

# نامه ما مانده دانشکده پزشکی

بهیت تحریریه:

دکتر محمد حسین ادیب	دکتر محمود سیاسی	دکتر صادق مقدم
دکتر ناصر انصاری	دکتر جهان شاه صالح	دکتر محمد علی ملکی
دکتر محمد بهشتی	دکتر صادق غزیری	دکتر حسن میردامادی
دکتر حسین شهرب	دکتر محمد قریب	دکتر ابوالقاسم نجم آبادی

رئیس بهیت تحریریه: دکتر جهان شاه صالح  
صاحب امتیاز و مدیر مجله: دکتر محمد بهشتی

شماره هشتم

اردیبهشت ماه ۱۳۳۶

سال چهاردهم

## يك روش ابتكاری و جدید در آزمایش بوفو

نگارش

دکتر امان الله رفوآه

رئیس درمانگاه

بیمارستان زنان

دکتر جهان شاه صالح

استاد کرسی و رئیس

بیمارستان زنان

از آنجائیکه آزمایش بوفو در بیمارستان زنان بیش از سایر بخشها مورد توجه است و تعداد آزمایشهای بوفو که در این بیمارستان بعمل میآید بسیار زیاد میباشد و از طرف دیگر چون بیماران مستقیماً تحت نظر بوده و صحت و سقم آزمایشهای مختلفه بوفو که انجام میگردد با نتایج حاصله در بیماران مورد تطبیق و مطالعه قرار میگیرد لذا طی چندین سال نتایج حاصله بیش از دو هزار و پانصد آزمایش بوفو را که اغلب در روی بیماران مختلفه در بیمارستان زنان بعمل آمده و تغییرات و تفسیرات مختلفه می را که

بتجربه مشاهده کرده ایم در این مختصر ذکر نموده و طریقه جدید و ابتکاری خود را که برای تسهیل آزمایش بوفو بدست آورده ایم باستحضار ارباب فن میرسانیم. از قدیم الایام بشر برای تعیین قطعی حاملگی در تکاپو بوده است تا اینکه برای اولین بار اشتهایم در ۱۹۲۷ بوجود هورمونهای گونادوتروپ لوتهینی از انت بافت تروفوبلاستیک جفت پی برد و معلوم ساخت که مواد مزبور در تمام بافتهای بدن زن آستن موجود بوده و مقادیر زیادی از آنها با درازدفع میشود چون تزریق این هورمونها بحیوانات پستاندار باعث تشکیل جسم زرد و فولیکول هموراژیک میگردد لذا مبتنی بر این اصل روشهای متعددی برای تشخیص آستن معمول گردیده است که قدیمی ترین آنها طریقه اشتهایم زوندک (در روی موش ماده) و فریدمان و ا. بروها (در روی خرگوش بالغ) و واکنش بروها-هینگله-سیمونه (در روی موش نر) میباشد. تا اینکه بالاخره هوگین متوجه شد که هورمونهای گونادوتروپ بر روی تخمدان قورباغه گزنپوس نیز اثر کرده و باعث تخم گذاری قورباغه مزبور میگردد و یا در قورباغه های نر کیسه های منی را تحریک میکند در نتیجه آزمایشهای گزنپوش لوئیس و امتحان گالی مانی نی و روش بوفو و لگاریس نیز پابعرضه وجود گذاشتند. اینک شرح آزمایشهایی که در روی قورباغه های مختلفه انجام میگردد میپردازیم و سپس روش ابتکاری خود را بیان مینمائیم:

اول - آزمایش گزنپوس لوئیس :

قورباغه گزنپوس در آفریقا زندگی میکند و ماده آن هیچگاه تخم گذاری نمینماید مگر آنکه عمل لقاح انجام شده باشد و یا اینکه در کیسه لنفاوی خلفی آن هورمونهای گونادوتروپ تزریق نمایند معمولا باید حیوان ۲۴ ساعت قبل از تزریق گرسنه باشد. از ۴-۶ تا ۸ ساعت بعد از تزریق تخم ریزی انجام میگردد. حیوان مثبت را پس از چهار هفته باز میتوان برای آزمایش مجدد بکار برد. این آزمایش در ۱۹۳۴ پیشنهاد شده و ویسمان، سیندرو و کوتس مفید بودن آن را گوشزد نموده و مصنفین مختلفه در طی سه هزار آزمایش صحت و دقت آنرا در حدود ۹۸ تا ۱۰۰ درصد گزارش داده اند. از امتیازات این امتحان سرعت و دقت آن میباشد. مصنفینی که این آزمایش را با فریدمان

مقایسه کرده‌اند مشاهده نموده اند که همه آزمایشها باهم توافق داشته فقط در يك مورد آزمایش باقورباغه مثبت و حال آنکه فریدمان منفی بوده است. هنگامیکه بیمار را بعات آبستنی خارج از رحم عمل کردند يك آبستنی لوله‌ای پاره شده که از لحاظ آسیب‌شناسی نیز تأکید گردیده بود وجود داشت. بعقیده مصنفین مزبور آزمایش باقورباغه صحیح‌تر و مطمئن‌تر از خرگوش میباشد.

دوم - آزمایش سمایی مانی نی - که در روی قورباغه بوفو (۱) انجام گرفته و پس از تزریق ادرار زن آبستن در کیسه لنفاوی خلفی قورباغه پس از دو ساعت در ترشح کلوآک قورباغه اسپر ماتوزئید دیده میشود؛ اگر منفی بود تا ۱۲ ساعت بساید تأمل نمود.

سوم - آزمایش بوفو یا بوفو و لگاریس: در این آزمایش از قورباغه بوفو و لگاریس استفاده میشود ولی ممکن است قورباغه را ناسکولانتارا نیز بکار برد قورباغه‌هایی که در تهران و اطراف هستند دو نوع میباشد رانا و دیگری بوفو. در جدول زیر مشخصات هر يك از قورباغه‌های مزبور ذکر میگردد:

مشخصات	نوع بوفو (۲)	نوع رانا (۳)
۱- رنگ پوست	کثیف - سبز پررنگ یا خاکمی لکه دار	براق سبز روشن
۲- شکل سر	نسبه گرد	تقریباً سه گوش
۳- حرکت و شنا	بطی	سریع
۴- پرده بین انگشتان عقب	کم نمو کرده	نه بسیار و ایجاد حالت پاروئی نموده
۵- شکل انتهای زبان	گرد	دو قسمتی
۶- تمرکز غدد ترشحی	ایجاد غدد پاروتید	-
۷- محل زیست معمولی	در خشکی	در آب
۸- دندان در فك بالا	ندارد	دارد

باید دانست که مقاومت نوع رانا در برابر سمیت ادرار خیلی کم میباشد در

۱ - arenarum de Hansel      ۲ - crapaud

۳ - grenouille

اطراف تهران بیشتر نوع بوفو دیده میشود، که دارای چندین گونه است و گونه بوفو ویریدیس (۱) بارنگ خاکی و لکه‌های سبز از سایر گونه‌ها فراوان‌تر میباشد. نکته مهم تشخیص قورباغه نر از ماده است که بوسیله جدول زیر مشخص شده ولی این مشخصات بیشتر برای جنس بوفو صادق است:

مشخصات	نر	ماده
شکل بدن	کوچک و کشیده	بزرگ و پهن
پوست	روشن و صاف تر	تیره تر
علامت مخصوص اولین انگشت پای جلو	قطور خاکیستری یا سیاه	نازک براق
صدای ممتد	دارد	ندارد

لکه سیاه روی شصت بوفوی نر در اثر فحل حاصل شده و اضافه بر این دانه‌های ریزی نیز در روی انگشتان نرها موجود است. این قورباغه‌های نر در اثر تزریق گوناد و تروپ آوب اسپر ماتوزناید ترشح مینمایند. گوناد و تروپهای لازم برای اینکه قورباغه اسپر ماتوزناید ترشح نماید با وزن آن متناسب است و تقریباً يك قورباغه ۳۰ گرمی ۶ واحد بین‌المللی گوناد و تروپ لازم دارد ولی در مورد قورباغه‌های سبک‌تر ۴ واحد کافی میباشد. ترشح اسپر ماتوزناید از ۲ دقیقه پس از آزمایش شروع شده و دو ساعت پس از تزریق بعداً اکثر شدت خود میرسد. نکته بسیار مهم در آزمایش بوفو ودقت آن تغذیه خوب قورباغه میباشد، زیرا در صورت عدم تغذیه کافی نتایج آزمایش مورد اطمینان نخواهد بود و اغلب آزمایش‌های مثبت بغلط منفی نشان داده خواهد شد؛ بنحویکه رعایت این قسمت در زمستان که اصولاً قورباغه در محیط خارج و سرما وجود ندارد بسیار اهمیت دارد. معمولاً برای نگاه داری، قورباغه‌ها را در محیط شیشه‌ئی که دارای آب تا ارتفاع ۵-۶ سانتی متری بوده و کمی بالاتر از کف آن طبقه مشبکی قرار دارد گذاشته و حرارت آب باید همانند هوای آزمایشگاه بوده و هر ۲۴ ساعت آنرا عوض کرد (در زمستان آب را باید قبلاً گرم نمود) و دو دفعه در هفته نیز قطعات کوچک قلب گاو و کبک یا کرم‌های ریز را با آنها خورانید در برخی از زنان در

۱۵ روز اول آبستنی چون مقدار هورمون ادرار برای بدست آوردن جواب مثبت کافی نیست لذا با وجود حاملگی جواب بوفومنفی خواهد ماند در این موارد ادرار باید باطریقه زیر یعنی روش ویزمن، سندرو کوتس (۱) تغلیظ نمود بدینطریق که به ۸۰ سانتی متر مکعب ادرار ۱۶۰ سانتی متر مکعب استون اضافه کرده و پس از ۱۵ دقیقه که رسوب مربوطه حاصل گردید مقدار زیادی مایع فوق آن را دور ریخته و بقیه را سانتریفوژ میکنند و رسوب آنرا خشک کرده و با ۲cc آب مقطر خوب بهم زده و دوباره سانتریفوژ کرده و مایع فوق آنرا برداشته و با محلول اسید سولفو سالیسیلیک ده درصد PH آنرا به ۵/۵ رسانده و یک سانتی متر مکعب آنرا بقورباغه تزریق مینمایند.

طرز آزمایش بوفو: قورباغه بوفوی نری که وزن آن بین ۲۰-۵۰ (گرم) گرم باشد (یارانا اسکولانتای ۲۰-۳۰ گرمی) انتخاب نموده و تا آنجا که ممکن است ادرار زن را کم حجم میکنیم (میتوان از سرم خون هم بجای ادرار استفاده نمود) و برای اینکار ما معمولاً بیمار را از ظهر روز گذشته تا صبح فردای آن از نوشیدن مایعات مختلفه پرهیز داده و صبح ناشتا ادرار وی را مورد آزمایش قرار میدهیم سترون بودن ادرار لزومی نداشته ولی باید ادرار را هرچه زودتر مورد آزمایش قرار داد زیرا بعلت تخمیر و ازدیاد میکروبها هورمونهای ادراری نقصان حاصل کرده و منحصر بکشته شدن قورباغه هامیشود، سپس بوسیله پیپت مایع کلواک قورباغه را خارج نموده زیر میکروسکپ نگاه میکنیم که اگر احیاناً قورباغه خود بخود اسپرمانوزئید ترشح نموده است موجب اشتباه نشود در مایع کلواک اغلب قورباغه فلاژله و انفوز و اراهای مختلفه ای وجود دارد که با اسپرمانوزئید نباید مورد اشتباه قرار گیرد رعایت این اصل مهم بخصوص در اوائل فصل بهار (فروردین) که دوران فحل قورباغهها بوده

#### ۱- Weisman و Synder و Coates

(۱۳) در نتیجه مطالعه ۲۵۰۰ آزمایش بوفو که در آزمایشگاه بیمارستان زنان بعمل آمده است قورباغه هائی با وزنهای ده و سیزده تا بیست گرم نیز مورد استفاده قرار گرفته و جواب آنها هم دقیق بوده است حتی یک قورباغه سیزده گرمی با دقت  $\frac{1}{10}$  جواب مثبت داده است.

و خود بخود اسپر ماتوز آید دارند) دوره فحل قورباغه های رانا در ماه اردیبهشت و اوائل خرداد می باشد) و یاد رزمستان چون يك قورباغه مثبت ممکن است چند دفعه (با فاصله یکماه) مورد آزمایش قرار گیرد بسیار اهمیت دارد.

دوروش برای تزریق معمول است یکی در کیسه لنفاوی شکمی؛ که برای این کار قورباغه را در دست چپ گرفته و سوزن را در سطح داخلی ران تا نزدیک وسط شکم برده و مایع را با آهستگی تزریق مینمایند بطوریکه نوك سوزن زیر جلد باشد. مقدار ادرار یا سرم خون در حدود  $\frac{1}{10}$  وزن قورباغه بوده و یا اینکه بطور کلی در حدود ۵ سانتی متر مکعب ادرار یا سرم در بوفو یا ۲ cc برای رانا تزریق میشود. طریقه دوم، که ماهواره آنرا بکار می بندیم، در قسمت پشت حیوان و در خط وسط دو سانتی متر پایین تر از دو برجستگی سر حیوان بوسیله يك سوزن زیر جلدی ادرار را در کیسه لنفاوی خلفی تزریق مینمائیم. در این طریقه چون ستون فقرات حیوان مانع ورود سوزن بریه میشود با کمی دقت هیچ موقع حیوان تلف نمیشود. ادرار یکبار برای آزمایش بکار میرود همیشه باید تازه بوده و بیش از ۲ ساعت نمانده باشد. پس از تزریق حیوان را در ظرفی تاریک و گرم نگاه داری نموده و ۲۰ دقیقه بعد از تزریق اگر ادرار متعلق بشخص آّبستنی باشد حیوان از خود اسپر ماتوز و آید دفع مینماید که وارد کلوآک شده و بوسیله پیپت ترشح کلوآک را خارج نموده و در زیر میکروسکپ مینماییم. البته ۲ تا ۳ ساعت بعد اگر منفی بود باز باید ترشح کلوآک را نگاه کرد بدین ترتیب که قورباغه را در دست چپ گرفته بدون فشار پیپت، پیپت را ۲ تا ۳ میلیمتر در کلوآک داخل کرده و ادرار را گرفته و بین لام و لامل زیر میکروسکپ گذاشته و عقب اسپر ماتوز آید گشت. در موارد منفی بهتر است دو ساعت بعد هم امتحان کرد و در حیواناتیکه بتازگی بکار رفته اند تا ۲۴ ساعت پس از تزریق نیز ملاحظه کرد و سپس نتیجه منفی را بدست مریض داد. همواره بهتر است آزمایش را حد اقل در روی دوویا چهار قورباغه بعمل آورد قورباغه ها را اگر منفی باشند پس از یک هفته و اگر مثبت باشند بعد از چهار هفته میتوان مورد استفاده مجدد قرار داد.

مقدار همورمون در زمانهای مختلفه آّبستنی متفاوت میباشد و مطابق

منحنی برون و وینینگ (۱)، حداکثر مقدار هورمون بین روزهای چهل و هشتاد آبستنی و در حدود ۵ تا ۳۰۰۰۰ واحد موش در لیتر بوده و در بقیه ماه‌های حاملگی همیشه کمتر از ده هزار واحد موش در لیتر ادرار است. در مل‌هیداتیفورم و کوریو اپیتلیوما مقدار هورمون بسیار زیاد است، بطوریکه در مول‌هیداتیفورم با رقت ادرار بنسبت  $\frac{1}{10}$  -  $\frac{1}{100}$  نیز مثبت بوده و در کوریو اپیتلیوما تا ۱۰۰۰ هم مثبت می‌باشد. ولی آزمایش بوفو مثبت با دقت‌های فوق‌بتنهائی کافی برای تشخیص مل‌هیداتیفورم و یا کوریو اپیتلیوما نمی‌باشد (دکتر صالح - دکتر رفوآه) و این آزمایش فقط می‌تواند با وجود بودن سایر علائم بالینی و پاراکلینیکی دیگر مورد استفاده قرار گیرد زیرا در برخی از زندهای آبستن طبیعی در ماه دوم با تزریق  $\frac{1}{10}$  وزن قورباغه‌ها از ادرار جواب مثبت دیده شده است (☆) بنابراین در صورت لزوم می‌توان مقدار تزریق ادرار را از  $\frac{1}{10}$  وزن قورباغه‌ها پائین‌تر آورده تا آنجا رسانید که دیگر جواب مثبتی بدست نیاید و آخرین حد مقدار لازم برای ایجاد جواب مثبت را تعیین نمود و سپس از روی فرمولی که برای واحد بوفو وجود دارد مقدار هورمون در لیتر ادرار زن آبستن را معلوم ساخت. واحد بوفو برابر  $\frac{1}{5}$  وزن قورباغه از هورمون گوناد و تروپ خالص است و عبارتست از کمترین مقدار هورمون گوناد و تروپ که اگر بیک قورباغه ۳۰ گرمی تزریق شود سبب تخلیه اسپرم-ما توژنید گردد. با پیدا شدن مقدار هورمون در لیتر ادرار می‌توان در مورد آبستنی طبیعی و بچه‌خوره و کوریو اپیتلیوما سیر صعودی و نزولی هورمون را فهمید. از طرف دیگر برای دزازه هورمون‌های گوناد و تروپ پروفسور برندو و ه-هینکله و م-هینکله واحد آنرا کمترین مقدار هورمون مؤثر برای تزریق به موش و یا خرگوش نابالغ میدانند و با طریق مخصوصی از سرم خون مقدار هورمون را در آبستنی طبیعی و سایر حالات مرضی معلوم ساخته و اعداد زیر را بر حسب واحد خرگوش بدست

۱ - Brown et Vinning

(☆) وچه بساز نانی که حاملگی آنها طبیعی بوده ولی بوفو به نسبت  $\frac{1}{10}$  و حتی گاهی $\frac{1}{100}$  مثبت بوده است (مشاهدات مادر بیمارستان زنان)

آورده اند. ۱۵۰-۵۰۰ واحد جنین مرده ۱۰۰۰-۴۵۰۰ حاملگی طبیعی (از ابتدا تا آخر) ۳۰۰۰۰-۱۰۰۰۰۰ مول هیداتیفورم و کوریوپیتلیوما در بعضی از امورهاها و مواقع مختلفه یا نئاسگی و تومرهای که ترشح پرولان میکنند مقدار هورمون همیشه کم بوده و از ۱۵۰ واحد خرگوش کمتر میباشد برای تعیین مقدار هورمون بوسیله ادرار باید آزمایش را در سه حیوان کاملاً مشابه با هم بعمل آورد؛ بطوریکه در خرگوش اولی دوازده سانتی متر مکعب ادرار و در دومی يك تا يك و نیم سانتی متر مکعب و در سومی نیم سانتی متر مکعب ادرار تزریق نموده و بعد از ۴۸ ساعت هر سه خرگوش را باز کرده و تخمدان آنها را ملاحظه کرد. اگر خرگوش اولی مثبت باشد مقدار هورمون بیشتر و یا حداقل مساوی با ۱۰۰ واحد و اگر خرگوش دومی مثبت باشد مقدار هورمون بیشتر و یا مساوی با ۱۰۰ واحد و اگر سومی مثبت باشد مقدار هورمون بیش از ۱۰۰۰۰ واحد میباشد.

آزمایش بوفو معمولاً از اولین تاششمین روز عقب افتادگی و گاهی بطور استثناء ۱۰-۱۵ روز پس از حاملگی مثبت میشود و پنج یا شش روز بعد از زایمان نیز منفی میگردد و ای اگر پس از آن هم مثبت ماند باید بفکر باقیماندن جفت بود. در حاملگی خارج از رحمی که پاره شده و جنین مرده باشد و واکنش ممکن است منفی باشد. در مول هیداتی فرم و کوریوپیتلیوما یا بدخیم واکنش مثبت است، ولی پس از عمل منفی خواهد شد. ولی اگر مثبت باقی بماند باید بفکر حاملگی مجدد و یا عود موضعی و یا متاستاز مرض بود. برای تشخیص جنین مرده و باقی ماندن جفت و مل و کوریوپیتلیوما همانطوریکه قبلاً شرح داده شده آزمایش بوفو بطور کمی باید بعمل آید. جواب آزمایش بوفو اگر تمام شرایط آن مورد رعایت قرار گیرد ۹/۴ درصد دقیق صحیح بوده و هیچگاه با آن آزمایش منفی را مثبت نخواهیم یافت. در آزمایش منفی برای کنترل قورباغه میتوان  $\frac{1}{5}$  وزن قورباغه هورمون گونادوتروپ تزریق نمود اگر مثبت شد جواب منفی قبلی صحیح میباشد. مادر آزمایشگاه برای این کنترل در موارد لازم از ادرار زن آبستن که حاملگی وی مسلم میباشد بعنوان کنترل استفاده کرده و اگر

با وجود این قورباغه باز جواب منفی داد دلیل بر غیر حساس بودن قورباغه مورد آزمایش میباشد که بسیار نادر است.

اینک پس از شرح فوق روش ابتکاری خود را شرح میدهیم:

در طی متجاوز از ۲۵۰۰ آزمایش بوفو که در آزمایشگاه بیمارستان زنان انجام گرفته مشاهده نمودیم که اگر آزمایش بوفو در روی قورباغه‌های بوفو ویریدیس (۱) که بارنگ کاملاً خاکی کم رنگ و لکه‌های سبز کم رنگ مشخص هستند، بعمل آید. البته نکات و دقتها یکی که در باره آزمایش بوفو ذکر گردیده باید کاملاً مورد رعایت قرار گیرد یعنی قبلاً ترشح کلوآک از لحاظ عدم وجود اسپرمانتوزوئید ملاحظه شود و وزن قورباغه ادرار با شرایط مخصوص تزریق شود. سپس اگر جواب مثبت باشد شبکه تیره رنگی در روی بدن حیوان هویدا میگردد و اگر منفی بود تغییری در رنگ قورباغه حاصل نمیشود. بدین ترتیب دیگر احتیاجی بکشیدن مایع کلوآک و مشاهده مجدد آن در زیر میکروسکپ برای دیدن اسپرمانتوزوئید نمیباشد. در نتیجه آزمایش بوفوساده تر و سهولتر میگردد. در جدول زیر خواص و مزایای طرق مختلفه آزمایش‌های مربوط به آبستنی و طریقه ابتکاری خود را متذکر میشویم:

آزمایش‌های آشه‌ایم	فریدمان	برها - هینکله	آزمایش ابتکاری
زوندک روی موش	خرگوش	سیمه و نه موش نر	ما بوفو ویریدیس
۱- سرعت	۳۶-۴۸ ساعت	۵ تا ۱۰ روز	۲۰ دقیقه تا ۶ ساعت
۲- سادگی	احتیاج بعمل جراحی	احتیاج بعمل جراحی	بدون عمل جراحی
۳- اقتصادی	گران	گران	بسیار ارزان
۴- نگاهداری	مکان مخصوصی برای نگاهداری	تغذیه و نظافت	ساده
۵- روش کار	۴۰ تزریق	۲۴ تزریق	یک تزریق
۶- تکرار آزمایش در روی یک حیوان	حیوان کشته میشود	کشته میشود	مکرر ممکن است
۷- احتیاط مخصوص	سن و وزن	سن و وزن	هیچ
۸- نتیجه واکنش	جستجوی تخمدانها در پنج حیوان	جستجوی کیسه‌های منی در چهار حیوان	مشاهده شبکه رنگی پشت حیوان

**BIBLIOGRAPHIE**

- 1- Encyclopedie Med, Chir Obstetrique
- 2- Saleh (J.) Precis de Gynecologie Teheran
- 3- Weisman et al- The Frog Test (Xenopus) for pregnancy.
- 4- Gradwohl. Clinical Laboratory Methods & Diagnosis.
- 5- Noel Feissinger , M. Herrain, H. R. Olivier - Diagnostics - Biologique et Fonctionnels .
- 6- Ansarie-(N.) Le diagnostic biologique de la grossesse Par — Bufo mâle (Revue de la Facultie de Medecine)