانتی‌گراد یا بیشتر، آبریزی بیش از ۲۴ ساعت، سن حاملگی کمتر از ۳۷ هفته و آنمی مادر به عنوان معیارهای خروج از مطالعه در نظر گرفته شد.

برای مقایسه نسبت عفونت در دو گروه از آزمون مجذور کای یا آزمون دقیق فیشر (در صورت لزوم) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون t استفاده شد.

میانگین وزن نوزادان در گروه اول ۳۰۰۸ و در گروه دوم ۲۸۹۶ گرم بود و این اختلاف معنی‌دار نبود ( $P=0/126$ ). میانگین آپگار نوزادان در گروه مادران با مایع آمنیون شفاف ۸/۴۱ و در گروه مادران با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم ۷/۸۱ بود که اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه وجود داشت ( $P=0/001$ ).

جدول ۱: مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های فردی در دو گروه مادران مورد مطالعه

نتیجه آزمون t	مایع آغشته به مکنونیوم	مایع آمنیون شفاف	ویژگی‌ها / گروه
$P=0/042$	۲۷/۲۲	۲۵/۷۴	سن مادر (سال)
$P=0/153$	۳۸/۴	۳۸/۲۷	سن حاملگی (هفته)
$P=0/008$	۲/۵۷	۲/۰۶	تعداد حاملگی
$P=0/135$	۱۰/۴۹	۹/۷۷	سنوات تحصیلی (سال)

جدول ۲: مقایسه متريت بين مادران با مایع آمنیون شفاف و مادران با مایع آغشته به مکنونیوم

جمع		آغشته به مکنونیوم		شفاف		مایع آمنیون / متريت
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۹۳/۷	۲۸۱	۹۰	۱۳۵	۹۷/۳	۱۴۶	ندارد
۶/۳	۱۹	۱۰	۱۵	۲/۷	۴	دارد
۱۰۰	۳۰۰	۱۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۱۵۰	جمع

$X^2=6.80$   $df=1$   $P=0/016$

جدول ۳: ارتباط متريت با غلظت مکنونیوم در مایع آمنیون در مادران با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم

جمع		زیاد		متوسط		کم		غلظت مکنونیوم / متريت
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۹۰	۱۳۵	۸۶	۴۳	۸۹/۳	۵۰	۹۵/۵	۴۲	ندارد
۱۰	۱۵	۱۴	۷	۱۰/۷	۶	۴/۵	۲	دارد
۱۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	۱۰۰	۵۶	۱۰۰	۴۴	جمع

$X^2=2.37$   $df=2$   $P=0/31$

## بحث و نتیجه گیری

عفونت‌های دستگاه تناسلی تهدیدی برای سلامت مادران پس از زایمان به شمار می‌روند که سبب افزایش موربیدیت مادران می‌شوند. یکی از این عفونت‌ها متریت پس از زایمان است که علل مستعدکننده متعددی از جمله نحوه زایمان، طولانی شدن مدت پارگی پرده‌ها، معاینات واژینال متعدد، کوریوآمینونیت و ... برای ابتلاء مادر به آن ذکر شده است (۱۶). با توجه به این که در برخی مطالعات بر افزایش میزان عفونت پس از زایمان در افراد با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم اشاره شده (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۸، ۳)، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط دفع مکنونیوم در مایع آمنیون با ابتلای مادران به متریت انجام شد. در مطالعه حاضر ۱۵۰ نفر خانم با مایع آمنیون شفاف و ۱۵۰ نفر با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم که در بخش زنان و مامایی بیمارستان افضل‌پور بستری و وضع حمل واژینال یا سزارین داشتند در طی ۱۰ روز اول پس از زایمان از نظر ابتلا به متریت مورد بررسی قرار گرفتند.

بین گروه‌بندی سن مادران در دو گروه مورد مطالعه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود داشت اما میانگین سنی در دو گروه بین ۳۰-۲۰ سال بود که این محدوده سنی فاکتور مستعدکننده متریت محسوب نمی‌شود. از نظر سطح تحصیلات بین دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت بنابراین می‌توان گفت افراد دو گروه به لحاظ اجتماعی تقریباً از موقعیت مشابهی برخوردار بودند. از نظر سن حاملگی و میانگین دفعات معاینه واژینال نیز بین دو گروه تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت. اگرچه میانگین تعداد حاملگی در گروه مایع آمنیوتیک مکونیال (۲/۵۷)، بیشتر از گروه مایع آمنیون شفاف (۲/۰۶) بود اما این تفاوت از نظر بالینی اهمیتی ندارد. آپگار نوزادان متولد شده در دو گروه تفاوت آماری معنی‌داری داشت که نشان‌دهنده اهمیت دفع مکنونیوم در کاهش آپگار نوزادان می‌باشد. با توجه به این که در این مطالعه از نظر نحوه زایمان (واژینال یا سزارین) در دو گروه تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت بنابراین نمی‌توان آن را به عنوان عامل مداخله‌گر در

افزایش متریت در گروه با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم تلقی نمود.

در این مطالعه میزان بروز متریت در گروه با مایع آمنیون شفاف ۲/۷ درصد و در گروه دوم ۱۰ درصد بود که این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار بود. از طرفی درصد ابتلا به متریت در گروه مادران با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم با افزایش غلظت مکنونیوم افزایش یافته است. از مکانیسم‌های احتمالی مطرح شده در این زمینه می‌توان به کاهش خواص آنتی‌باکتریال مایع آمنیون در صورت دفع مکنونیوم و در نتیجه تقویت رشد باکتری‌ها و نیز نقص پاسخ ایمنی میزبان در جهت مهار عملکرد فاگوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها در موارد دفع مکنونیوم اشاره کرد. می‌توان گفت با توجه به شرایط اجتماعی - اقتصادی جامعه ما نیز دفع مکنونیوم توسط جنین در زمان زایمان می‌تواند فاکتور مهمی در پیش‌بینی احتمال بروز عفونت پس از زایمان باشد.

در مطالعات مشابهی که توسط سوزان (Susan) و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۱۸)، Allahyar و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۳)، Kalis و همکاران در سال ۲۰۰۰ (۱۱) و Piper و همکاران در سال ۱۹۹۸ (۱۶) بر روی مادران با مایع آمنیون شفاف و آغشته به مکنونیوم صورت گرفته است نیز بروز متریت در گروه با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم بیشتر گزارش شده است (به ترتیب ۱ در مقابل ۱/۷ درصد، ۳ در مقابل ۷/۱ درصد، ۳ در مقابل ۱۰ درصد و ۵ در مقابل ۱۰ درصد). علاوه بر این در بعضی از این مطالعات افزایش غلظت مکنونیوم همراه با افزایش میزان عفونت، گزارش گردیده است (۱۶، ۱۸).

در مطالعه دیگری که توسط Jazayeri و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام شده، ارتباط واضحی بین مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم و اندومتریت گزارش شده است (۱۰). در مطالعه‌ای که توسط Mazar و همکاران در سال ۱۹۹۸ انجام شده مرگ‌ومیر نوزادی بالاتری در زایمان‌های بین ۳۶-۳۲ هفته با دفع مکنونیوم (۶/۱ درصد) در مقایسه با

نوزادان با مایع آمنیون شفاف (۱/۲ درصد) وجود داشته است (۱۴).

در مطالعه Markovitch و همکاران در سال ۱۹۹۳ نیز نقش دفع مکنونیوم در بروز متریت ثابت شده، به طوری که موربیدیت اندومتریت در موارد دفع مکنونیوم (۵۲/۸ درصد) بالاتر از خانم‌های گروه کنترل (۳۷/۱ درصد) بوده است (۱۲). Linda در سال ۲۰۰۳ نیز متریت پس از زایمان را یک علت مهم ناتوانی پس از سزارین گزارش کرد و تأکید نمود که آنتی‌بیوتیک پروفیلاکسی این خطر را کاهش می‌دهد (۸). اما در مطالعه‌ای دیگر که توسط Edward در سال ۱۹۹۹ انجام شده آمینوآنتی‌بیوتیک با یک آنتی‌بیوتیک مثل سفازولین تغییر محسوسی در کاهش میزان آندومتریت در افراد با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم ایجاد نکرد (۷). از طرفی در مطالعه Adair و همکاران در سال ۱۹۹۶ بروز اندومتریت پس از زایمان در افراد با مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم که آمپی‌سیلین سولباکتام به

صورت پروفیلاکسی دریافت کرده بودند کاهش یافت (۲).

در مجموع با ارزیابی نتایج مطالعه حاضر و سایر مطالعات مشابه، می‌توان گفت در افرادی که مایع آمنیون آغشته به مکنونیوم دارند علاوه بر پایش دقیق قلب جنین در زمان زایمان و مراقبت نوزاد پس از زایمان، باید مادران نیز تحت مراقبت‌های دقیق پس از زایمان قرار گرفته و اقدامات پیشگیرانه جهت کاهش بروز عفونت پس از زایمان در آنها به عمل آید. یکی از اقدامات مؤثر، تجویز آنتی‌بیوتیک پروفیلاکسی می‌باشد که در مطالعات بعدی می‌توان اثر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف را در این افراد بررسی نمود تا آنتی‌بیوتیک ارجح برای کاهش هرچه بیشتر متریت تعیین شود و گامی ارزشمند در زمینه کاهش موربیدیت مادران پس از زایمان برداشته شود.

## Summary

### The Comparison of Maternal Endometritis in Meconium – Stained Amniotic Fluid and Clear Amniotic Fluid

Salari Z., M.D.<sup>1</sup>, Ranjbar M., M.D.<sup>2</sup>, Ranjbar M., M.D.<sup>2</sup>

1. Assistant Professor of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. 2. General Practitioner

**Introduction:** Metritis is one of the causes of maternal morbidity and there are many risk factors for it. Because of the importance of possible association of meconium-stained amniotic fluid and maternal metritis the present study was done to determine whether meconium stained amniotic fluid (MSAF) is associated with puerperal infection.

**Methods:** In this case-control study 150 women with MSAF and 150 women with clear amniotic fluid (gestational age > 37 weeks) were compared for puerperal metritis.

**Results:** Subjects' educational level, gestational age, gravida, mean vaginal exams, route of delivery and mean neonatal weight were not significantly different between the two groups. But mean maternal age and neonatal Apgar were significantly different in the two groups. That is, post partum metritis in women with clear amniotic fluid occurred less than women with MSAF (2.7% vs 10%, P<0.014).

**Conclusion:** Since meconium stained amniotic fluid is associated with metritis, special care in this regard is recommended.

**Key Words:** Metritis, clear amniotic fluid, meconium stained amniotic fluid

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2007; 14(3): 203-209*



## References

1. Alan H, Decherncy and Martin L, Pernoll: Current obstetric and gynecology, 9<sup>th</sup> ed, London, pretice, 2000; pp: 284.
2. Adair CD, Ernest JM, Sanchez-Romas L, Burrus DR, Boles ML, Veille JC. Meconium stained amniotic fluid-associated infectious morbidity: a randomized, double-blind trial of ampicillin-sulbactam prophylaxis. *Obsstet Gynecol* 1996; 80(2): 216-20.
3. Allahyar Jazayer, Mary K. Jazayeri, Mary K. Jazayeri, ARNP, Michelle Sahinler, MD and Terry Sincich, PhD. Is meconium passage a risk factor for maternal infection in term pregnancies? *Green Journal* 2003; 99: 548.
4. Calhoun BC, Brost B. Emergency management of sudden puerperal fever. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1995; 22(2): 357-67.
5. Clark P, Duff P. Inhibition of neutrophil oxidative burst and phagocytosis by meconium. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173(4): 1301-5.
6. Cunnighom Gant, Leveno Gilstrap: Williams obstetrics and gynecology, 21<sup>st</sup> ed. NewYork, Mc Graw-Hill, 2001; Chap 5, PP: 101-102, 105. Chap 31, PP: 814. Chap 26, PP: 673-677.
7. Edwards RK, Duff P. Prophylactic cefazolin in amniotusions administered for meconium-stained amniotic fluid. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1999; 7(3): 153-7.
8. French L. Prevention and treatment of postpartum endometritis. *Curr Women's Health Rep* 2003; 3(4): 274-9.
9. Hawrylyshyn PA, Bernstein P, Papsin FR. Risk factors associated with infection following cesarean section. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 139(3): 294-8.
10. Jazayeri A, Jazayeri MK, Sahinler M, Sincich T. Is Meconium passage a risk factor for maternal infection in term pregnancies. *Obstet Gynecol* 2002; 99(4): 548-52.
11. Kalis V, Turek J, Hudec A, Rokyta P, Rokyta Z, Mejchar B. Meconium and its significance. *Ceska Gynecol* 2000; 65 (6): 477-82.
12. Markovitch O, Mazor M, Shoham-Vardi I, Chaim W, Leiberman JR, Glezerman M. Meconium stained amniotic fluid is associated with maternal infectious morbidity in preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993; 72(7): 538-42.
13. Maymon E, Chaim W, Furman B, Ghezzi F, Shoham Vardi I, Mazor M. Meconium stained amniotic fluid in very low risk pregnancies at term gestation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 80(2): 169-73.
14. Mazor M, Hershkovitz R, Bashiri A, Maymon E, Schreiber R, Dukler D, et al. Meconium-stained amniotic fluid in preterm delivery is an independent risk factor for perinatal complications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 81(1): 9-13.
15. Nelson R.M., Stromquist C.I, Wyble L.E. Newborn assessment and care. In: Saia S.D, Hammond, Spellacy (Eds.), Danforth's obstetrics and gynecology. 8<sup>th</sup> ed., NewYork, Lippincott, William and Wilkins 1999; P134.
16. Piper JM, Newton ER, Berkus MD, Peairs WA. Meconium: a marker for peripartum infection. *Obstet Gynecol* 1998; 91(5 pt 1): 741-5.
17. Stoll B.J, Kliegman R.M. Respiratory tract disorders. In: Behrman, Kliegman, Jenson (Eds.), Nelson Textbook of pediatrics. 17<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Pennsylvania, 2004; Vol 1., PP583-4.
18. Tran SH, Caughey AB, Music TJ. Meconium-stained amniotic fluid is associated with puerperal infections. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189(3): 746-50.



## اثر تزریق وانکومایسین از طریق مجرای کاتتر در پیشگیری از عفونت وابسته به کاترهای همودیالیز

دکتر حشمت‌اله شهبازیان<sup>۱\*</sup> و دکتر مریم حدادزاده شوشتری<sup>۲</sup>

### خلاصه

مقدمه: گذاشتن کاتترهای دولومنه همودیالیز یک روش مناسب برای دسترسی فوری و موقت به راه عروقی برای انجام همودیالیز و حفظ وریدهای محیطی برای ایجاد راه عروق دائمی شریانی-وریدی می‌باشد. متأسفانه عفونت‌های وابسته به کاتتر شایع و عامل بالقوه ناتوانی و مرگ در تعدادی از بیماران بوده و هزینه‌بر می‌باشد. در این مطالعه اثر تجویز وانکومایسین از طریق مجرای کاتتر بر عفونت‌های وابسته به کاتتر در گروهی از بیماران دیالیزی مورد بررسی قرار گرفت.

روش: در این مطالعه ۱۰۰ بیمار با نارسایی کلیه نیازمند به کاتترهای دولومنه وریدی نصب شده در وریدهای جوگولار یا ساب کلاوین در مدت ۶ ماه بطور تصادفی به دو گروه دریافت کننده وانکومایسین (۱۰۰۰ میلی گرم) در حین کارگذاری کاتتر از طریق مجرای کاتتر و گروه بدون دریافت آنتی بیوتیک تقسیم شدند. میزان و نوع عفونت، اثر مدت زمان باقی ماندن کاتتر، تعداد دیالیز در هفته، محل کاتتر و طول خروجی کاتتر از پوست در دو گروه مورد بررسی قرار گرفت. از آزمون Chi-square برای مقایسه نسبت‌های دو گروه و ارتباط سنجی استفاده شد.

یافته‌ها: عفونت وابسته به کاتتر در ۶ بیمار (۶٪ بیماران) دیده شد که ۲ بیمار در گروه دریافت کننده وانکومایسین (۴٪ بیماران) و ۴ بیمار در گروه بدون دریافت آنتی‌بیوتیک (۸٪ بیماران) بودند ( $P=0/05$ ). از نظر زمان بروز عفونت، ۳۳/۳٪ عفونت‌ها در هفته اول و ۱۶/۷٪ در هفته دوم و ۵۰٪ در هفته سوم اتفاق افتاد. ارتباط آماری معنی‌داری بین مدت زمان باقی ماندن کاتتر و میزان عفونت دیده نشد. همچنین میزان خارج بودن کاتتر از پوست و محل کاتتر و تعداد دیالیز در هفته ارتباط معنی‌داری با میزان عفونت نداشت. در تمام موارد میکروارگانیزم جدا شده استافیلوکوک بود.

نتیجه‌گیری: از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که تزریق وانکومایسین داخل لومن کاتتر تأثیری بر جلوگیری از عفونت وابسته به کاتتر ندارد.

واژه‌های کلیدی: راه عروقی، وانکومایسین، همودیالیز

۱- استادیار بیماری‌های کلیه، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی اهواز ۲- متخصص داخلی

\* نویسنده مسؤول، آدرس: بخش نفرولوژی، بیمارستان گلستان، دانشگاه علوم پزشکی اهواز • آدرس پست الکترونیک: Shahbazian\_he@yahoo.com

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۶/۱/۲۰ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۳/۹

## مقدمه

کاتترهای همودیالیز دولومنه در وریدهای مرکزی بیماران دچار نارسایی کلیه نصب می شوند. عمل کاتترگذاری و مدت زمان باقی ماندن کاتترها گاهی مستلزم عوارض جدی از جمله عوارض عفونی است که مشکل ناشیایی نیست و عامل بالقوه ناتوانی و مرگ در تعدادی از بیماران بوده و هزینه بر است (۶). در خیلی از مطالعات میزان عفونت وابسته به کاتترهای بدون کاف ۲ تا ۴ مورد به ازاء هر ۱۰۰۰ روز وجود کاتتر گزارش شده است (۵). استفاد کو آگولاز منفی شایع ترین عامل عفونت مرتبط با کاتتر می باشد (۵/۸). گرچه هنگام نصب چنین کاتترهایی به صورت روتین از مواد ضد عفونی کننده در محل نصب کاتتر استفاده می شود، اما با وجود استفاده از این مواد هنوز احتمال عفونت وابسته به کاتتر وجود دارد. در مطالعه انجام شده توسط Maki و همکاران نشان داده شد که استفاده از پروویدون آیودین (بتادین) در پیشگیری از عفونت کاتترهای وریدی مرکزی مؤثر است (۴). همچنین در مطالعه انجام شده توسط Veenstra و همکاران نشان داده شد که استفاده از کاتترهای ورید مرکزی آغشته به مواد آنتی سپتیک باعث کاهش بروز عفونت خونی، کاهش مرگ و میر و کاهش هزینه درمان می شود (۱۰). اگرچه در بعضی مطالعات تجویز آنتی بیوتیک سیستمیک مانع ایجاد عفونت وابسته به کاتتر نشده (۳) ولی با توجه به مطرح شدن احتمال تأثیر استفاده از آنتی بیوتیک های سیستمیک در پیشگیری از عفونت وابسته به کاتترهای همودیالیز در برخی مطالعات دیگر (۲)، در این مطالعه سعی شده است با رفع بعضی نقائص در روش استفاده از آنتی بیوتیک که در مطالعات قبلی وجود داشته (مانند تزریق آنتی بیوتیک مدتی پس از نصب کاتتر و تزریق از طریق ورید محیطی) نقش تزریق بلافاصله وانکومايسين از طریق مجرای کاتتر در پیشگیری از عفونت وابسته به کاتتر بررسی شود.

## روش بررسی

در این مطالعه ۱۲۸ بیمار مبتلا به نارسایی مزمن کلیه بستری در بخش نفرولوژی بیمارستان گلستان اهواز که نیازمند دیالیز و نصب کاتتر دولومنه همودیالیز بودند مورد مطالعه قرار گرفتند. بیمارانی وارد مطالعه می شدند که قبل از نصب کاتتر از آنتی بیوتیک استفاده نکرده بودند و حین نصب کاتتر شرایط استریل کاملاً رعایت شده بود و شواهد عفونت در جای دیگری از بدن بیمار وجود نداشت. این بیماران بطور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند (بیماران به ترتیب ورود به مطالعه کدگذاری شده و بیماران دارای کد فرد در گروه با تجویز آنتی بیوتیک و بیماران دارای کد زوج در گروه بدون تجویز آنتی بیوتیک قرار می گرفتند). و به یک گروه ۱۰۰۰ میلی گرم وانکومايسين (۳) حین نصب کاتتر از طریق لومن کاتتر تزریق شد و به گروه دوم آنتی بیوتیک تزریق نشد. فرد قرار دهنده کاتتر از ماسک، گان، دستکش استریل و شان استفاده می نمود. محل نصب کاتتر با بتادین ضد عفونی شده و با پوشش استریل پوشانده می شد. پس از هر بار دیالیز محل خروج کاتتر با بتادین ۱۰ درصد استریل شده و مجدداً با گاز پوشانده می شد. برای حفظ بازماندن کاتتر، هر لومن توسط ۳۵۰۰ واحد هپارین بعد از هر بار دیالیز پر می شد و از کاتتر فقط برای همودیالیز استفاده می شد. ۲۸ بیمار به دلیل بروز عفونت در جای دیگری از بدن، استفاده از آنتی بیوتیک پس از نصب کاتتر و یا عدم پی گیری تا انتهای مطالعه از مطالعه حذف شدند. در صورت وجود ضرورت خروج کاتتر، دو سانتی متر انتهایی کاتتر خارج شده، به روش آسپتیک بریده شده و فوراً برای کشت فرستاده می شد. در صورت وجود قرمزی و ترشح چرکی در محل خروج کاتتر یا در صورت بروز تبی که منشاء دیگری (در جای دیگری از بدن) نداشت کاتتر خارج می شد. کشت خون در تمام بیماران تب دار انجام می شد. مدت باقی ماندن کاتتر حداکثر سه هفته بود. میزان عفونت در هفته اول، دوم و سوم بطور جداگانه مورد بررسی قرار می گرفت. راهنمایی هایی که بیماران برای پی گیری نیاز داشتند به صورت مکتوب در اختیار آنها قرار

داده شد. از آزمون Chi-square برای مقایسه نسبت‌های دو گروه و ارتباط سنجی استفاده شد.

## نتایج

در این مطالعه ۱۰۰ بیمار دچار نارسایی کلیه که نیازمند نصب کاتتر همودیالیز بودند مورد بررسی قرار گرفتند. محدوده سنی این بیماران ۲۱-۷۵ سال با میانگین سنی ۵۰ سال بود. از ۵۰ بیمار مورد بررسی ۶۰ نفر زن و ۴۰ نفر مرد بودند. شیوع کلی عفونت وابسته به کاتترهای همودیالیز در گروهی که وانکومايسين پروفیلاکتیک دریافت نکرده بودند ۸٪ و در گروهی که وانکومايسين پروفیلاکتیک دریافت کرده بودند ۴٪ بود ( $P=0/05$ ) که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نیست. بروز عفونت وابسته به کاتترهای همودیالیز در هفته اول پس از کاتترگذاری ۳۳/۳٪، در هفته دوم ۱۶/۷٪ و در هفته سوم ۵۰٪ بود ( $P=0/07$ ). از شش موردی که دچار عفونت وابسته به کاتتر شدند، ۴ مورد کاتتر در ورید جوگولار و ۲ مورد در ورید ساب کلاروین نصب شده بود ( $P=0/05$ ). در تمامی موارد گزارش شده عامل ایجاد عفونت وابسته به کاتتر استافیلوکوک بود. هر شش مورد بیماری که دچار عفونت وابسته به کاتتر شده بودند نیازمند سه بار دیالیز در هفته بودند و از میان ۱۰۰ بیمار مورد بررسی تنها چهار مورد دو بار در هفته دیالیز می‌شدند که هیچ یک از این چهار مورد در سه هفته‌ای که پی‌گیری شدند دچار عفونت وابسته به کاتتر نشدند ( $P=0/08$ ).

در ۲۴ بیمار کاتتر اصلاً خارج از پوست نبود، در ۱۰ بیمار ۰/۵ سانتی‌متر، در ۵۶ بیمار ۱ سانتی‌متر و در بقیه بیماران بیش از ۱ سانتی‌متر کاتتر خارج از پوست بود. در تمام مواردی که عفونت وابسته به کاتتر گزارش شد، حداقل یک سانتی‌متر از کاتتر از پوست خارج بود ( $P=0/06$ ).

## بحث

مهم‌ترین هدف در این مطالعه بررسی نقش تزریق

وانکومايسين از طریق مجرای کاتتر در پیشگیری از عفونت وابسته به کاتترهای همودیالیز بود. در این مطالعه نتیجه گرفته شد که تزریق وانکومايسين از طریق مجرای کاتتر نقشی در پیشگیری از عفونت وابسته به کاتتر ندارد. در مطالعه مشابهی نیز که در سال ۱۹۹۹ صورت گرفته است همین نتیجه به دست آمده اگر چه در مطالعه مذکور کم بودن دوز وانکومايسين (تزریق ۵۰۰ میلی‌گرم در برخی موارد) و تزریق از طریق ورید محیطی به عنوان عوامل احتمالی در بی‌تأثیر بودن نقش وانکومايسين ذکر شده‌اند (۳) اما با وجود رفع این معایب در مطالعه حاضر یعنی تزریق ۱۰۰۰ میلی‌گرم وانکومايسين و تزریق از طریق مجرای کاتتر باز هم وانکومايسين در پیشگیری از عفونت بی‌تأثیر بود. از طرفی در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۰ توسط Bock و همکاران صورت گرفته است هیچ موردی از سپسیس در دریافت‌کنندگان آگزاسیلین (oxacillin) به صورت پیشگیری از عفونت در مقایسه با گروه‌های تحت درمان پلاسبو و تعویض‌های مکرر کاتتر در افراد تحت ایمونوتراپی با IL-6 که دارای کاتتر دولومنه بودند گزارش نشده است (۲) که شاید دلیل تفاوت نتیجه این مطالعه با مطالعه حاضر تفاوت نوع بیماری زمینه‌ای افراد تحت بررسی و وجود اختلال ایمنی در افراد تحت مطالعه مذکور باشد که خود عامل خطری برای عفونت محسوب می‌شود. شیوع کلی عفونت وابسته به کاتتر در مطالعه حاضر در گروهی که وانکومايسين پروفیلاکتیک دریافت نکرده بودند ۸٪ و در گروهی که دریافت کرده بودند ۴٪ بود که این نتیجه مشابه مطالعات قبلی است (۱). قابل ذکر است که در مراکز دیگر کاتتر در یک اتاق مخصوص (renal unit) کار گذاشته می‌شود در حالی که در مطالعه حاضر کاتتر در یک اتاق با امکانات معمول در بخش نفرولوژی کار گذاشته می‌شد و با وجود این شیوع عفونت در این مطالعه تفاوتی با مطالعات قبلی نداشته است. لذا به نظر نمی‌رسد نصب کاتتر نیاز به اتاق عمل یا مکان خاص دیگری داشته باشد.

گرچه در مطالعات قبلی احتمال عفونت وابسته به کاتتر رابطه مستقیم با مدت باقی ماندن کاتتر داشته (۲) ولی در

کاتتر بوده به ویژه که این مورد در سایر مطالعات بررسی نشده است. شاید به این دلیل که در آن مراکز همیشه امکان دسترسی فوری به کاتتر با اندازه متناسب برای بیمار وجود دارد ولی در مراکز ما همیشه این امکان وجود ندارد و گاهی ما ناچار به استفاده از کاتترهایی می‌شویم که لازم است چند سانتی‌متر آن خارج از پوست باشد. در مطالعه حاضر طولی از کاتتر که خارج از پوست بود ارتباطی با ریسک عفونت نداشت.

### نتیجه‌گیری

از مطالعه حاضر، چنین نتیجه‌گیری می‌شود که در بیماران اورمیکی که کاتترهای همودیالیز دولومنه در وریدهای مرکزی آنها نصب شده، به کار بردن وانکومايسين از طریق لومن کاتتر حین نصب کاتتر هیچ نقش محافظتی علیه عفونت‌های وابسته به کاتتر ندارد. با توجه به این که کم بودن تعداد موارد عفونت وابسته به کاتتر یک عامل محدودکننده در نتیجه مطالعه حاضر بوده است پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی تعداد بیشتری از بیماران مورد مطالعه قرار گیرند.

مطالعه حاضر شیوع عفونت در هفته اول و دوم و سوم تفاوت آماری معنی‌داری نداشت که شاید دلیل این تفاوت کم بودن تعداد بیماران دچار عفونت مورد بررسی بوده است. شیوع عفونت در مطالعه حاضر به محل کاتتر (جوگولار یا ساب‌کلاوین) بستگی نداشت که این نتیجه مشابه سایر مطالعات است (۲). شایع‌ترین میکروب عامل عفونت وابسته به کاتتر در مطالعه حاضر استافیلوکوک بود که مشابه سایر مطالعات است (۲،۷،۹). در این پژوهش تصمیم بر این بود که ارتباط تعداد دیالیزهای انجام شده با عفونت کاتتر که در مطالعات قبلی بررسی نشده بود مورد بررسی قرار گیرد اما با توجه به اینکه اکثر بیماران نیازمند سه بار دیالیز در هفته بودند و امکان کم کردن تعداد دیالیزهای هفتگی برای ایجاد دو گروه همسان به منظور مقایسه وجود نداشت این مورد قابل بررسی نبود. اگرچه از چهار بیماری که به دلیل عدم همکاری دو بار در هفته دیالیز می‌شدند هیچ یک دچار عفونت وابسته به کاتتر نشدند. با توجه به این که احتمال می‌رفت با بیشتر شدن طولی از کاتتر که از پوست خارج است و ممکن است با فلور پوست در تماس باشد احتمال عفونت وابسته به کاتتر افزایش یابد، یکی از اهداف مطالعه حاضر بررسی ارتباط طولی از کاتتر که خارج از پوست بود با عفونت وابسته به

### Summary

#### The Impact of Intraluminal Vancomycin Administration on Prevention of Hemodialysis Catheter-Related Infections

Shahbazian H., M.D.<sup>1</sup>, Hadadzadeh M., M.D.<sup>2</sup>

1. Assistant Professor of Nephrology, Ahwaz Jondishapoor University of Medical Sciences, Ahwaz, Iran. 2. Internist

**Introduction:** Percutaneously inserted double-lumen central venous hemodialysis catheters provide the nephrologist with an excellent temporary access for an immediate hemodialysis treatment and preserve the peripheral veins for the future creation of a permanent arteriovenous vascular access. Unfortunately catheter-related infections are usually common. In this study, the impact of intra luminal vancomycin administration on catheter-related infections in a group of hemodialyzed patients has been investigated.

**Method:** A total of 100 patients with renal failure requiring hemodialysis by way of double-lumen central venous catheters inserted into the internal jugular or subclavian vein in 6 months period, were randomly divided into two groups of receiving a single intravenous dose of 1000 mg of vancomycin during catheter

insertion and no antibiotics. The rate of infection, in situ duration of the initial catheter, number of dialysis sessions per week, site of catheter, length of the catheter which was outside of the skin, catheter tip cultures and the presence of systemic infections related to the catheter, were recorded for every patient. The study period was terminated when the initial catheter was changed or removed for any reason.

**Results:** Catheter-related infection was observed in 6 patients: 2 patients (4%) in the first group who received vancomycin and 4 patients (8%) in the second group who received no antibiotic ( $P= 0.05$ ). In regard to infection, 33.3% of the infections occurred in the first week after catheter insertion, 16.7% in the second week and 50% in the third week and there was no association between the duration of catheter fixation and infection ( $P= 0.7$ ). The type of the catheter (jugular or subclavian) and the length of the catheter which was outside of the skin had not any effect on the catheter infection ( $P= 0.5$  and  $P= 0.6$  respectively). In all cases infection was due to staphylococcus.

**Conclusion:** It can be concluded that in uremic patients, a single intravenous dose of vancomycin during the insertion of a double-lumen hemodialysis catheter into the internal jugular or subclavian vein has no effect on prevention of catheter-related infections.

**Key words:** Vascular Access, Vancomycin, Hemodialysis

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2007; 14(3): 211-215*

## References

1. Besarab A, Raja M. Vascular access for hemodialysis. In: Daugirdas J, Blake P, Todd S (Editors), Handbook of Dialysis. 3<sup>rd</sup> ed., Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001; PP67-102.
2. Bock S, Lee RE, Fisher B, Rubin JT, Schwartzentruber DJ, Wei JP, et al. A prospective randomized trial evaluating prophylactic antibiotics to prevent triple-lumen catheter-related sepsis in patients treated with immunotherapy. *J Clin Oncol* 1990; 8(1): 161-9.
3. Konstantionos M, Angeliki K, Soultana T, Elenni T, Kostas S. The impact of vancomycin administration on prevention of hemodialysis catheter-related infections. *Dialysis and Transplantation* 1999; 28: 727-733.
4. Maki DG, Ringer M, Alvarado CJ. Prospective randomised trial of povidone-iodine, alcohol and chlorhexidine for prevention of infection associated with central venous and arterial catheters. *Lancet* 1991; 338(8763): 339-43.
5. Marr KA, Sexton DJ, Conlon PJ, Corey GR, Schwab SJ, Kirkland KB. Catheter – related bacteremia and outcome of attempted catheter salvage in patients undergoing hemodialysis. *Ann Intern Med* 1997; 127(4): 275-280.
6. O'Garday N, Alexander M, Dellinger E, Gerberding JL, Heard SO, Maki DG, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Infect control Hosp Epidemiol* 2002; 23(12): 759-69.
7. Shaffer D. Catheter-related sepsis complicating long-term, tunneled central venous dialysis catheters: management by guidewire exchange. *Am J Kidney Dis* 1995; 25(4): 593-6.
8. Sheretz RJ, Falk RJ, Huffman KA, Thomann CA, Mattern WD. Infections associated with subclavian uldall catheters. *Arch Intern Med* 1983; 143(1): 52-6.
9. Vathada M, Neiberger RE, Pena DR, Fennell RS, Richard GA. Complications of hemodialysis catheters in children. *Dialysis and Transplantation* 1994; 23(55): 240-7.
10. Veenstra DL, Saint S, Sullivan SD. Cost effectiveness of antiseptic- impregnated Central venous catheters for the prevention of catheter-related bloodstream infection. *JAMA* 1999; 282(6): 554-60.





## فراوانی انواع شکایت اصلی بیماران مبتلا به اختلال افسردگی اساسی مراجعه کننده به

### کلینیک‌های روانپزشکی در شهر کرمان

دکتر نوشین پرورش<sup>۱\*</sup>، دکتر علیرضا غفاری نژاد<sup>۲</sup> و دکتر شاهرخ سردارپور گودرزی<sup>۳</sup>

#### خلاصه

مقدمه: تظاهرات جسمانی افسردگی و بیماری‌های شایع روانی گاهی باعث عدم تشخیص صحیح افسردگی می‌شوند. هدف از این پژوهش، بررسی فراوانی انواع شکایت اصلی (chief complaint) بیماران مبتلا به اختلال افسردگی اساسی مراجعه کننده به کلینیک‌های روانپزشکی با توجه به مشخصات جمعیت‌شناختی و منبع ارجاع می‌باشد.

روش: ۲۴۶ بیمار (۱۹۱ زن و ۵۵ نفر مرد) مبتلا به اختلال افسردگی اساسی که به سه روانپزشک در سطح شهر کرمان مراجعه کرده بودند مورد مطالعه قرار گرفتند. سه شکایت اصلی منجر به مراجعه، مشخصات جمعیت‌شناختی و منبع ارجاع ثبت گردید. در تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز مجذور کای و میانگین استفاده گردید.

یافته‌ها: شکایت درد در زنان شایع‌تر از مردان بود در حالی که شکایات جسمانی به غیر از درد و شکایات روانپزشکی در مردان شایع‌تر از زنان بود. بالا رفتن سن و تحصیلات به طور معنی‌داری با افزایش ابراز شکایات روانپزشکی همراه بود ( $P < 0/01$ ،  $P < 0/01$ ). وضعیت تأهل و مدت زمان درگیری بیمار با شکایت اصلی ارتباط معنی‌داری با نوع شکایات بیماران نداشت. در بیماران با شکایات روانپزشکی منبع ارجاع بیمار به ترتیب مراجعه مستقیم خود بیمار، ارجاع توسط پزشکان عمومی و ارجاع توسط پزشکان با تخصص‌های دیگر بود ( $P < 0/01$ ) و در بیماران با شکایت درد منبع ارجاع به ترتیب مراجعه مستقیم خود بیمار، ارجاع توسط پزشکان با تخصص‌های دیگر و در نهایت ارجاع توسط پزشکان عمومی بود.

نتیجه‌گیری: علائم جسمانی در بیماران افسرده شایع است. تفاوت‌های فرهنگی در ابراز نوع شکایت بیمار، وجود انگ اجتماعی در روند مراجعه بیمار به روانپزشک، دانش و نگرش پزشکان عمومی و پزشکان با تخصص‌های غیرروانپزشکی نسبت به اختلال روانی در تشخیص صحیح و به موقع این اختلال نقش دارد. ارتقاء دانش پزشکان عمومی نسبت به اختلال افسردگی اساسی می‌تواند میزان مرگ و میر، اختلال در عملکرد اجتماعی، صرف هزینه و ریسک اقدامات پاراکلینیک غیرضروری را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: اختلال افسردگی، شکایت اصلی، شکایت جسمانی، درد، فرهنگ

۱- استادیار روان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان ۲- دانشیار روان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان ۳- استادیار

روان‌پزشکی دانشگاه شهید بهشتی تهران

\* نویسنده مسؤول، آدرس: گروه روان‌پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان • آدرس پست الکترونیک: [n.Parvaresh@yahoo.com](mailto:n.Parvaresh@yahoo.com)

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۸/۱۱ دریافت مقاله اصلاح شده: ۸۵/۱۲/۲۲ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۳/۹

## مقدمه

طبق آمار سازمان بهداشت جهانی ۱٪ مردم جهان از بیماری روانی شدید و ۱۵-۵٪ از بیماری خفیف رنج می‌برند (۳۴). در ایران ۱/۶٪ جمعیت بالای ۱۵ سال به بیماری روانی شدید و ۱۵/۳٪ به بیماری روانی خفیف مبتلا هستند. در مطالعات دیگر شیوع افسردگی از ۱۱/۹٪ تا ۵۳/۸٪ گزارش شده است (۱،۲). در مطالعه نوربالا در ایران یک پنجم افراد بزرگسال شامل ۲۵/۹٪ زنان و ۱۴/۹٪ مردان با احتمال وجود بیماری روانی ارزیابی شدند. در این مطالعه شیوع اختلال روانی در مناطق روستایی ۲۱/۳٪ و در مناطق شهری ۲۰/۹٪ گزارش شده و افسردگی (۲۱٪) و اضطراب (۲۸٪) شایع بوده است (۲۰). ۶۰٪ بیماران با اختلال روانی در عرض شش ماه حداقل یک‌بار به پزشکان غیرروانپزشک مراجعه می‌کنند و بیماران روانی دو برابر بیماران دیگر به پزشکان عمومی مراجعه می‌کنند (۲۴).

تظاهرات جسمانی افسردگی و بیماری‌های شایع روانی باعث عدم تشخیص صحیح افسردگی و اضطراب در مراقبت‌های بهداشتی اولیه می‌شود و در همه فرهنگ‌ها گزارش شده است (۲۲،۳۱). مطالعات نشان داده که در کشورهای غیرغربی بیماران افسرده علائم جسمانی را بیشتر گزارش کرده و علائم روانشناختی را بیشتر انکار می‌کنند (۲۷). در پژوهشی در روستاهای اطراف بافت کرمان فراوان‌ترین شکایات افراد با اختلالات روانی، شکایات جسمانی بوده است (۳).

عبارات متعددی مثل علائم یا شکایات فیزیکی، شرایط فیزیکی مزمن دردناک، علائم طبی غیراختصاصی (Medically unexplained symptoms)، علائم جسمانی شده (Somatized)، علائم دردناک، جسمانی‌سازی (Somatization)، علائم شبه جسمی (Somatoform)، علائم روان تنی (Masked)، افسردگی پنهان (Masked) برای توصیف علائم جسمانی و درد در افسردگی بیان شده‌اند (۳۱).

در ابزارهای تشخیصی موجود افسردگی، توجه کافی به علائم جسمانی نشده است و تشخیص افسردگی فقط در

صورت وجود علائم روانشناختی در بیمار مطرح می‌گردد (۱۸). وجود انگ (Psychosomatic) اجتماعی در جامعه از طرف بیمار و پزشک در خدمات بهداشتی اولیه، احتمال عدم تشخیص اختلالات روانی را بالا می‌برد. با توجه به این که تقریباً در دو سوم بیماران افسرده، علائم بالینی با علائم بارز جسمانی مثل فقدان انرژی و درد همراه است (۴،۱۵،۲۷،۲۷،۲۹)، تشخیص افسردگی پس از بررسی‌های متعدد برای بررسی وجود بیماری جسمی زمینه‌ای توسط پزشکان مدنظر قرار می‌گیرد (۲۵). درحقیقت تشخیص افسردگی در مواردی که بیماری با شکایات جسمانی تظاهر می‌کند مشکل است (۵،۱۵). علائم جسمانی در گروه‌های خاص افسرده شامل زنان (۶،۲۶) بخصوص خانم‌های حامله (۱۴) سالمندان، افراد با درآمد کم، کودکان، بیماران با مشکلات جسمی همراه (۲۹،۳۵) گزارش شده است.

با افزایش تعداد علائم جسمانی احتمال تشخیص افسردگی در فرد بیشتر می‌شود (۱۱،۱۶،۱۹). شکایاتی که افراد افسرده را از افراد غیر افسرده در مراقبت‌های بهداشتی مشخص می‌کند، شکایات متعدد (بیش از سه عدد)، درد پشت، شکایات گنگ (Stigma)، شکایات غیراختصاصی ماهیچه‌ای - اسکلتی، اختلال خواب، خستگی و کوتاهی نفس می‌باشند (۹).

شیوع مادام‌العمر اختلال افسردگی اساسی ۱۵٪ می‌باشد. دوسوم این افراد اقدام به خودکشی کرده و خودکشی موفق ۱۵٪ موارد را شامل می‌شود (۲۴). با توجه به این که علائم کاهش انرژی - بی‌خوابی، ناامیدی، خلق افسرده کارآیی بیماران را پایین آورده و مشکلات اجتماعی، اقتصادی، فردی، و خانوادگی را در پی دارد تشخیص صحیح و به موقع ضروری است.

برای کمک به تشخیص بهتر افسردگی اساسی در ابتدا می‌بایست وضعیت منطقه را مورد بررسی قرار داد. این پژوهش برای بررسی انواع شکایت اصلی بیماران با افسردگی اساسی که بطور مستقیم به کلینیک‌های روانپزشکی مراجعه کرده یا از طریق پزشکان دیگر به روانپزشک ارجاع داده شده بودند در سطح شهر کرمان انجام

شده است. نتایج می‌تواند به فهم شکایت اصلی عامل مراجعه بیماران افسرده با شکایات متفاوت و انتخاب پزشک توسط بیمار کمک کند.

### روش بررسی

در این پژوهش مقطعی جامعه آماری بیماران مبتلا به اختلال افسردگی اساسی بوده و نمونه شامل بیماران مبتلا به افسردگی اساسی مراجعه کننده به کلینیک‌های روانپزشکی بوده است. تعداد ۲۴۶ بیمار مبتلا به اختلال افسردگی اساسی که به کلینیک‌های روانپزشکی (یک روانپزشک مستقر در کلینیک ویژه بیمارستان دانشگاهی و دو روانپزشک مستقر در مطب خصوصی) مراجعه کرده بودند مورد مطالعه قرار گرفتند.

افراد زن و مرد بالای ۱۵ سال و با تشخیص اختلال افسردگی اساسی با ملاک تشخیصی DSMIV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV) (۲۴) وارد مطالعه شدند. به دلیل وجود اختلاف علامتی در بیماران افسرده با سن پایین نسبت به بالغین افراد زیر ۱۵ سال از مطالعه حذف شدند. افراد با سابقه اختلالات نورولوژیک صرع، میگرن، وجود سیکوز قبلی، افراد مبتلا به اختلالات شبه جسمی و بیماری جسمانی مرتبط با شکایت اصلی از مطالعه حذف شدند.

چون بیماران با شکایات جسمانی قبل از مراجعه به روانپزشک به پزشکان متعدد مراجعه کرده و یا از طریق پزشکان دیگر ارجاع شده بودند و بنابر این اقدامات پاراکلینیک در رابطه با نوع شکایت در مورد آنها صورت گرفته بود، این بیماران پس از ارزیابی کلیه مدارک و معاینه جسمانی و در صورت لزوم بررسی پاراکلینیک تکمیلی برای رد علل ارگانیک وارد مطالعه شدند. هیچیک از بیماران بر اساس معاینه، شرح حال و مدارک پاراکلینیک قبلی نیازی به اسکن، سونوگرافی و اقدامات تهاجمی پاراکلینیک نداشتند. پس از ثبت خصوصیات جمعیت شناختی، شکایت بیماران به ترتیبی که بیمار اظهار می‌کرد ثبت گردید. منظور از شکایت اصلی سه شکایت اولیه اظهار

شده توسط بیمار، در زمان مراجعه به روانپزشک بوده است. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از روش آنالیزی مجذور کای، میانگین و نرم‌افزار SPSS-۱۲ استفاده شد.

### نتایج

از مجموع ۲۴۶ بیمار با اختلال افسردگی اساسی با میانگین سنی  $38 \pm 13/5$ ، ۱۹۱ نفر (۷۷/۶٪) زن و ۵۵ نفر (۲۲/۴٪) مرد بودند.

میزان تحصیلات در سه گروه (۰-۵)، (۶-۱۲) و (۱۶-۱۳) سال با فراوانی  $41/6\%$ ،  $45/3\%$  و  $13/1\%$  دسته‌بندی شده است. مراجعین با شکایت درد  $30/9\%$  موارد را تشکیل می‌دادند و  $31/9\%$  با شکایات جسمانی غیر از درد شامل علائم مربوط به سر (۷/۱٪) مثل سوزش و سبکی سر، شکایات جسمانی غیر اختصاصی (۱۴/۵٪) مثل مورمور شدن، بیحسی، داغ شدن بدن و سایر شکایات (۱۰/۳٪) مثل تپش قلب، تنگی نفس مراجعه کردند. شکایات روانپزشکی مثل اضطراب و بی‌خوابی در  $37/2\%$  مراجعین وجود داشت. شکایت درد در زنان شایع‌تر از مردان بوده و شکایات روانپزشکی و شکایات جسمانی به غیر از درد در مردان شایع‌تر از زنان بود ولی تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. با بالا رفتن تحصیلات میزان شکایات روانپزشکی بالاتر رفته و شکایت درد و شکایات جسمانی به غیر از درد در سطح تحصیلات پایین و بی‌سواد شایع‌تر بود ( $P < 0/001$ ) جدول (۱).

مراجعه مستقیم بیمار با فراوانی ۴۱٪ شایع‌ترین منبع مراجعه در بیماران با شکایت روانپزشکی بود و پس از آن ارجاع به ترتیب توسط پزشکان عمومی (۲۴/۵٪) و پزشکان با تخصص‌های دیگر به غیر از روانپزشکی (۱۸/۸٪) صورت گرفته بود ( $P < 0/001$ ). در افراد با شکایت درد بیشترین منبع ارجاع به ترتیب پزشکان با تخصص‌های غیر از روانپزشکی (۵۲/۱٪) و پزشکان عمومی (۳۷/۷٪) بود و مراجعه مستقیم بیمار،  $36/4\%$  موارد را شامل می‌شد که تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. در افراد با شکایات جسمانی غیر از درد شایع‌ترین منبع ارجاع به ترتیب

تفاوت از نظر آماری معنادار نیست. زمانی که شکایت درد و علائم جسمانی به غیر از درد را با هم با شکایات روانپزشکی مقایسه کنیم اختلاف از نظر آماری معنادار بوده است ( $P < 0/01$ ) جدول (۲).  
مدت زمان درگیری بیمار با شکایات اصلی و وضعیت تأهل ارتباط معنی داری با نوع شکایت اصلی نداشت.

پزشکان عمومی (۳۷/۷٪) متخصصان رشته‌های دیگر (۲۹/۲٪) و مراجعه مستقیم بیمار (۲۲/۶٪) بود ( $P < 0/01$ ).  
با بالا رفتن سن شکایت درد شایع‌تر بوده است، به طوری که در سنین ۱۵-۳۰ سال ۳۶/۴٪ و در بالای ۴۵ سال ۳۹/۵٪ موارد درد گزارش شده است. شکایات روانپزشکی در سنین ۱۵-۳۰ و بیشتر از ۴۵ سال، ۴۱/۲٪ و ۴۰/۳٪ موارد و بالای ۴۶ سال در ۲۸/۹٪ موارد گزارش شده، که

جدول ۱: فراوانی انواع شکایات اصلی بیماران افسرده مراجعه‌کننده به کلینیک‌های روانپزشکی

در گروه‌های با سطح تحصیلات متفاوت

P	کل	بیشتر از ۱۲	۶-۱۲	۰-۵	میزان تحصیلات (سال)
					نوع شکایت
<0/001	۱۲۵	۱۳	۴۶	۶۶	شکایات جسمانی به جزء درد
	٪۲۵	٪۱۹/۷	٪۲۳/۴	٪۲۷/۷	
	۱۹۱	۲۱	۶۵	۱۰۵	درد
	٪۳۸/۹	٪۳۱/۸	٪۳۳	٪۴۴/۱	
	۱۸۵	۳۲	۸۶	۶۷	شکایات روانپزشکی
	٪۳۶/۹	٪۴۸/۵	٪۴۳/۷	٪۲۸/۲	
	۵۰۱	۶۶	۱۹۷	۲۳۸	کل
	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	

جدول ۲: فراوانی انواع شکایات اصلی بیماران افسرده مراجعه‌کننده به کلینیک‌های روانپزشکی در گروه‌های سنی مختلف

P	کل	۴۶-۱۰۰	۳۱-۴۵	۱۵-۳۰	سن (سال)
					نوع شکایت
<0/01	۳۱۷	۱۰۸	۱۱۷	۹۲	شکایات جسمانی
	٪۶۲/۸	٪۷۱/۱	٪۵۸/۸	٪۵۹/۷	
	۱۸۸	۴۴	۸۲	۶۲	شکایات روانپزشکی
	٪۳۷/۲	٪۲۸/۹	٪۴۱/۲	٪۴۰/۳	
	۵۰۵	۱۹۹	۱۵۲	۵۰۵	کل
	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	

## بحث

تعداد بیشتر زنان مراجعه کننده افسرده در این پژوهش به کلینیک‌های روانپزشکی (۷۷/۶٪) نسبت به مردان (۲۲/۴٪) با شیوع دو برابر اختلال افسردگی اساسی زنان نسبت به مردان در جامعه مطابق می‌باشد ولی با نتایج پژوهش‌های انجام شده در جوامع دیگر مبنی بر مراجعه بیشتر مردان افسرده به پزشک مغایر است (۱۷،۲۴)، که می‌تواند تفاوت‌های فرهنگی در بروز و ابراز علائم را در این اختلال تأیید کند. نسبت حدود ۴ برابر مراجعین زن نسبت به مرد افسرده مراجعه کننده به روانپزشک در دوره زمانی انجام این پژوهش می‌تواند نشان‌دهنده حساسیت کمتر خانم‌ها نسبت به برچسب بیماری روانی و مراجعه به روانپزشک، اطلاعات بیشتر آنها نسبت به این اختلالات و یا پذیرش بهتر این اختلالات از طرف آنان باشد که منجر به مراجعه بیشتر آنها به کلینیک‌های روانپزشکی در این پژوهش در کرمان شده است. این مسأله می‌تواند موضوع پژوهش‌های بعدی در این زمینه باشد.

بیشترین میزان شکایات مراجعه کنندگان مبتلا به اختلال افسردگی شکایات جسمانی (۶۲/۸٪ موارد) بوده است. در مقابل شکایات روانپزشکی مثل اضطراب - بی‌خوابی و خلق افسرده (۳۷/۲٪ موارد) به عنوان شکایت اصلی گزارش شده است.

در هر دو جنس شکایات جسمانی ابراز شده شایع‌تر از شکایات روانپزشکی بوده است. در زنان شکایت درد شایع‌تر از مردان بوده و در مردان شکایات روانپزشکی شایع‌تر از زنان بوده است که با تحقیقات دیگر که شیوع بالاتر افسردگی سوماتیک به همراه دردهای جسمانی را در زنان گزارش کرده‌اند (۱۰،۲۶) مطابقت می‌کند. شکایات جسمانی به غیر از درد در مردان شایع‌تر بوده گرچه تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نیست.

در مطالعه‌ای در پاریس که بر روی بیماران افسرده بستری انجام گرفته مشاهده شده که سردرد و درد قفسه سینه در خانم‌ها و درد عضلاتی و بی‌حسی در مردان شایع‌تر است (۸) که با نتایج پژوهش حاضر قابل انطباق است.

در مطالعات دیگر شکایات جسمانی درد و شکایات جسمانی غیراختصاصی در نصف بیماران افسرده وجود داشته که درصدی از آنها علائم روانشناختی را ابراز نکرده و یا حتی آن را انکار کرده‌اند (۱۵،۲۷،۲۹) و نیز گزارش شده که هر چه تعداد شکایات درد در بیماران بیشتر باشد احتمال وجود اختلال افسردگی اساسی بیشتر است (۱۱،۱۶،۱۹). این مسأله اهمیت توجه به این اختلال را در بیماران مراجعه کننده به پزشکان با تخصص‌های متفاوت نشان می‌دهد.

با بالا رفتن سن به ویژه در افراد بالای ۴۵ سال فراوانی شکایات جسمانی در مقابل شکایات روانپزشکی بیشتر شده است (۰/۰۱ < P). بنظر می‌رسد بالا رفتن سن در بیماران مورد مطالعه مبتلا به اختلال افسردگی اساسی در شکل‌گیری علائم به صورت علائم جسمانی نقش دارد که با پژوهش‌های دیگر در مورد رابطه افسردگی سالمندان با علائم بارز جسمانی مطابق است (۲۴). این موضوع توجه به اختلال افسردگی در سالمندان مراجعه کننده را به عنوان یکی از تشخیص‌های افتراقی مورد تأکید قرار می‌دهد.

سطح تحصیلات در بروز انواع شکایات تأثیر داشته است به طوری که با بالا رفتن تحصیلات میزان ابراز شکایات روانپزشکی در مقابل شکایات درد و شکایات جسمانی به غیر از درد شایع‌تر گزارش شده است (۰/۰۰۱ < P). ممکن است بالا رفتن سطح دانش در چگونگی درک افراد از مسائل خود و شکل‌گیری علائم تأثیر داشته که منجر به تظاهر بیشتر علائم بصورت علائم روانپزشکی در بیماران افسرده این پژوهش بوده باشد.

بیماران با شکایات روانپزشکی در بیشتر موارد شخصاً مراجعه کرده‌اند. بعد از آن بیشترین ارجاع به ترتیب از طرف پزشکان عمومی و متخصصین رشته‌های دیگر بوده است. به نظر می‌رسد بیماران مبتلا به افسردگی که با تظاهرات روانی بروز می‌کنند مشکل کمتری از نظر انتخاب مناسب پزشک برای درمان بیماری خود داشته باشند. درمورد شکایات درد بیشترین ارجاع توسط پزشکان با تخصص‌های دیگر و بعد از آن مراجعه شخصی بیمار و

(۳۳). در نیجریه علائم جسمانی در بیماران افسرده به طور خاص به سر مربوط می‌شود و به صورت احساس گرما، سنگینی و احساس خزیدن زیر پوست سر شایع است (۲۱). در پژوهش فعلی نیز شکایات مربوط به سر در ۳۶ مورد (۷۱٪)، علائم غیراختصاصی مثل مورمور، گزگز، احساس سردی در ۵۲ مورد (۱۰۳٪)، درد در ۱۵۶ مورد (۳۰/۹٪) وجود داشت. در پژوهش‌های بعدی می‌توان بررسی وسیع‌تری روی انواع بارز شکایات جسمانی ذکر شده توسط بیماران افسرده ایرانی انجام داد تا در صورت وجود علائم فرهنگی خاص، گزارش گردد.

تحقیقات در بیماران افسرده مراجعه‌کننده به پزشکان عمومی نشان داده که در صورتی که علائم روانپزشکی در ابتدای مصاحبه جزء ۴ علامت اولیه توسط بیمار ابراز شود احتمال تشخیص درست اختلال افسردگی را توسط پزشک عمومی ۵ برابر بیشتر می‌کند (۳۰). پزشکان شاغل در مراکز خدمات بهداشتی اولیه بیشتر روی علائم ابراز شده (Presenting) توسط بیمار تکیه می‌کنند (۱۳) و در مواردی که بیماری جسمی همراه با اختلال افسردگی وجود نداشته باشد احتمال تشخیص افسردگی توسط پزشکان عمومی بیشتر است (۳۰). با توجه به اینکه ۲۰٪ بیماران مراجعه‌کننده به مراکز خدماتی بهداشتی اولیه دچار علائم افسردگی می‌باشند (۳۵) ارتقاء دانش بالینی تشخیصی و درمانی نسبت به اختلال افسردگی اساسی در پزشکان عمومی ضروری به نظر می‌رسد. نظر به اینکه بیماران روانی که توسط روانپزشکان درمان می‌شوند نگرش بهتری نسبت به مراقبت‌های روانپزشکی دارند تا بیماران روانی که توسط پزشکان عمومی درمان می‌شوند و با توجه به تأثیر این امر در کیفیت درمان و پذیرش درمان‌های روانپزشکی از طرف بیماران در خدمات بهداشتی اولیه (۳۲)، پژوهش‌های مداخله‌ای بعدی می‌تواند در این مسیر راهگشا باشد.

نتیجه این که رویکرد کلی نگر برای تشخیص اختلال افسردگی لازم است و پزشکان در خدمات بهداشتی اولیه لازم است در مواردی که با علائم جسمانی غیراختصاصی، دردهای عمومی و کاهش انرژی مواجه می‌شوند،

ارجاع توسط پزشکان عمومی بوده است. دلیل این امر ممکن است این باشد که پزشکان عمومی افسردگی را در بیماران با شکایت درد تشخیص داده و شخصاً درمان می‌کنند و یا اینکه تشخیص نداده و به همین دلیل ارجاع نمی‌دهند که می‌بایست در پژوهش‌های بعدی مورد بررسی قرار گیرد.

در بیماران با شکایات جسمانی غیر از درد بیشترین ارجاع از طرف پزشکان عمومی، بعد متخصصین رشته‌های دیگر بوده و در رتبه سوم خود بیمار شخصاً مراجعه کرده است. احتمالاً چون شکایات جسمانی به جز درد در بیماران مثل احساس سبکی سر، سوزش سر، تنگی نفس، احساس مورمور شدن و داغ شدن در اکثر موارد با بیماری‌های جسمانی جدی و شایع قابل توجه نیست، بیماران بیش از آن که خود مراجعه کنند توسط پزشکان عمومی و متخصصین رشته‌های دیگر و پس از رد علل ارگانیک به روانپزشک ارجاع داده شده‌اند. ماهیت جسمانی این علائم بیماران افسرده را کمتر به وجود علل روانشناختی برای علائم و مراجعه مستقیم به روانپزشک متوجه می‌کند و این بیماران بیشتر به پزشکان دیگر مراجعه می‌کنند.

اختلال افسردگی شایع و ناتوان‌کننده است و در نیمی از مبتلایان تشخیص داده نمی‌شود (۳۰). وجود علائم جسمانی در اختلال افسردگی اساسی (۲۷، ۲۸، ۲۹، ۴)، تأثیر وجود انگ و فاکتورهای متعدد اجتماعی و فرهنگی در جامعه در مورد مراجعه بیمار به متخصصان بهداشت روانی و گرایش به گزارش دیسترس بصورت علائم جسمانی خاص هر فرهنگ (۲۲، ۲۳، ۲۴، ۳۱)، اکثر بیماران را در ابتدا به سمت متخصصین رشته‌های دیگر و پزشکان عمومی می‌کشاند (۶، ۲۴، ۲۹) و تشخیص صحیح را در این بیماران مشکل می‌کند (۱۴، ۱۷).

علائم خاص جسمانی بیماران افسرده در فرهنگ‌های مختلف، متفاوت است. به عنوان مثال دیسترس شکمی، سردرد، درد گردن، در بیماران افسرده ژاپنی بیشتر از امریکا گزارش می‌شود. به همین دلیل تشخیص اختلال افسردگی اساسی در ژاپن بیشتر با مشکل روبرو بوده است

به جامعه بیشتر باشد، پیشگیری کند (۳۳). پژوهش فعلی می‌تواند راهگشای پژوهش‌های بعدی در بررسی میزان تشخیص اختلال افسردگی اساسی در بیماران مراجعه کننده به پزشکان عمومی و پژوهش‌های مداخله‌ای در بالا بردن آگاهی پزشکان نسبت به این اختلال باشد.

افسردگی را به‌طور جدی مد نظر قرار دهند. آموزش‌های منطبق با طیف کامل علائم افسردگی به همراه بالابردن نگرش و مهارت‌های مشاوره‌ای در مراقبت‌های بهداشتی اولیه کمک کننده است (۴،۷،۱۸،۲۲،۳۱). تشخیص به موقع و مناسب از اقدامات تشخیصی پرهزینه جلوگیری کرده و نیز از ناتوانی و آسیبی که می‌تواند از آسیب بیماری جسمی

## Summary

### The Frequency Distribution of Chief Complaints in Patients with Major Depressive Disorder Referring to Psychiatric Clinics in Kerman

Prarvaresh N., M.D.<sup>1</sup>, Ghafarnejad AR., M.D.<sup>2</sup>, Goodarzi S. Sh., M.D.<sup>3</sup>

1. Assistant Professor of Psychiatrics, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran 2. Associate professor of Psychiatrics, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran 3. Assistant Professor of Psychiatrics, Shaheed Beheshti University, Tehran, Iran

**Introduction:** Physical symptoms associated with depression and common psychiatric disorders sometimes lead to the misdiagnosis of depressive disorders. The aim of this study was to determine the frequency distribution of different chief complaints in patients with major depressive disorder referring to psychiatric clinics according to their demographic characteristics and source of referral.

**Method:** The study was done on 246 depressed patients (191 females & 55 males) visited by three psychiatrists in Kerman. Patients' chief complaints, duration of presenting symptoms, their demographic characteristics and source of referral were recorded and data were analyzed by chi-square.

**Results:** Pain was more prevalent in women, while somatic complaints other than pain and psychiatric complaints were more prevalent in men. Higher educational level and age were significantly associated with higher rate of presenting psychiatric complaints ( $P < 0.001$ ,  $P < 0.01$  respectively). Marital status and duration of symptoms had no significant correlation with the type of somatic complaints. In patients with psychiatric complaints sources of referral were respectively patient's own referring, general practitioners and specialists other than psychiatrists ( $P < 0.001$ ). In patients with pain complaint sources of referral were respectively patient's own referring, specialists other than psychiatrists and general practitioners.

**Conclusion:** Somatic complaints are frequently present in depressed patients. Cultural differences in presenting complaints, stigma in referring to psychiatrists, general practitioners' and specialists' attitudes and knowledge toward psychiatric disorders affect appropriate and early diagnosis of major depressive disorder. Improving the knowledge of general practitioners about depressive disorders decreases mortality rate, social functioning disturbances, unnecessary expenses and the risk of unnecessary clinical procedures in these patients.

**Key word:** Major depressive disorder, Chief compliant, Somatic compliant, Pain, Culture

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2007; 13(4): 217-225*

## منابع

۱. باقری یزدی، عباس. بررسی همه گیرشناسی اختلالات روانی در مناطق روستایی میبد یزد. فصل نامه اندیشه و رفتار، ۱۳۷۳، سال اول، شماره ۳، ص ۹-۳۲.
۲. داویدیان، هاراطون. میزان شیوع افسردگی ها در ایران. مجله نظام پزشکی، ۱۳۷۰، دوره یازدهم، شماره یک، ص ۲۳-۱۴.
۳. معتمدی، هادی و یاسمی محمدتقی: تعیین میزان شیوع اختلالات روانی در دو روستای استان کرمان. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دوره پنجم، شماره ۱، ۱۳۷۶، ص ۶-۳۱.
4. Bair MJ, Robinson RL, Eckert GJ, Stang PE, Corghan TW, Kroenke K. Impact of pain on depression treatment response in primary care. *Psychosom Med* 2004; 66(1): 17-22.
5. Bair MJ, Robinson RL, Katon W, Kroenke K. Depression and pain comorbidity: a literature review. *Arch Intern Med* 2003; 163 (20): 2433-45.
6. Bao Y, Strum R, Croghan TW. A national study of the effect of chronic pain on the use of health care by depressed persons. *Psychiatr Serv* 2003; 54(5), 693-7.
7. Barkow K, Heun R, Ustun TB, Maier W. Identification of items which predict later development of depression in primary health care. *Eru Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2001; 251 suppl 2: 21-6.
8. Corruble E, Guelfi JD. Pain complaints in depressed inpatients. *Psychopathology* 2000; 33 (6): 307-9.
9. Gerber PD, Barrett JE, Barrettt JA, Oxman TE, Manheimer E, Smith R, et al. The relationship of presenting physical complaints to depressive symptoms in primary care patients. *J Gen Intern Med* 1992; 7 (2): 170-3.
10. Hobbs P, Ballinger CB, Greenwood C, Martin B, McClure A. Factor analysis and validation of the general health questionnaire in men: a general practice survey. *Br J Psychiatry* 1984; 144: 270-5.
11. Hotopf M, Mayou R, Wadsworth M, Wessely S. Temporal relationships between physical symptoms and psychiatric disorder. Results from a national birth cohort. *Br J Psychiatry* 1998; 173: 255-61.
12. Katon W, Russo J. Somatic symptoms and depression. *J Fam Pract* 1989; 29(1): 65-9.
13. Kessler D, Lioyd K, Lewis G, Gray DP. Cross sectional study of symptom attribution and recognition of depression and anxiety in primary care. *BMJ* 1999; 318(7181): 436-90.
14. Kelly RH, Russo J, Katon W. Somatic complaints among pregnant women cared for in obstetrics: normal pregnancy or depressive and anxiety symptom amplification revisited? *Gen Hosp Psychiatry* 2001; 23 (3): 107-13.
15. Kirmayer LJ, Robbins JM, Dworkind M, Yaffe MJ. Somatization and the recognition of depression and anxiety in primary care. *Am J Psychiatry* 1993; 150(5): 734-41.
16. Kroenke K, Jackson JL, Chamberlin J. Depressive and anxiety disorders in patients presenting with physical complaints: clinical predictors and outcome. *Am J Med* 1997; 103 (5): 339-47.
17. Mohammadi MR, Davidian H, Noorbala AA, Malekafzali H, Naghavi HR, Pouretamad HR, et al. An epidemiological survey of psychiatric disorders in Iran. *Clin Pract Epidemiol Ment Health* 2005; 26: 1-16.
18. Mumford DB, Saeed K, Ahmad I, Latif S, Mubbashar MH. Stress and psychiatric disorder in rural punjab. A community Survey. *Br J Psychiatry* 1997; 170: 473-8.
19. Nakao M, Yano E. Reporting of somatic symptoms as a screening marker for detecting major depression in a population of Japanese white-collar workers. *J Clin Epidemiol* 2003; 56(10): 1021.



20. Noorbala AA, Bagheri Yazdi SA, Yasamy MT, Mohammad K. Mental health survey of the adult population in Iran. *Br J Psychiatry* 2004; 184: 70-3.
21. Okulate GT, Jones OB. Two depression rating instruments in Nigerian patients. *Niger postgrad Med J* 2002; 9 (2): 74-8.
22. Okulate GT, Olayinka MO Jones OB. Somatic symptoms in depression: evaluation of their diagnostic weight in an African setting. *Br J Psychiatry* 2004; 184: 422-7.
23. Raguram R, Weiss MG, Channabasavana SM, Devins GM. Stigma, depression and somatization in South India. *Am J Psychiatry* 1996; 153(8): 1043-9.
24. Sadock BJ. Synopsis of psychiatry. 9<sup>th</sup> edition, chapter 1, chapter 15 2003; p542-555.
25. Schulberg HC, McClelland M. A conceptual model for educating primary care providers in the diagnosis and treatment of depression. *Gen Hosp Psychiatry* 1987; 9 (1): 1-10.
26. Silverstein B. Gender difference in the prevalence of clinical depression: the role played by depression associated with somatic symptoms. *Am J Psychiatry* 1999; 156(3): 480-482.
27. Simon GE, VonKorff M, Piccinelli M, Fullerton C, Ormel J. An international study of the relation between somatic symptoms and depression. *N Engl J Med* 1999; 341 (18): 1329-35.
28. Smith GR. The epidemiology and treatment of depression when it coexists with somatoform disorders, somatization or pain. *Gen Hosp Psychiatry* 1992; 14 (4): 265-72.
29. Stewart DE. Physical symptoms of depression: unmet needs in special population. *J Clin Psychiatry* 2003; 64 suppl 7: 12-6.
30. Tylee A, Freeling P, Kerry S, Burns T. How dose the content of consultations affect the recognition by general practitioners of major depression in women? *Br J Gen Pract* 1995; 45 (400): 575-8.
31. Tylee A, Gandhi P. The importance of somatic symptoms in depression in primary care. *Prime Care Companion J Clin Psychiatry* 2005; 7 (4): 167-76.
32. Van Voorhees BW, Cooper LA, Rost KM, Nutting , Rubenstein LV, Meredith L, et al. Primary care patients with depression are less accepting of treatment than those seen by mental health specialists. *J Gen Intern Med*, 2003; 18 (12): 991-1000.
33. Waza K, Graham AV, Zyzanski SJ, Inoue K. Comparison of symptoms in Japanese and American depressed primary care patients. *Fam Pract* 1999; 16(5): 528-33.
34. World health organization (WHO). The introduction of a mental health component into primary health care, Geneva, WHO 1990.
35. Zung WW, Broadhead WE, Roth ME. Prevalence of depressive symptoms in primary care. *J Fam Pract* 1993; 37 (4): 337-44.



## گزارش یک مورد لیومیومای مجرای ادراری در یک زن جوان

دکتر علی اصغر کتابچی<sup>۱\*</sup>، دکتر غلامعباس عزیزاللهی<sup>۲</sup> و دکتر حمید تبریزی<sup>۳</sup>

### خلاصه

لیومیومای مجرای ادراری در زنان یافته نادری می باشد که تاکنون تنها ۴۰-۳۵ مورد از آن گزارش شده است. در این گزارش یک زن جوان ۲۰ ساله معرفی می شود که با توده بدون درد در وستیبول واژن، آمیزش دردناک، سوزش ادرار و سابقه دو بار احتباس ادراری مراجعه نمود. در بررسی های بالینی، تصویرنگاری (سونوگرافی و MRI) و سیستوسکوپی، این توده در اطراف مسیر مجرای ادرار کاملاً به داخل مثانه برجستگی پیدا کرده بود. مطالعات هیستوپاتولوژیک، حاکی از لیومیومای مجرا بود و بعد از جراحی و حذف کامل آن تمام علائم بیمار از بین رفت.

واژه های کلیدی: لیومیومای مجرای ادراری، مجرای زنان، احتباس ادراری، دیس پارونیا

### مقدمه

کلیه و مجرای ادراری می باشد (۹-۲). لیومیومای مجرا در زنان نادر می باشد و تاکنون ۴۰-۳۵ مورد گزارش شده ولی با این وجود در زنان شایع تر از مردان می باشد (۷).

لیومیوما توموری خوش خیم با منشأ عضلات صاف می باشد که به ندرت در مجاری ادراری دیده می شود. بیشترین شیوع آن در سیستم ادراری به ترتیب شامل مثانه،

۱- دانشیار جراحی کلیه و مجاری ادراری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان ۲- استادیار جراحی کلیه و مجاری ادراری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳- دانشیار پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

\* نویسنده مسؤول، آدرس: دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان • آدرس پست الکترونیک: [mrketabchi@yahoo.com](mailto:mrketabchi@yahoo.com)

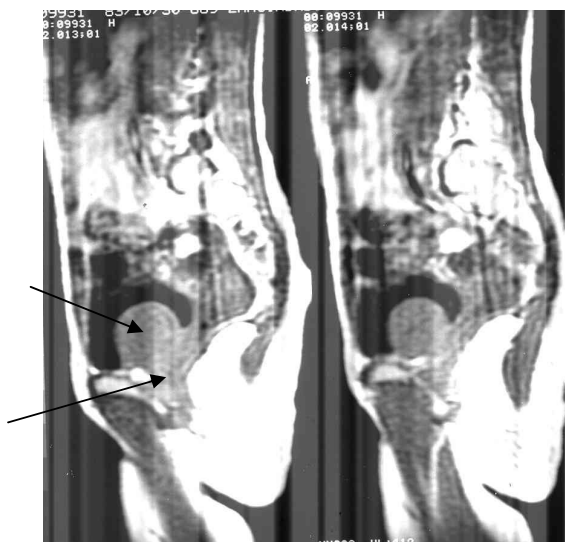
دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۸/۱۸ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۶/۴/۱ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۴/۱۰

سابقه دو بار احتباس ادراری حاد مراجعه کرده بود. در معاینه ناحیه پرینه و وستیبول بیمار کاملاً برجسته و محل مای ادراری به طرف بالا انحراف پیدا کرده بود و در معاینه انگشتی واژینال توده کاملاً صاف و نرم که از جدار قدامی واژن به داخل آن برجسته بود، لمس گردید. در سونوگرافی به عمل آمده توده از جدارهای طرفی مجرا به داخل مثانه گسترش یافته بود. این توده در MRI به اندازه ۲۵×۲۰ سانتی متر بود (شکل ۱ و ۲) که فضای قابل توجهی از داخل مثانه را اشغال کرده بود و بعد از برداشتن کامل آن توسط جراحی، وزن آن ۲۵۰ گرم بود. قبل از اقدام به جراحی ابتدا با سوزن بیوپسی از راه وستیبول، نمونه برداری شد و با تشخیص لیومیوما اقدام به عمل جراحی شد (شکل ۳). تومور توسط انگشتان یک دست از راه مثانه و به کمک انگشتان دست دیگر در ناحیه واژن و حفظ مجرا که به طرف بالا رانده شده بود به راحتی جدا و خارج شد. با توجه به مجاورت توده با مخاط سرتاسر مجرا به نظر می‌رسید که منشأ آن از عضلات صاف مجرا باشد.

میانگین سن مبتلایان به لیومیومای مجرا ۳۴ سال و اندازه آن بین ۱ تا ۴۰ سانتی متر گزارش شده است (۸-۱۰). چون رشد این تومور در زمان حاملگی بیشتر می‌شود (۱،۲،۵،۶)، به نظر می‌رسد که این تومور به هورمون‌ها حساس باشد. علائم بالینی عمده لیومیوما، توده اطراف مجرا، عفونت‌های ادراری، وجود خون در ادرار، آمیزش دردناک و انسداد ادراری می‌باشد (۸). از جمله تشخیص‌های افتراقی این بیماری، دیورتیکول مجرا، یورتروسل، کارسینومای مجرا، یورتروسل اکتوییک، کیست گارتنر مجرا، پاپیلوما، پولیپ و تومور مزانشیال می‌باشد (۸-۲). برای تشخیص، بعد از معاینات بالینی از تصویرنگاری (سونوگرافی ترانس آبدومینال، ترانس واژینال و MRI) استفاده شده و تشخیص نهایی با بررسی هیستوپاتولوژی داده می‌شود (۹،۴،۳).

### گزارش مورد

بیمار زن جوان ۲۰ ساله‌ای است که ۳-۲ ماه پیش از مراجعه، ازدواج کرده و با سوزش ادرار، آمیزش دردناک و



شکل ۱: تصویر سائیتال MRI، T<sub>1</sub>-Weighted نشان می‌دهد توده مجرا که به داخل مثانه برجستگی پیدا نموده است (پیکان‌ها)

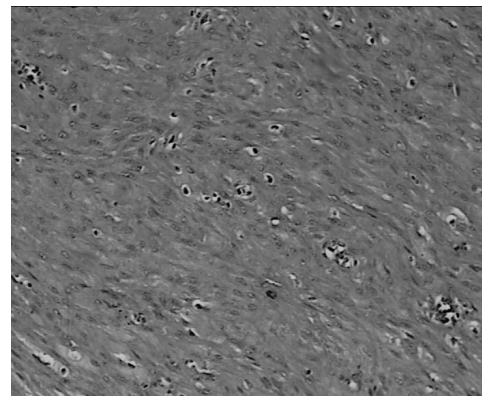
در پی گیری های مرتب بعد از عمل بعد از گذشت حدود ۲ سال از عمل هیچ گونه آثار عود و عوارض تنگی مجرا و بی اختیاری ادراری در بیمار مشاهده نشده است.

### بحث

گرچه لیومیومای مجرا نادر می باشد ولی در مشاهده توده های پرینه و پری اورترال در زنان جوان و احتمال آن را در کنار دیگر تشخیص ها باید در نظر گرفت. تشخیص لیومیومای مجرا با معاینات بالینی و در نظر گرفتن علائم بالینی آن که عمدتاً ناشی از اثرات فشار خارجی بوده (علائم انسداد ادراری و آمیزش دردناک و ...) داده می شود. از خصوصیات بالینی دیگری که لیومیوما را از دیگر توده های این ناحیه مجزا می کند حساسیت آن به هورمون می باشد به طوری که در زمان حاملگی رشد لیومیوما سریع تر می شود (۱،۲،۵،۶). تشخیص نهایی با استفاده از روش های تصویرنگاری مانند سونوگرافی و با کمک بیوپسی و بررسی هیستوپاتولوژیک صورت می گیرد. با توجه به احتمال گستردگی لیومیوما در طول مجرا تا مثانه درمان مناسب آن همان طور که در بخش معرفی بیمار ذکر گردید، جراحی باز و حذف کامل تومور با حفظ مجرا می باشد.



شکل ۲: تصویر کورونال، MRI، T<sub>1</sub>-Weighted نشان دهنده توده داخل مثانه (لیومیوما)، (فلش)



شکل ۳: نمای (×۱۰) میکروسکوپی لیومیوما مجرا با رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین (مورد گزارش شده)

**Summary****A Case Report of Urethra Leiomyoma in a Young Woman**Ketabchi A.A., M.D.<sup>1</sup>, Azizolahi Gh, M.D.<sup>2</sup>, Tabrizchi H., Ph.D.<sup>3</sup>

1. Associate Professor of Urology, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

2. Assistant Professor of Urology, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

3. Assistant professor of Pathology, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Leiomyoma of the female urethra is a rare condition and there have been only 35-40 reported cases in literature. We report a 20-year-old woman who had referred with a painless mass in her vaginal vestibule, dysparonia (dysuria and previous history of urine retention for two times. After clinical examination, imaging studies (US, MRI) and cystoscopy a mass in urethra protruding to vagina and bladder was diagnosed. She underwent biopsy and complete surgical resection. Histopathological study revealed urethral leiomyoma and after operation all symptoms disappeared.

**Key words:** Urethral leiomyoma, Female urethra, Urine retention, Dysparonia

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2007; 14(3): 227-230*

**References**

1. Alvarado-Cabrero I, Candanedo-Gonzalez F, Sosa-Romero A. Leiomyoma of the urethra in a Mexican woman: a rare neoplasm associated with the expression of estrogen receptors by immuno histochemistry. *Arch Med Res* 2001; 32(1): 88-90.
2. Cheng C, Mac-Moune Lai F, Chan PS. Leiomyoma of the female urethra : A case report and review. *J Urol* 1992; 148(5): 1526-7.
3. Cornella JL, Larson TR, Lee RA, Magrina JF, Kammerer-Doak D. Leiomyoma of the female urethra and bladder: Report of 23 patients and review of the literature. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176(6): 1278-85.
4. Elia G, James W, Ballard CA, Bergman A. Diagnostic considerations in co-existing bladder and urethral leiomyomata: a case report. *J Reprod Med* 1995; 40(9): 670-2.
5. Fry M, Wheeler JS, Mata JA, Culkin DJ, StMartin E, Venable DD. Leiomyoma of the female urethra. *J Urol* 1988; 140(3): 613-4.
6. Kurokawa S, Kojima Y, Tozawa K, Hayashi Y, Sasaki S, Kohri K. Female paraurethral leiomyoma: immunohistochemical approach to the relationship between leiomyoma and ovarian hormones. *J Urol* 2002; 167(3): 1403-4.
7. Lee Mc, Lee SD, Kuo HT, Huang TW. Obstructive leiomyoma of the female urethra: report of a case. *J Urol* 1995; 153(2): 420-1.
8. Leidinger RJ, Das S. Leiomyoma of the female urethra. A report of two cases. *J Reprod Med* 1995; 40(3): 229-31.
9. Maya MM, Slywotzky C. Urinary bladder leiomyoma: Magnetic Resonance Imaging findings. *Urol Radiol* 1992; 14(3): 197-9.
10. Sheild DE, Weiss RM. Leiomyoma of the female urethra. *J Urol* 1973; 109(3): 430-1.