



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و ششم، شماره (۴۸۲)، بهمن دوم مرداد ماه ۱۳۹۷

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر مریم راد احمدی

ناشر:

انتشارات وسنا (فرزادگان راداندیش)
Email: farapublications@gmail.com
http://farapub.com

تلفن: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۳۵

دورنگار: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۸۲

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

Email: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مدیر اجرایی: علی مرادی مسؤول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۹۱ تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

Email: jims@med.mui.ac.ir

http://jims.mui.ac.ir

وب سایت مجله:

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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



راهنمای نگارش و ارسال مقاله علمی - پژوهشی

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

هیأت تحریریه پس از دریافت مقالات اقدام به بررسی مقاله از لحاظ ساختاری و موضوعی می‌نماید و چنانچه مقاله در بررسی اولیه مورد تأیید باشد، برای داوری ارسال می‌شود. زمان فرایند داوری (از دریافت تا پذیرش نهایی آن) ۳ ماه و در صورت تقاضا جهت بررسی سریع‌تر با شرایط ذکر شده در راهنمای نویسندگان ۳۰ روز کاری (بجز روزهای تعطیل) می‌باشد. لازم به ذکر است داوری و انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است. لذا پس از انجام مراحل داوری و پذیرش مقاله و قبل از صدور نامه پذیرش، لازم است نویسندگان محترم فرایند مالی را تکمیل نمایند.

نحوه ارسال دست نوشته‌ها در سامانه

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

توجه به نکات زیر در ارسال مقاله ضروری است:

- ارسال مقاله منحصراً از طریق ثبت نام در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی انجام می‌شود. لازم است فقط نویسنده مسؤول اقدام به سابمیت مقاله نماید و مقالاتی که توسط سایر نویسندگان یا اشخاص دیگر سابمیت شوند مورد بررسی قرار نخواهند گرفت.
- نویسنده‌ای که برای بار دوم اقدام به ارسال مقاله اصلاح شده خود می‌نماید، حتماً باید از طریق صفحه شخصی قبلی خود اقدام نموده و به هیچ عنوان دوباره به عنوان کاربر جدید و با ایمیل جدید در سامانه ثبت نام نکند.
- وارد کردن اسامی تمامی نویسندگان در سامانه و در محل مربوط به وارد کردن اسامی نویسندگان مقاله به همراه کد ORCID، الزامی است.
- پس از ارسال مقاله، تغییر اسامی نویسندگان امکان پذیر نمی‌باشد.
- فایل‌هایی که نویسنده در مرحله اولیه ارسال می‌کنند شامل: (۱) فایل Word دست نوشته (۲) فایل Word صفحه عنوان (۳) فرم تعهدنامه، (۴) فرم مشخصات کامل نویسندگان (Cover letter) است که به ترتیب بایستی آپلود گردند.
- نویسندگان در قسمت ارسال فایل‌ها، با ارسال یک فایل تعهد نامه که به امضای همه نویسندگان رسیده است، حق انتشار مقاله را به مجله دانشکده پزشکی اصفهان واگذار می‌نمایند. در غیر این صورت مقاله در روند داوری قرار نخواهد گرفت.
- مقالات ارسالی باید دارای فایل مجزا (Cover letter) شامل یک نامه خطاب به سردبیر حاوی عنوان مقاله، اسم، آدرس و ایمیل نویسنده مسؤول، اسامی و ایمیل سایر نویسندگان باشد. در این نامه بایستی به صراحت اعلام گردد که دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد.
- در مرحله دوم بعد از این که دست نوشته از نظر همراستایی و فرمت مجله مورد ارزیابی اولیه قرار گرفت و تأییدیه دفتر مجله در خصوص قابل ارجاع بودن آن دست نوشته برای شروع فرایند داوری ارسال گردید، ضروری است ۵۰ درصد کل هزینه به منظور شروع فرآیند داوری به عنوان (Processing fee) بر اساس موارد ذکر شده در بخش هزینه انتشار راهنمای نویسندگان پرداخت گردد. این هزینه غیر قابل برگشت می‌باشد. سپس فایل مربوط به تصویر اسکن شده فیش پرداختی فقط با نام نویسنده مسؤول از طریق سایت به دفتر مجله ارسال گردد. لازم به ذکر است تنظیم دست نوشته بر اساس فرمت مجله، و پرداخت وجه اولیه فقط جهت ارسال به داوران بوده و دال بر پذیرش آن نمی‌باشد.

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

- ارسال مقاله فقط از طریق سایت پذیرفته می‌شود.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

تبصره ۱- مقالات ترجمه پذیرفته نمی‌شود.

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

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

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

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

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

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

صفحه عنوان: این صفحه باید شامل عنوان کامل، عنوان مکرری، اسامی نویسنده یا نویسندگان بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان و همچنین آدرس، تلفن، فاکس و پست الکترونیکی نویسنده مسؤول و تقدیر و تشکر (شامل تشکر از افراد، شماره طرح پژوهشی و یا پایان نامه، ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی) باشد. ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست‌نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

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

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

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

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

- مقدمه و معرفی: در این بخش اهداف و علل انجام مطالعه آورده می‌شود؛ بنابراین نیازی به ارائه گسترده مطالب موجود در متون علمی نیست. در این بخش باید از ارائه اطلاعات، یافته‌های و نتایج مطالعه خودداری گردد.

- روش‌ها: این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط منبع آن ذکر گردد اما اگر روشی نوین است، باید به صورتی توضیح داده شود که برای سایر محققان قابل درک و به طور عینی قابل انجام و تکرار باشد. در صورت استفاده از دستگاه و تجهیزات خاص باید نام، نام کارخانه سازنده و آدرس آن در پرانتز ذکر گردد. اگر از دارو در مطالعه استفاده شده است باید نام ژنریک، دوز و روش مصرف آن آورده شود. در مورد افراد و بیماران تحت مطالعه باید جنس و سن (همراه انحراف معیار) آورده شود. در مورد نرم‌افزارها و سیستم‌های کامپیوتری باید سال و ویرایش آن در پرانتز و پس از نام آن ذکر گردد.

در صورتی که مطالعه دارای پرسش‌نامه یا چک لیست است، ضمیمه کردن آن لازم است؛ شیوه تأمین روایی مشخص شود و توصیف دقیق فرآیند اجرایی برای رواسازی آن توضیح داده شود. چگونگی تعیین روش‌های مورد استفاده برای تأمین پایایی پرسش‌نامه و گزارش نتایج آزمون‌های آماری به کار گرفته شده جهت تأمین پایایی توضیح داده شود. در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

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

- بحث: در این بخش در ابتدا به یافته‌های مهم اساسی مطالعه و سپس تشابه و تفاوت‌های آن با یافته‌های سایر پژوهشگران در مطالعات مشابه اشاره می‌گردد. ذکر جزئیات کامل یافته‌ها در این بخش لازم نیست. تأکید بر یافته‌های جدید و با اهمیت مطالعه حاضر و دستاوردهای آن در این قسمت ضروری است. ذکر این که فرضیه ارائه شده در مطالعه صحیح یا نادرست بوده، یا این که دلایل کافی برای رد یا قبول آن به دست نیامده است، ضروری می‌باشد. هدف این بخش، ذکر دلیل اصلی انجام تحقیق، تحلیل و تفسیر یافته‌ها و همچنین نتیجه‌گیری کلی (Conclusion) است.

- جدول‌ها: جداول بدون حاشیه خارجی ارسال گردد. تعداد محدود جدول با توجه به حجم مطالعه و مقاله، همراه با ذکر عنوان آن در بالای جدول مورد قبول خواهد بود. ارسال جداول فقط تحت نرم‌افزار MSWord مورد قبول است. توضیحات اضافی در خصوص محتوای جداول باید به صورت پی‌نوشته و در پایین جدول باشد. جدول‌ها باید در صفحات جداگانه و در پایان دست‌نوشته (پس از منابع) قرار داده شوند. جدول‌ها باید دارای زمینه سفید و بدون سایه و ترام باشد. جداول باید توسط نرم‌افزار MS Word و فاقد هرگونه صفحه آرای، فاصله خطوط ۱ برابر (Single)، قلم B Zar و سایز ۱۰ و قلم متغیرهای هر ستون B Zar و سایز ۱۰ Bold تهیه شوند. برای تایپ کلمات لاتین در جدول از قلم Time New Roman سایز ۹ استفاده شود.

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

تبصره ۱- اگر شکل یا جدولی از مرجع دیگری اخذ شده است، شماره مرجع در آخر عنوان جدول یا شکل نوشته شود و مشخصات مأخذ در بخش مراجع درج شود. -تقدیر و تشکر: در این بخش تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند مورد تقدیر قرار گیرند؛ از جمله کسانی که کمک‌های فنی، نوشتاری و مالی داده و همچنین سرپرستان و مدیران بخش‌های محل انجام مطالعه که در امر پشتیبانی‌های عمومی در اجرای تحقیق فعالیت داشته‌اند. همچنین ذکر نام سازمان(های) حمایت‌کننده یا تأمین‌کننده مالی پژوهش در این بخش ضروری است.

- در صورتی که دست‌نوشته حاصل از پایان‌نامه دانشجویی باشد حتماً بایستی در قسمت تقدیر و تشکر شماره پایان‌نامه مصوب دانشگاه و نیز نام دانشگاه ذکر گردد.

- تبصره ۱- ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست‌نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

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

- اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

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

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

- منابع به صورت پایان‌نامه

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

- منابع به صورت الکترونیکی - مجله الکترونیکی روی اینترنت

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

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

منابع به صورت صفحه وب

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

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

- نمونه خوانی (**Proofreading**): یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤول

ارسال می‌گردد که لازم است در کوتاه‌ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وبسایت مجله ارسال نماید.

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

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

- پس از انتشار، نسخه‌ای برای نویسنده مسؤول ارسال نخواهد شد و شماره‌های مجله از طریق سایت برای نویسندگان و خوانندگان قابل دسترسی می‌باشد.

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

- تداخل منافع (Conflict of Interest): نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه‌ها، سازمان‌ها، نهادها، شرکت‌ها و سایر منابع که انتشار یافته‌های مطالعه می‌تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

- فعالیت ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی عصاره‌ی متانولی برگ، میوه و گال *Pistacia Atlantica* علیه چند نمونه باکتری بیماری‌زا.....۵۹۴
گلنار درخشنده قهفرخی، مریم محمدی سیچانی، مجید توکلی
- ارزیابی آشوبناکی سیگنال الکتروانسفالوگرام در سطوح مختلف بیهوشی.....۶۰۱
احسان محمدی، سعید کرمانی، محمد گلپور
- اثر ۲۴- هیدروکسی کلسترول در تولید گونه‌های فعال اکسیژن در آستروسیت‌های کشت داده شده تیمار شده با آمیلوئید بتا.....۶۰۷
زهرا ناظری، شیرین عزیزی دوست، مریم چراغ‌زاده، بهار سپیانی، علیرضا خیراله
- اثر درمانی طب سوزنی بر روی بیماری انگشت ماشه‌ای.....۶۱۴
پریسا طاهری، رقیه قاسمی، مریم ملت
- بررسی تأثیر تجویز دو دز استازولامید به عنوان پیش‌دارو بر روی تسکین درد ارجاعی پس از عمل جراحی کوله سیستکتومی به روش لاپاروسکوپی با گاز دی‌اکسید کربن و مقایسه‌ی آن با گروه شاهد.....۶۲۱
پروین ساجدی، پیمان سلیمانی

فعالیت ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی عصاره‌ی متانولی برگ، میوه و گال *Pistacia Atlantica* علیه چند نمونه باکتری بیماری‌زا

گلنار درخشنده قهفرخی^۱، مریم محمدی سیجانی^۲، مجید توکلی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: امروزه عفونت‌های باکتریایی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی عوامل ایجاد کننده‌ی آن‌ها، از مهم‌ترین چالش‌های پیش روی محققان و پزشکان می‌باشند. در این پژوهش، خاصیت ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی عصاره‌ی متانولی برگ، میوه و گال *Pistacia atlantica* بر روی تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش‌ها: برگ، میوه و گال *Pistacia atlantica* از جنگل‌های استان لرستان جمع‌آوری شد. خاصیت ضد باکتریایی به روش انتشار چاهک بر *Staphylococcus aureus*، *Bacillus cereus*، *Enterococcus faecalis* و *Pseudomonas aeruginosa* مورد بررسی قرار گرفت. روش میکروداپلوشن (Microdilution) برای تعیین حداقل غلظت مهار کننده‌ی و حداقل غلظت کشندگی استفاده شد. فعالیت ضد بیوفیلمی عصاره‌ی متانولی در غلظت‌های تحت کشنده بر روی تشکیل بیوفیلم *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* به روش میکروتیتر پلیت بررسی شد.

یافته‌ها: عصاره‌های متانولی برگ، میوه و گال *Pistacia atlantica* اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی علیه باکتری‌های مورد آزمایش به استثنای *Escherichia coli* داشتند. بین فعالیت ضد باکتریایی و غلظت عصاره‌ها ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). عصاره‌ی متانولی گال، بالاترین اثر ضد باکتریایی را داشت. حداقل غلظت مهار کننده‌ی عصاره‌ی متانولی برگ، میوه و گال ۳-۱۲/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی این عصاره، ۶/۲۵-۲۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود. عصاره‌ی متانولی گال *Pistacia atlantica* در غلظت ۶ میلی‌گرم/میلی‌لیتر به ترتیب باعث کاهش تولید بیوفیلم *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* به میزان ۱۰۰ و ۷۴ درصد شد.

نتیجه‌گیری: عصاره‌ی متانولی بخش‌های مختلف گیاه *Pistacia atlantica* اثر ضد باکتریایی داشتند. همچنین، عصاره‌ی متانولی باعث کاهش تولید بیوفیلم *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* شد.

واژگان کلیدی: عصاره‌ی گیاهی، *Pistacia*، مواد ضد باکتریایی، بیوفیلم

ارجاع: درخشنده قهفرخی گلنار، محمدی سیجانی مریم، توکلی مجید. فعالیت ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی عصاره‌ی متانولی برگ، میوه و گال *Pistacia Atlantica* علیه چند نمونه باکتری بیماری‌زا. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۸۲): ۶۰۰-۵۹۴

و همچنین، در واحدهای فراوری مواد غذایی دخالت دارد (۳-۲). از این رو، امروزه استفاده از توان بالقوه‌ی مواد مؤثره‌ی گیاهی برای درمان بیماری‌ها و عفونت‌های میکروبی مورد توجه قرار گرفته است. علاوه بر ویژگی‌های ضد میکروبی، ترکیبات گیاهی دارای خواص تغذیه‌ای و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که می‌تواند در رژیم غذایی مورد توجه قرار گیرد (۵-۴). دامنه‌های رشته کوه زاگرس یکی از مناطق اصلی رویش گیاهان

مقدمه

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای مهار و کنترل عفونت‌ها بسیار معمول می‌باشد و کاربرد وسیع آنتی‌بیوتیک‌ها، باعث گسترش سویه‌های مقاوم میکروبی شده است. برآورد شده است که بیش از ۸۰ درصد موارد عفونت‌های انسانی به تشکیل بیوفیلم باکتری مهاجم مربوط است (۱). بیوفیلم باکتریایی در بروز عفونت‌های مزمن انسانی، پلاک دندان، عفونت اجسام خارجی مانند کاتترها، بیماری‌های دامی، گیاهی

۱- گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان، خرم‌آباد، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: مریم محمدی سیجانی

گردیدند. نمونه‌های میکروبی مطابق با روش‌های استاندارد احیا شدند. سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه و جوان مطابق با کدورت لوله‌ی استاندارد McFarland ۰/۵ تهیه شد و به نسبت ۰/۱ برای رسیدن به غلظت $10^7 \times 1/5$ باکتری در هر میلی‌لیتر رقیق شد (۱۰). فعالیت ضد باکتریایی عصاره به روش انتشار در آگار: به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره‌ها، غلظت ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۳ و ۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر از عصاره‌ی متانولی تهیه گردید. فعالیت ضد باکتریایی به روش انتشار چاهک با ایجاد چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر بر روی محیط کشت Muller-Hinton agar مورد بررسی قرار گرفت. از آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم با غلظت ۱۰ میکروگرم/میلی‌لیتر به عنوان شاهد استفاده گردید (۱۱-۱۰). حداقل غلظت مهار کنندگی (Minimum inhibitory concentration یا MIC) و حداقل غلظت کشندگی (Minimum bactericidal concentration یا MBC) به روش میکرودیولوشن (Microdilution) در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای استریل انجام شد (۱۱). به منظور تأیید نتایج، آزمایش‌ها ۳ بار تکرار گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون ANOVA و با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد.

بررسی فعالیت ضد بیوفیلمی عصاره‌ی متانولی گیاه

Pistacia atlantica فعالیت ضد بیوفیلمی عصاره‌ها به روش میکروتیترپلیت در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای ته صاف مخصوص کشت بافت به روش رنگ‌آمیزی با کریستال ویوله انجام شد. کشت تازه‌ی *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* با کدورت معادل لوله‌ی استاندارد McFarland ۰/۵ در محیط کشت Muller-Hinton broth حاوی ۱ درصد گلوکز تهیه شد. سری چاهک A به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. این چاهک، تنها حاوی ۳۰۰ میکرولیتر محیط کشت ۱ درصد گلوکز بود. چاهک B به عنوان شاهد مثبت حاوی ۱۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری و ۱۵۰ میکرولیتر محیط کشت ۱ درصد گلوکز بود. سایر چاهک‌ها با غلظت‌های مختلف از عصاره‌ی متانولی برگ، میوه، گال و سوسپانسیون باکتری تلقیح شدند. میکروپلیت‌ها، به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ۷۲ ساعت، محتویات چاهک‌ها تخلیه شد سپس، ۱۵۰ میکرولیتر اتانول به مدت ۱۵ دقیقه جهت تثبیت ساختارهای بیوفیلمی به هر چاهک افزوده گردید. پس از اسپیره کردن اتانول، به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله‌ی ۲ درصد به منظور رنگ‌آمیزی بیوفیلیم اضافه شد. بعد از ۵ دقیقه، محتویات خالی شد و در زیر جریان آب غیر مستقیم شسته شد. در ادامه، ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک گلاسیال ۳۳ درصد به هر چاهک اضافه شد و میکروپلیت‌ها ۲۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. در انتها، جذب چاهک‌ها در

وحشی محسوب می‌شوند. *Pistacia* که در ایران به نام بنه یا پسته‌ی کوهی شناخته می‌شود، درختی به ارتفاع ۷-۲ متر است که در مناطق سرد و معتدل می‌روید (۶). *Pistacia atlantica* دارای برگ‌های مرکب، تک‌شانه‌ای است که برای درمان فشار خون، سرفه، گلودرد، آگزما و درد معده به کار می‌رود. ترکیبات موجود در برگ، بازدارنده‌ی تکثیر و عامل القای مرگ سلول‌های سرطانی روده‌ی بزرگ انسان می‌باشد. میوه‌ی *Pistacia atlantica* به شکل دانه‌های عدس است و اسیدهای چرب تشکیل دهنده‌ی آن اولئیک اسید، لینولئیک اسید، آلفالیونولئیک اسید، پالمیتیک اسید، پالمیتولیک اسید هستند.

همچنین، ترکیبات فنلی در میوه شناسایی شده‌اند. گال ایجاد شده بر روی درخت پسته‌ی کوهی توسط شته‌ی *Slavum wertheimae* ایجاد می‌شود. این حشرات، با گوناگونی و تنوع قابل توجه ریخت‌شناسی بر روی میزبان‌های خود گال کیسه‌ای، تاج‌خروسی، گل‌کلمی و نخودی تولید می‌کنند (۷). اگر چه مکانیسم مولکولی روند ایجاد گال هنوز ناشناخته باقی مانده است، اما مطالعات زیست‌محیطی متعدد و آنالیزهای فیلوژنتیکی ثابت کرده است که حشرات، کنترل‌کننده‌ی رفتار گال‌ها هستند و در حقیقت، آن‌ها را برای بهره‌مندی خودشان ایجاد می‌کنند (۸).

روش‌ها

جمع‌آوری گیاه و گال: برگ، میوه و گال *Pistacia atlantica* از جنگل‌های استان لرستان جمع‌آوری شد و توسط متخصصین مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مورد تأیید قرار گرفتند. هر یک از محصولات در سایه خشک شد و به شکل پودر آماده گردید.

روش عصاره‌گیری: برای تهیه‌ی عصاره‌ی متانولی نمونه‌های گیاهی از روش خیساندن استفاده شد. مقدار ۱۰ گرم از پودر برگ، میوه و گال به سه ارلن حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت بر روی *Shaker* ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و سپس، محتویات ارلن صاف شد و تحت شرایط استریل خشک گردید. پودر عصاره تا زمان انجام آزمایش در شیشه‌های تیره در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید (۹).

تهیه‌ی سویه‌های میکروبی استاندارد: فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ها بر روی سویه‌های *Staphylococcus aureus* (ATCC: 6538)، *Bacillus cereus* (ATCC: 11778)، *Escherichia coli* (ATCC: 29212) *Enterococcus faecalis* (ATCC: 25922) و *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC: 9027) مورد بررسی قرار گرفت.

میکروارگانیزم‌های مورد آزمایش به صورت لیوفیلیزه از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه

عصاره‌های برگ، میوه و گال *Pistacia atlantica* در جدول ۱ آمده است.

غلظت‌های مربوط به حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره‌ها در جدول ۲ آمده است.

ارزیابی فعالیت ضد بیوفیلمی عصاره‌ی متانولی برگ، میوه و گال *Pistacia atlantica* در غلظت‌های کمتر از غلظت کشندگی نشان داد که عصاره‌ی متانولی برگ و میوه در غلظت ۶ میلی‌گرم/میلی‌لیتر تولید بیوفیلیم *Staphylococcus aureus* را به طور کامل مهار نموده است. با کاهش غلظت عصاره‌ی متانولی به ۱/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر، کارایی ضد بیوفیلمی عصاره کاهش می‌یابد. همچنین، عصاره‌ی متانولی برگ در غلظت ۶ میلی‌گرم/میلی‌لیتر تا ۱۰۰ درصد مانع از تشکیل بیوفیلیم *Pseudomonas aeruginosa* شد (شکل ۱).

بر اساس یافته‌های به دست آمده و طبق نتیجه‌ی آزمون Kruskal-Wallis در غلظت‌های ۱۰۰-۶/۲۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر در عصاره‌ی متانولی برگ، تفاوت معنی‌داری بین قطر هاله‌ی عدم رشد ۵ باکتری مشاهده شد ($P < ۰/۰۵۰$).

دستگاه خوانش Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) در طول موج ۴۹۲ نانومتر خوانده شد. میزان درصد کاهش بیوفیلیم از طریق فرمول زیر محاسبه گردید (۱۳-۱۲).

$$\text{درصد کاهش بیوفیلیم} = \frac{(C-B)-(T-B)}{(C-B)}$$

در فرمول پیش گفته، C میانگین جذب چاهک‌های شاهد مثبت، B میانگین جذب چاهک‌های شاهد منفی و T میانگین جذب چاهک‌های آزمون است. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS انجام شد. برای مقایسه‌ی مقادیر هاله‌ی عدم رشد در سه بار تکرار بین گروه‌ها، از آزمون Kruskal-Wallis استفاده شد. همچنین، آزمون تعقیبی Mann-Whitney با تعدیل Bonferroni برای انجام مقایسه‌های دوتایی استفاده شد. برای تمام آزمون‌ها $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف

جدول ۱. میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف عصاره‌ی متانولی میوه، برگ و گال *Pistacia atlantica* (بر حسب میلی‌متر)

مقدار P	Bacillus cereus	Staphylococcus aureus	Enterococcus faecalis	Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa	غلظت (میلی‌گرم/میلی‌لیتر)	عصاره‌ی متانولی
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار		
۰/۰۲۳	۲۱/۳۳ ± ۱/۱۵	۲۲/۳۳ ± ۲/۰۸	۲۲/۰۰ ± ۱/۰۰	۱۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۱۸/۶۷ ± ۰/۵۸	۱۰۰	میوه
۰/۰۲۵	۱۹/۰۰ ± ۱/۷۳	۱۹/۳۳ ± ۱/۱۵	۱۹/۰۰ ± ۱/۰۰	-	۱۵/۶۷ ± ۱/۱۵	۵۰	
۰/۰۱۹	۱۷/۳۳ ± ۱/۱۵	۱۷/۳۳ ± ۲/۰۸	۱۵/۶۷ ± ۰/۵۸	-	۱۳/۰۰ ± ۱/۰۰	۲۵	
۰/۰۲۴	۱۵/۰۰ ± ۰/۰۰	۱۵/۰۰ ± ۲/۶۵	۱۴/۶۷ ± ۱/۵۳	-	۱۰/۶۷ ± ۰/۵۸	۱۲/۵	
۰/۰۲۱	۱۰/۶۷ ± ۱/۱۵	۱۰/۰۰ ± ۱/۰۰	۹/۶۷ ± ۰/۵۸	-	۶/۶۷ ± ۱/۱۵	۶/۲۵	
۰/۰۲۳	۸/۳۳ ± ۰/۵۸	۷/۳۳ ± ۱/۱۵	-	-	-	۳	
۱/۰۰۰	-	-	-	-	-	۱	برگ
۰/۰۱۱	۱۸/۰۰ ± ۱/۰۰	۱۷/۳۳ ± ۰/۵۸	۱۵/۶۷ ± ۰/۵۸	۱۰/۶۷ ± ۰/۵۸	۱۴/۰۰ ± ۱/۰۰	۱۰۰	
۰/۰۱۰	۱۶/۳۳ ± ۰/۵۸	۱۴/۶۷ ± ۰/۵۸	۱۴/۳۳ ± ۰/۰۵	۸/۰۰ ± ۰/۰۰	۱۱/۶۷ ± ۱/۵۳	۵۰	
۰/۰۱۲	۱۵/۰۰ ± ۱/۰۰	۱۴/۰۰ ± ۰/۰۰	۱۱/۶۷ ± ۱/۱۵	-	۱۱/۳۳ ± ۱/۱۵	۲۵	
۰/۰۲۰	۱۳/۳۳ ± ۱/۵۳	۱۱/۳۳ ± ۱/۱۵	۱۰/۰۰ ± ۱/۰۰	-	۹/۶۷ ± ۱/۵۳	۱۲/۵	
۰/۰۱۴	۹/۶۷ ± ۰/۵۸	۷/۳۳ ± ۱/۱۵	-	-	۸/۰۰ ± ۰/۰۰	۶/۲۵	
۰/۹۹۹ <	-	-	-	-	-	۳	
۰/۹۹۹ <	-	-	-	-	-	۱	
۰/۰۳۶	۲۳/۳۳ ± ۰/۵۸	۲۳/۰۰ ± ۱/۰۰	۲۰/۳۳ ± ۰/۵۸	۱۲/۳۳ ± ۰/۵۸	۲۲/۳۳ ± ۲/۵۲	۱۰۰	
۰/۰۴۰	۲۲/۳۳ ± ۰/۵۸	۱۹/۰۰ ± ۱/۰۰	۱۹/۶۷ ± ۰/۵۸	۹/۶۷ ± ۰/۵۸	۱۹/۰۰ ± ۱/۰۰	۵۰	
۰/۰۲۲	۱۶/۶۷ ± ۰/۵۸	۱۶/۰۰ ± ۱/۰۰	۱۵/۳۳ ± ۰/۵۸	۸/۶۷ ± ۱/۱۵	۱۴/۳۳ ± ۱/۱۵	۲۵	
۰/۰۱۷	۱۳/۶۷ ± ۱/۵۳	۱۲/۶۷ ± ۱/۱۵	۱۴/۶۷ ± ۱/۵۳	-	۱۰/۳۳ ± ۰/۵۸	۱۲/۵	
۰/۰۱۴	۱۲/۰۰ ± ۱/۷۳	۱۱/۰۰ ± ۱/۰۰	۱۳/۰۰ ± ۰/۰۰	-	۷/۳۳ ± ۱/۱۵	۶/۲۵	
۰/۰۱۰	۹/۶۷ ± ۰/۵۸	۹/۶۷ ± ۰/۵۸	۱۱/۳۳ ± ۰/۵۸	-	-	۳	
۰/۰۱۳	۷/۳۳ ± ۱/۱۵	۸/۰۰ ± ۰/۰۰	۱۰/۰۰ ± ۰/۰۰	-	-	۱	
۰/۰۰۸	۲۹/۰۰ ± ۰/۰۰	۳۵/۰۰ ± ۰/۰۰	۱۸/۶۷ ± ۰/۴۷	۲۵/۰۰ ± ۰/۰۰	-	۱۰ میکروگرم/میلی‌لیتر	ایمی پنم

جدول ۲. مقادیر حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره‌ی متانولی *Pistacia atlantica*

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>			
۱۲/۵	۱۰۰	۶/۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	MIC	برگ	عصاره‌ی متانولی
۲۵	۲۰۰	۱۲/۵	۲۵	۱۲/۵	MBC		
۱۲/۵	۵۰	۱۲/۵	۱۲/۵	۶/۲۵	MIC	میوه	
۲۵	۱۰۰	۲۵	۲۵	۱۲/۵	MBC		
۱۲/۵	۵۰	۳	۶/۲۵	۳	MIC	گال	
۲۵	۱۰۰	۶/۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	MBC		

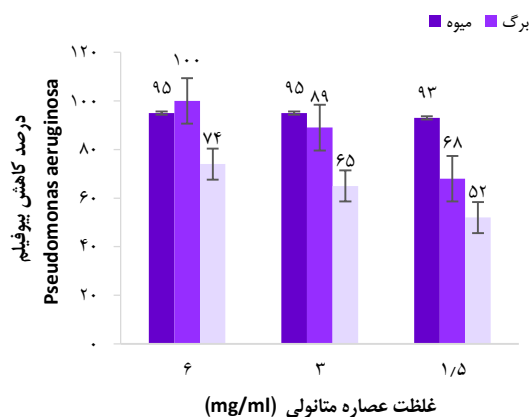
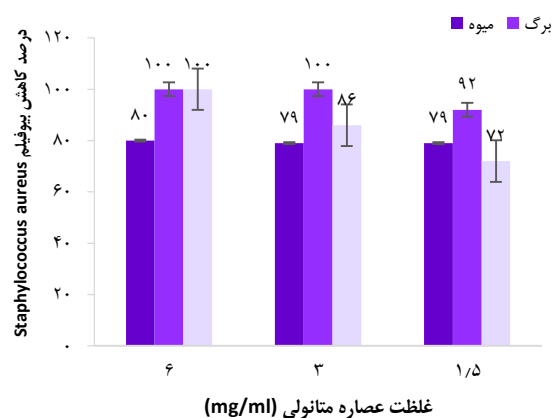
MIC: Minimum inhibitory concentration; MBC: Minimum bactericidal concentration

بحث

عصاره‌های گیاهی از زمان‌های قدیم برای درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. با توجه به ویژگی زیست‌سازگاری این مواد و اثرات دارویی مفید آن‌ها، تحقیق بر روی اثرات ضد باکتریایی گیاهانی که مصرف آن‌ها در طب سنتی برای درمان بیماری‌ها گزارش شده است، از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد (۱۴). در این پژوهش، نشان داده شد که عصاره‌های متانولی برگ، میوه و گال *Pistacia atlantica* اثرات ضد باکتریایی به نسبت بالایی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش به ویژه بر روی انواع گرم مثبت داشتند. در روش انتشار چاهک اندازه‌ی قطر هاله‌ی عدم رشد با مقدار غلظت عصاره‌ها رابطه‌ی مستقیمی داشت. روند اثرگذاری بر روی باکتری‌های منتخب مورد مطالعه، نشان دهنده‌ی آن است که عصاره‌ی متانولی این گیاه، اثر ضد باکتریایی مشخصی دارد که با افزایش غلظت یا به عبارت دیگر با افزایش ماده‌ی مؤثره، این اثر نیز بیشتر می‌شود. در بین باکتری‌های گرم مثبت مورد بررسی، *Bacillus cereus* عصاره‌ی متانولی برگ و گال و *Staphylococcus aureus* عصاره‌ی متانولی میوه با داشتن قطر هاله‌ی عدم رشد بزرگ‌تر در غلظت‌های مختلف از عصاره‌ها نسبت به اثر عصاره‌ی متانولی حساس‌تر بودند. باکتری گرم منفی *Pseudomonas aeruginosa* با قطر هاله‌ی عدم رشد بزرگ‌تر و میزان MIC کوچک‌تر در عصاره‌ی متانولی گال نسبت به باکتری *Escherichia coli* حساس‌تر بود.

در پژوهش صورت گرفته توسط Edrah و همکاران، اثر ضد باکتریایی عصاره‌ی اتانولی برگ *Pistacia atlantica* بر روی دو سویه‌ی باکتری گرم مثبت، *Staphylococcus epidermidis* و *Staphylococcus saprophyticus* و باکتری گرم منفی *Escherichia coli* بررسی شد. در روش دیسک دیفیوژن، *Escherichia coli* و *Staphylococcus epidermidis* نسبت به عصاره مقاوم بودند. قطر هاله‌ی عدم رشد برای *Staphylococcus saprophyticus* در غلظت ۵۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر ۸ میلی‌متر بود (۱۵)، اما در بررسی حاضر نیز عصاره‌ی متانولی برگ

همچنین، در غلظت‌های ۱۰۰-۳ میلی‌گرم/میلی‌لیتر عصاره‌ی متانولی میوه، تفاوت معنی‌داری بین قطر هاله‌ی عدم رشد همه‌ی باکتری‌های منتخب مشاهده گردید ($P < 0/05$). همچنین، قطر هاله‌ی عدم رشد عصاره‌ی متانولی گال در غلظت ۱۰۰-۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بین ۵ باکتری تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0/05$)؛ به عبارت دیگر، قطر هاله‌ی عدم رشد ناشی از فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های متانولی برگ، میوه و گال *Pistacia atlantica* با توجه به گونه‌ی باکتری مورد آزمایش متفاوت بود.



شکل ۱. اثر عصاره‌ی متانولی بخش‌های مختلف *Pistacia atlantica* بر کاهش بیوفیلم *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa*

بر روی باکتری *Escherichia coli* اثر مهاری نداشت.

در مطالعه‌ی مرتضوی و همکاران بر روی فعالیت ضد باکتریایی هسته‌ی میوه‌ی *Pistacia khinjuk* علیه *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*، مشخص شد حساسیت عصاره‌ی اتانولی هسته‌ی میوه‌ی پسته‌ی وحشی بر روی *Escherichia coli* بیشتر است. مقادیر MIC در محدوده‌ی ۲۰-۱۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر گزارش شد (۱۶). انتخاب روش و حلال مناسب بر روی فعالیت بیولوژیک عصاره‌ها تأثیرگذار است. عصاره‌های گیاهان، به طور معمول در حلال‌های آلی نظیر اتانول، متانول، استون و هگزان بهتر حل می‌شوند (۱۷).

یکی از نکات جالب در این پژوهش، فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های متانولی میوه و گال *Pistacia atlantica* بر روی *Pseudomonas aeruginosa* بود؛ در حالی که این باکتری، نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم مقاوم بود. طبق یافته‌های به دست آمده، قطر هاله‌ی عدم رشد *Pseudomonas aeruginosa* در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر در عصاره‌ی متانولی میوه و گال به ترتیب ۱۸/۶۷ و ۲۲/۳۳ میلی‌متر به دست آمد. فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ی متانولی میوه و گال *Pistacia atlantica* نسبت به فعالیت ضد باکتریایی آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم بر روی باکتری *Enterococcus faecalis* بیشتر بود. با افزایش غلظت هر کدام از عصاره‌ها، هاله‌ی بازدارندگی به طور معنی‌داری افزایش یافت. در مطالعه‌ی حاضر، مشخص شد با افزایش غلظت هر کدام از عصاره‌ها، هاله‌ی بازدارندگی به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره‌ی میوه و گال *Pistacia atlantica* با دارا بودن مقادیر بالای مواد مؤثره‌ی گیاهی بر روی باکتری‌های گرم مثبت، اثر مهاری بالایی دارند.

روزگار و همکاران، طی مطالعه‌ای گزارش نمودند که حداقل غلظت مهارکننده و حداقل غلظت کشنده‌ی عصاره‌ی آبی برگ *Pistacia atlantica* بر روی *Streptococcus mutans* ۶۰ و ۹۰ میکروگرم/میلی‌لیتر و برای *Streptococcus mitis* ۷۵ و ۱۱۰ میکروگرم/میلی‌لیتر بود (۱۸).

در مطالعه‌ی چهارمیری و همکاران، میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد عصاره‌ی استونی و متانولی گال قلقاف بلوط بر روی *Pseudomonas aeruginosa* در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب ۲۷ و ۲۴ میلی‌متر گزارش شد و MIC عصاره‌ی استونی و متانولی گال قلقاف ۰/۲۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اعلام شد. با توجه به نتایج مطالعات ایشان و یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، عصاره‌ی گال بلوط فعالیت ضد باکتریایی بالاتری نسبت به گال *Pistacia atlantica* دارد (۱۹).

در مورد اثرات ضد بیوفیلمی عصاره‌ی برگ، میوه و گال *Pistacia atlantica* پژوهشی در دسترس نبود. در مطالعه‌ی حاضر،

آزمون درصد کاهش بیوفیلم *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* به طور مشابهی در هر سه عصاره با افزایش غلظت عصاره‌ها رابطه‌ی مستقیمی داشت؛ به گونه‌ای که تشکیل بیوفیلم مطابق با شکل ۱، در غلظت‌های بالاتر از ۳ میلی‌گرم/میلی‌لیتر در عصاره‌ی متانولی بیش از ۹۰ درصد کاهش می‌یابد. در مطالعه‌ی، تأثیر عصاره‌های متانولی جفت بلوط، برگ پسته‌ی وحشی و برگ سنجد علیه سویه‌های استاندارد *Pseudomonas aeruginosa* بررسی و مشخص شد که این عصاره‌ها، قابلیت مهارکنندگی و کشندگی خوبی علیه این باکتری دارند. عصاره‌ی متانولی بلوط، پسته‌ی وحشی و سنجد، به ترتیب ۶۰/۲۴، ۵۷/۳۵ و ۷۲/۶۳ درصد تشکیل بیوفیلم *Pseudomonas aeruginosa* را مهار کرد. طبق این یافته‌ها، مشخص شد عصاره‌ی متانولی سنجد نسبت به دو عصاره‌ی دیگر، توانایی بالاتری در مهار بیوفیلم دارد (۲۰). همچنین، اثر مهاری عصاره‌ی اتانولی، متانولی و استونی بلوط بر روی بیوفیلم *Streptococcus mutans* مشخص کرد غلظت‌های کمتر از ۱۹/۵ میکروگرم/میلی‌لیتر از هر سه نوع عصاره‌ی آزمایش شده، کمتر از ۵۰ درصد در حذف بیوفیلم تأثیر داشتند؛ اما با افزایش غلظت عصاره‌ها از ۱۹/۵ تا ۳۱۲/۵ میکروگرم/میلی‌لیتر، بیوفیلم *Streptococcus mutans* حذف گردید. در غلظت ۳۱۲/۵ میکروگرم/میلی‌لیتر از عصاره‌ی استونی و اتانولی گال بلوط، بیوفیلم *Streptococcus mutans* ۱۰۰ درصد حذف شد (۲۱).

در مطالعه‌ی امید و شریفی، حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌ی متانولی برگ پسته‌ی وحشی علیه *Pseudomonas aeruginosa* ۲/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود. همچنین، این عصاره به میزان ۳۵/۵۷ درصد از تشکیل بیوفیلم *Pseudomonas aeruginosa* جلوگیری کرد (۲۰). با مقایسه‌ی نتایج مطالعه‌ی پیش‌گفته (۲۰) و یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که عصاره‌های *Pistacia atlantica* تأثیر زیادی در مهار بیوفیلم باکتری‌ها دارند که این مسئله، به احتمال زیاد به دلیل ترکیبات فعال خاصی است که در عصاره‌های استخراج شده وجود دارد. عصاره‌ی متانولی گال *Pistacia atlantica* نسبت به عصاره‌ی گیاهان پیش‌گفته، اثر مهاری بیشتری بر *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* داشت که می‌تواند نشان دهنده‌ی این مطلب باشد که مواد مؤثره‌ی موجود در گال، ماهیت‌های شیمیایی مختلفی دارد که به واسطه‌ی حلال‌های گوناگون قابل جداسازی می‌باشد.

با توجه به یافته‌های به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر، عصاره‌ی متانولی برگ، میوه و گال دارای فعالیت ضد باکتریایی است. از این رو، بررسی‌های فارموکولوژیک بر روی این عصاره‌ها ضروری است.

فلاورجان به انجام رسید. بدین وسیله از کارشناسان محترم آزمایشگاه تحقیقاتی این دانشگاه قدردانی می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۱۷۲۳۰۵۰۷۹۴۲۰۰۶ است که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد

References

- Shokri D, Rabbani-Khorasgani M. New molecular resistance mechanisms against antibiotics in bacteria. *J Isfahan Med Sch* 2015; 33(328): 410-28. [In Persian].
- Taj Y, Essa F, Aziz F, Kazmi SU. Study on biofilm-forming properties of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dev Ctries* 2012; 6(5): 403-9.
- Wu H, Moser C, Wang HZ, Hoiby N, Song ZJ. Strategies for combating bacterial biofilm infections. *Int J Oral Sci* 2015; 7(1): 1-7.
- Solanki R. Some medicinal plants with antibacterial activity. *Pharmacie Globale* 2010; 1(4): 1-4.
- Aliasghari A, Rabbani M, Khoroushi M, Emami H. In-vitro effect of alcoholic extract of *Rosa damascene* extract on cariogenic streptococci. *J Isfahan Med Sch* 2015; 33(327): 326-35. [In Persian].
- Mahdavi A. The economic, social, and ecological impacts of wild pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.) oleo-gum resin extraction cooperatives in Zagros forests, Ilam province, Iran. *Forests, Trees and Livelihoods* 2015; 24(4): 275-84.
- Taheri Abkenar K, Salehi A, Bagheri J, Ravanbakhsh H. Some ecological properties of *Pistacia atlantica* Desf. in Khojir National Park, Iran. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology* 2013; 19(3): 415-20.
- Martinez J-JI. Impact of a gall-inducing aphid on *Pistacia atlantica* Desf. trees. *Arthropod Plant Interact* 2008; 2(3): 147-51.
- Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J Food Eng* 2013; 117(4): 426-36.
- Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc* 2008; 3(2): 163-75.
- Balouiri M, Sadiki M, Ibensouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal* 2016; 6(2): 71-9.
- Pompilio A, Pomponio S, Di V, V, Crocetta V, Nicoletti M, Piovano M, et al. Antimicrobial and antibiofilm activity of secondary metabolites of lichens against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from cystic fibrosis patients. *Future Microbiol* 2013; 8(2): 281-92.
- Pitts B, Hamilton MA, Zelver N, Stewart PS. A microtiter-plate screening method for biofilm disinfection and removal. *J Microbiol Methods* 2003; 54(2): 269-76.
- Karakas FP, Yildirim A, Turker A. Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. *Turk J Biol* 2012; 36(6): 641-52.
- Edrah S, Alafid F, Kumar A. Preliminary Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Pistacia atlantica* and *Prunus persica* Plants of Libyan Origin. *International Journal of Science and Research* 2013; 4(2): 1552-5.
- Mortazavi SH, Azadmard Damirchi S, Sowti M, Mahmudi R, Safaeian F, Moradi Azad S. Antimicrobial effects of ethanolic extract of the hull and the core of *Pistacia Khinjuk* stocks. *Innovative Food Technologies* 2014; 1(4): 81-8. [In Persian].
- Mudzeni CP, Murwira A, Tivapasi M, Murungweni C, Burumu JV, Halimani T. Antibacterial activity of aqueous and methanol extracts of selected species used in livestock health management. *Pharm Biol* 2017; 55(1): 1054-60.
- Roozegar MA, Azizi JF, Reza HM, Panahi J, Pakzad I. Antimicrobial effect of *Pistacia atlantica* leaf extract. *Bioinformation* 2016; 12(1): 19-21.
- Chaharmiri Dokhaharani S, Karbasizadeh V, Mohammadi-Sichani M, Tavakoli M. Antibacterial activity of aqueous extracts of Mazuj and Ghalghaf galls of *Quercus infectoria* in Lorestan forests. *Yafte* 2013; 15(2): 43-51. [In Persian].
- Omidi A, Sharifi A. The effect of methanolic extracts of plants *quercus brantii*, *pistacia atlantica* and *elaegnus angustifolia* on biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Armaghane-danesh* 2017; 21(10): 999-1012. [In Persian].
- Mohammadi-Sichani M, Karbasizadeh V, Dokhaharani SC. Evaluation of biofilm removal activity of *Quercus infectoria* galls against *Streptococcus mutans*. *Dent Res J (Isfahan)* 2016; 13(1): 46-51.

Antibiofilm and Antibacterial Activity of Pistacia Atlantica against some Pathogenic Bacteria

Golnar Darakhshandeh-Ghahferokhi¹, Maryam Mohammadi-Sichani², Majid Tavakoli³

Original Article

Abstract

Background: Bacterial infections and the antibiotic resistance of pathogens are the most important challenges faced by researchers and physicians. In this study, the antibacterial and antibiofilm properties of methanol extracts of leaf, fruit, and gall of Pistacia atlantica were evaluated against some of pathogenic bacteria.

Methods: Leaf, fruit, and gall of Pistacia atlantica were collected from forests of Lorestan Province, Iran. Antibacterial properties were investigated against Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa, and Escherichia coli through the well diffusion method. The microdilution method was used to determine the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration. The antibiofilm activity of methanol extract was studied in the sub-lethal concentrations on biofilm formation of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa using microtiter plate method.

Findings: The methanol extracts of leaf, fruit, and gall of Pistacia atlantica had significant antibacterial effects against the tested bacteria except Escherichia coli. There was a significant relationship between the antibacterial activity and the extract concentration ($P < 0.05$). The highest antibacterial effect was observed in the gall methanol extract. The minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration of the methanol extract of leaf, fruit, and gall was 3.0-12.5 and 6.25-25.00 mg/ml, respectively. The methanol extract of Pistacia atlantica gall at a concentration of 6 mg/ml reduced the biofilm production of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa by 100% and 74%, respectively.

Conclusion: The methanol extracts of different parts of Pistacia atlantica had antibacterial effects. In addition, the methanol extract reduced biofilm production of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa.

Keywords: Plant extracts, Pistacia, Antibacterial agents, Biofilm

Citation: Darakhshandeh-Ghahferokhi G, Mohammadi-Sichani M, Tavakoli M. **Antibiofilm and Antibacterial Activity of Pistacia Atlantica against some Pathogenic Bacteria.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(482): 594-600.

1- Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Agricultural and Natural Resources Research Center of Lorestan, Khorramabad, Iran

Corresponding Author: Maryam Mohammadi-Sichani, Email: mohamadi_m@iaufala.ac.ir

ارزیابی آشوبناکی سیگنال الکتروانسفالوگرام در سطوح مختلف بیهوشی

احسان محمدی^۱، سعید کرمانی^۲، محمد گلپور^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: امروزه، دستیابی به نمایشگرها و ابزارهایی که به طور دقیق قادر به تعیین خودکار عمق بیهوشی از روی سیگنال الکتروانسفالوگرام باشند، بسیار مورد توجه است. هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی رویکردی جهت ارزیابی دینامیسم آشوب مغز و فعالیت الکتریکی منتج از آن به منظور بهره‌گیری از دستاوردهای این نظریه در علوم شناختی است.

روش‌ها: بر اساس نظریه‌ی آشوب، سیگنال الکتروانسفالوگرام در سطوح مختلف بیهوشی تجزیه و تحلیل و ویژگی‌های آشوبناکی سیگنال استخراج گشت و از نظر مسیر، حالت سیستم آشوبناک مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌منظور ارزیابی تأثیر عمق بیهوشی بر آشوبناکی سیگنال الکتروانسفالوگرام، مدل‌های مختلفی مبتنی بر طبقه‌بند Random forest (RF) و ماشین بردار پشتیبان (Support vector machine یا SVM) ایجاد شد. همچنین، روشی جهت استخراج شاخص‌های بزرگ‌ترین نمای Lyapunov (Lyapunov exponent) و بعد فرکتال Higuchi (Higuchi's fractal dimension) از روی سیگنال تک کاناله‌ی الکتروانسفالوگرافی مربوط به ۲۰ بیمار تحت عمل جراحی با بیهوشی توسط گاز استنشاقی پیشنهاد گردید و با روش K-fold مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: ارزیابی مدل‌های مستخرج نشان دهنده‌ی تکرارپذیری و تفکیک‌پذیری بسیار خوب این مدل‌ها با صحت بالای ۹۳ درصد است.

نتیجه‌گیری: مغز و فعالیت الکتریکی منتج از آن، دارای دینامیسم آشوب است؛ از این رو، می‌توان از دستاوردهای نظریه‌ی آشوب علاوه بر بهره‌گیری در گسترش نمایشگرهای سطح بیهوشی در بسیاری از پژوهش‌های علوم شناختی در تجزیه و تحلیل سیگنال الکتروانسفالوگرام نیز بهره برد.

واژگان کلیدی: بیهوشی، آشوب، الکتروانسفالوگرام، فرکتال

ارجاع: محمدی احسان، کرمانی سعید، گلپور محمد. ارزیابی آشوبناکی سیگنال الکتروانسفالوگرام در سطوح مختلف بیهوشی. مجله دانشکده پزشکی

اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۸۲): ۶۰۶-۶۰۱

مقدمه

تعیین صحیح عمق بیهوشی، در هر عمل جراحی امری ضروری است؛ به طوری که افزایش بیش از حد این عمق، شانس مرگ مغزی و یا اختلالات شناختی پس از هوشیاری را افزایش می‌دهد و کاهش آن، علاوه بر این که احتمال به هوش آمدن ناخواسته‌ی بیمار را افزایش می‌دهد، می‌تواند عامل خطرات کابوس‌وار پس از هوشیاری شود. بدین ترتیب، امروزه دستیابی به نمایشگرها و ابزارهایی که به طور دقیق قادر به تعیین خودکار عمق بیهوشی از روی سیگنال الکتروانسفالوگرام (Electroencephalogram یا EEG) باشند، بسیار مورد توجه می‌باشد. یک تحلیل گسترده از تأثیر بالینی این ابزارها در آزمایش‌های تصادفی

که شامل ۱۳۸۰ بیمار تحت عمل جراحی می‌شد، نشان می‌دهد که استفاده از مراقبت و پایش خودکار عمق بیهوشی، به‌طور متوسط مصرف مواد بیهوشی را کاهش می‌دهد، در احساس سرگیجه و تهوع و همچنین، زمان ماندن در اتاق ریکاوری مؤثر است (۱-۲).

Nguyen-Ky و همکاران، با استفاده از ویولت، بردار ویژه، تخمین طیف به وسیله‌ی ماتریس کورلیشن (Correlation matrix) و روش‌های طبیعی‌سازی، معیار جدیدی برای تعیین عمق بیهوشی معرفی کرده‌اند. آن‌ها ویولت Daubechies را ترجیح دادند و از آن برای تخمین بیهوشی در ۵ سطح استفاده نمودند. نتایج نشان از انطباق خوب این شیوه با شاخص دوطیفی (Bispectral index یا BIS) است (۳).

۱- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی پزشکی (بیوالکترونیک) و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین در علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه مهندسی پزشکی (بیوالکترونیک)، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین در علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

Email: kermani@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: سعید کرمانی

نظریه‌ی آشوب، یکی از نظریه‌های مورد توجه جهت بیان ویژگی‌های یک سیگنال حیاتی است. طبق این نظریه، سیستم‌های آشوبناک سیستم‌های دینامیک غیر خطی هستند که حساسیت بالایی نسبت به شرایط اولیه دارند؛ به طوری که تغییرات اندک در شرایط اولیه‌ی آن‌ها، موجب تغییرات بسیار زیاد در فضای حالت سیستم خواهد شد. این پدیده، به اثر پروانه‌ای مشهور است (۴).

در این سیستم‌ها، مسیر حالت (System trajectory) در غایت نظم است، اما بر اثر پیچیدگی، رفتار آن‌ها ظاهر بی‌نظمی دارد. ارتباط نرونی در مغز، به عنوان یک سیستم با رفتاری آشوبناک مورد توجه بسیاری از محققین بوده است. ارزیابی آشوب‌گونه بودن رفتار یک سیستم با توجه به رصد فضای حالت و ویژگی‌های مستخرج از فضای حالت آن بدون توجه به ساختار درونی آن میسر است. از جمله مهم‌ترین ویژگی‌ها برای ارزیابی آشوبناکی یک سیستم، بعد فرکتال (Fractal dimension یا FD) و نمای Lyapunov (Lyapunov exponent) است. از این شاخص‌ها که دینامیک غیر خطی سیستم‌های بیولوژیک را ارزیابی می‌کنند، در تشخیص بیماری‌ها از روی تصاویر پزشکی و سیگنال‌های پزشکی استفاده شده است (۵-۷). در این پژوهش، بر اساس نظریه‌ی آشوب، سیگنال الکتروانسفالوگرام در سطوح بیهوشی عمیق، بیهوشی سبک و هوشیاری تجزیه و تحلیل می‌شود و ویژگی‌های آشوبناکی سیگنال استخراج و مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت. می‌خواهیم به این سؤال پاسخ دهیم که «آیا الکتروانسفالوگرافی که منتج از فعالیت مغزی است، در سطوح مختلف بیهوشی و طبق نظریه‌ی آشوب دارای رفتار و دینامیک سیستم‌های آشوب‌گونه است؟».

نظریه‌ی آشوب، یکی از نظریه‌های مورد توجه جهت بیان ویژگی‌های یک سیگنال حیاتی است. طبق این نظریه، سیستم‌های آشوبناک سیستم‌های دینامیک غیر خطی هستند که حساسیت بالایی نسبت به شرایط اولیه دارند؛ به طوری که تغییرات اندک در شرایط اولیه‌ی آن‌ها، موجب تغییرات بسیار زیاد در فضای حالت سیستم خواهد شد. این پدیده، به اثر پروانه‌ای مشهور است (۴).

در این سیستم‌ها، مسیر حالت (System trajectory) در غایت نظم است، اما بر اثر پیچیدگی، رفتار آن‌ها ظاهر بی‌نظمی دارد. ارتباط نرونی در مغز، به عنوان یک سیستم با رفتاری آشوبناک مورد توجه بسیاری از محققین بوده است. ارزیابی آشوب‌گونه بودن رفتار یک سیستم با توجه به رصد فضای حالت و ویژگی‌های مستخرج از فضای حالت آن بدون توجه به ساختار درونی آن میسر است. از جمله مهم‌ترین ویژگی‌ها برای ارزیابی آشوبناکی یک سیستم، بعد فرکتال (Fractal dimension یا FD) و نمای Lyapunov (Lyapunov exponent) است. از این شاخص‌ها که دینامیک غیر خطی سیستم‌های بیولوژیک را ارزیابی می‌کنند، در تشخیص بیماری‌ها از روی تصاویر پزشکی و سیگنال‌های پزشکی استفاده شده است (۵-۷). در این پژوهش، بر اساس نظریه‌ی آشوب، سیگنال الکتروانسفالوگرام در سطوح بیهوشی عمیق، بیهوشی سبک و هوشیاری تجزیه و تحلیل می‌شود و ویژگی‌های آشوبناکی سیگنال استخراج و مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت. می‌خواهیم به این سؤال پاسخ دهیم که «آیا الکتروانسفالوگرافی که منتج از فعالیت مغزی است، در سطوح مختلف بیهوشی و طبق نظریه‌ی آشوب دارای رفتار و دینامیک سیستم‌های آشوب‌گونه است؟».

$$X(i) = [x(i + \tau), x(i + 2\tau), \dots, x(i + (m - 1)\tau)] \quad i = 1, 2, \dots, N - (m - 1)\tau \quad (1)$$

که در آن $X(i)$ بردار بیانگر نقطه‌ی i ام از فضای حالت سیگنال است. این فضا شامل $N - (m - 1)\tau$ نقطه می‌باشد. τ تأخیر زمانی است. روش‌های زیادی برای تخمین τ وجود دارد که در این مطالعه، از روش خود مانایی (Autocorrelation) استفاده شده است. ابتدا تابع خود مانایی طبیعی‌سازی شده، طبق رابطه‌ی (۲) محاسبه می‌شود:

$$g(n) = \frac{\sum_k X_k X_{k+n}}{\sum_k |X_k|^2} \quad (2)$$

و سپس، با فرض نمایی بودن تابع شباهت، τ از روی تابع خود مانایی و از رابطه‌ی (۳) تخمین زده می‌شود:

$$g(n) = a * e^{-n\tau} \quad (3)$$

در واقع، میزان همبستگی و شباهت را در سیگنال اندازه‌گیری و با محاسبه‌ی آن، می‌توان میزان درستی از متغیرهای مستقل را که برای

روش‌ها

در این مطالعه به منظور ارزیابی تأثیر عمق بیهوشی بر آشوبناکی سیگنال از مجموعه داده‌ای استفاده شده که در برخی از مطالعات قبلی از آن استفاده و معرفی شده است (۸-۹). این مجموعه شامل سیگنال الکتروانسفالوگرام از ۲۰ بیمار تحت عمل جراحی عمومی و یا ارتوپدی با بیهوشی توسط گاز استنشاقی سوپرفلوران است. از بیماران رضایت نامه کتبی گرفته شده است. مرجع ثبت سیگنال مغزی و تعیین عمق بیهوشی دستگاه مانیتورینگ آنتروپی کمپانی Datex-ohmed می‌باشد (۱۰). بر اساس میزان دو آنتروپی محاسبه شده توسط دستگاه (آنتروپی پاسخ و آنتروپی حالت)، به دادگان سه برجسب هوشیاری، بیهوشی سبک و بیهوشی عمیق زده می‌شود (۱۱). سیگنال ثبت شده، یک کاناله و دارای باند فرکانسی ۰/۸-۴۷ بود که با فرکانس ۱۰۰ هرتز نمونه‌برداری شد. این نمایشگر، سیگنال الکتروانسفالوگرام تک کاناله را به همراه دو آنتروپی پاسخ

مدل کردن سیستم نیاز است، به دست آورد. از این رو، افزایش میزان همبستگی و خود مانایی معادل نیاز به متغیر کمتر برای مدل کردن سیگنال است. بعد فرکتال Higuchi، به عنوان یکی از معیارهای محاسبه‌ی پیچیدگی و آشوبناکی سیگنال در بررسی تغییرات سیگنال مغزی در حین بیهوشی (۱۳) و در سایر فرایندهای بیولوژیکی (۱۵-۱۴) مورد توجه است. از طرفی، نماهای Lyapunov حساسیت سیستم را به شرایط اولیه کمی‌سازی و مقدار ناپایداری یا قابلیت پیش‌بینی سیستم را کمی می‌کنند. یک سیستم دینامیک m بعدی، m نمای Lyapunov دارد. در بیشتر کاربردها، کافی است که تنها بزرگ‌ترین نمای Lyapunov به جای تمام نماهای Lyapunov محاسبه شود. الگوریتم‌های زیادی برای تخمین بزرگ‌ترین نمای Lyapunov (Largest Lyapunov exponent یا LLE) وجود دارد که بیشتر آن‌ها زمان اعمال به یک سری کوتاه مدت، قابل اعتماد نیستند. در این مقاله، از روشی که توسط Rosenstein و همکاران پیشنهاد شده بود، استفاده گردید که نسبت به طول دادگان بسیار قوی (Robust) است (۱۶).

اهمیت *Burst suppression ratio (BSR)* و *نحوه‌ی محاسبه*
آن: شاخص مهمی که در بسیاری از منابع و سیستم‌ها جهت پایش سطح بیهوشی به کار می‌رود، شاخص زمانی الگوی ایست فعالیت مغزی (BSR) است. با افزایش عمق بیهوشی، سیگنال الکتروانسفالوگرام در بازه‌های زمانی خاصی دچار افت بسیار شدید دامنه می‌شود، اما با عمیق‌تر شدن بیهوشی و در طی بازه‌های زمانی کوتاه، دامنه‌ی سیگنال به شدت افزایش و سپس، دوباره کاهش می‌یابد. به نسبت این بازه‌های زمانی (بازه‌ی زمانی افزایش شدید دامنه به بازه‌ی زمانی کاهش شدید دامنه) که به صورت درصد بیان می‌شود، BSR گفته می‌شود. افزایش BSR مقارن با افزایش عمق بیهوشی است. در این پژوهش، برای محاسبه‌ی BSR، از روش پیشنهاد شده در مطالعات پیشین (۱۷) استفاده شد.

طبقه‌بندی کننده‌ها: در این پژوهش، برای تعیین عمق بیهوشی، از بین طبقه‌بندهای رایج، روش‌های ماشین بردار پشتیبان (Support vector machine یا SVM)، نزدیک‌ترین همسایه

یافته‌ها

در این پژوهش، با به کارگیری طبقه‌بندهای پیش‌گفته و استخراج سه ویژگی از سیگنال‌های الکتروانسفالوگرام یک ثانیه‌ای با هم‌پوشانی ۵۰ درصد و با استفاده از اپراتور میانه برای هر بازه‌ی پنج ثانیه‌ای، عمل استخراج ویژگی انجام شد. سپس، بدون در نظر گرفتن وابستگی آن‌ها به صورت تصادفی ویژگی‌های پیش‌گفته مرتب و از روش k fold cross validation با $k = 30$ برای ارزیابی استفاده شد. این روش معمول، ۱۰ بار تکرار گردید تا از عدم وابستگی نتایج به سایر عوامل تأثیرگذار بر تبیین مدل اطمینان حاصل شود و فرایند از تکرارپذیری بالایی برخوردار گردد. صحت مدل‌ها بر اساس نسبت بین تعداد بخش‌های الکتروانسفالوگرام که درست برچسب‌گذاری شوند، به کل بخش‌های اعمال شده تعریف شد. مقایسه‌ی نتایج به دست آمده از مدل‌های حاصل از سه رویکرد طبقه‌بندی، نشان می‌دهد که مدل‌های حاصل از RF از صحت بالاتری برخوردار بودند. نتایج ارزیابی مدل RF بر روی کل دادگان (شامل ۳۴۸۲ بخش الکتروانسفالوگرام) مطابق جدول ۱ می‌باشد. مقادیر میانگین طبیعی‌سازی شده‌ی شاخص Lyapunov و بعد فرکتال Higuchi برای هر گروه در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱. نتایج ارزیابی مدل **Random forest (RF)** بر روی کل

دادگان

FD & LLE & BSR	LLE & BSR	FD & BSR	
۹۳/۴۱	۹۲/۹۵	۹۲/۳۰	میانگین صحت مدل
۱/۰۸	۰/۶۷	۱/۰۸	واریانس صحت مدل

FD: Fractal dimension; BSR: Burst suppression ratio; LLE: Largest Lyapunov exponent

جدول ۲. مقادیر میانگین طبیعی‌سازی شده‌ی شاخص Lyapunov و بعد فرکتال Higuchi برای هر گروه

بیهوشی عمیق	بیهوشی سبک	هوشیاری	
۳/۱۶۰ ± ۰/۰۱۸	۳/۲۶۰ ± ۰/۰۱۶	۳/۳۷۰ ± ۰/۰۱۹	
۱/۲۶۰ ± ۰/۰۲۷	۱/۴۳۴ ± ۰/۰۵۸	۱/۶۸۹ ± ۰/۰۶۳	LLE
۳/۱۶۰ ± ۰/۰۱۸	۳/۲۶۰ ± ۰/۰۱۶	۳/۳۷۰ ± ۰/۰۱۹	FD
۱۹۸۵	۶۴۸	۸۴۹	تعداد بخش‌ها

FD: Fractal dimension; LLE: Largest Lyapunov exponent

دارد. از طرفی، با افزایش سطح هوشیاری از بیهوشی عمیق به بیهوشی سبک و هوشیاری، مقادیر Higuichi و LLE در جدول ۲ افزوده شده است که نشان دهنده‌ی افزایش پیچیدگی فعالیت سیستم عصبی است؛ چرا که LLE مقدار ناپایداری یا قابلیت پیش‌بینی سیستم را کمی می‌کند. حضور LLE مثبت، مؤید آشوبناکی این سیستم است. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که مغز و فعالیت الکتریکی منتج از آن، دارای دینامیسم آشوب می‌باشد. از این رو، منطبق با نظریه‌ی آشوب، می‌توان به مغز و سیستم اعصاب مرکزی از منظر یک سیستم آشوبناک نگاه کرد و از دستاوردهای این نظریه، علاوه بر بهره‌گیری در گسترش نمایشگرهای سطح هوشیاری در بسیاری از تحقیقات و پژوهش‌های علوم شناختی نیز بهره برد.

تشریح و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۱۹۵۱۱۴ مصوب معاونت پژوهش و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. نویسندگان از این معاونت جهت تأمین بودجه‌ی انجام طرح تشکر و قدردانی می‌نمایند.

بدین ترتیب، با ترکیب این ویژگی‌ها مدل جدیدی برای تفکیک حالت بیهوشی عمیق از بیهوشی سبک و هوشیاری، مبتنی بر نظریه‌ی آشوب استخراج گردید.

میانگین و واریانس صحت عملکرد مدل در تفکیک سه دسته‌ی هوشیاری، بیهوشی سبک و بیهوشی عمیق در جدول ۱ آمده است. در این جدول، مقادیر میانگین و واریانس صحت مدل، در حالت‌های مختلف ترکیب شاخص‌های آشوب‌گونه، با شاخص BSR دیده می‌شود.

بحث

در این پژوهش، با ترکیب ویژگی‌های مستخرج از نظریه‌ی آشوب، مدل‌های جدیدی برای تفکیک حالت بیهوشی عمیق از بیهوشی سبک و هوشیاری مبتنی بر نظریه‌ی آشوب استخراج گردید. خلاصه‌ی نتایج ارزیابی این مدل‌ها بر روی دادگان، موجود در جدول ۱، کارآمدی مدل‌های پیشنهادی و بهبود صحت عملکرد مدل‌های مستخرج را با افزایش تعداد شاخص‌های به کار برده شده، منتج از نظریه‌ی آشوب، نشان می‌دهد و حکایت از تفکیک‌پذیری و انطباق مناسب این حالت‌ها با سایر شواهد بالینی ۲۰ بیمار در وضعیت‌های پیش‌گفته

References

- Liu SS. Effects of Bispectral Index monitoring on ambulatory anesthesia: A meta-analysis of randomized controlled trials and a cost analysis. *Anesthesiology* 2004; 101(2): 311-5.
- Jameson LC, Sloan TB. Using EEG to monitor anesthesia drug effects during surgery. *J Clin Monit Comput* 2006; 20(6): 445-72.
- Nguyen-Ky T, Wen P, Li Y, Malan M. Measuring the hypnotic depth of anaesthesia based on the EEG signal using combined wavelet transform, eigenvector and normalisation techniques. *Comput Biol Med* 2012; 42(6): 680-91.
- Boeing G. Chaos Theory and the Logistic Map [Online]. [cited 2016]; Available from: URL: <http://geoffboeing.com/2015/03/chaos-theory-logistic-map/>
- Shabani-Boroujeni T, Kermani S, Barekatin M, Kashefpoor M. Proposing an approach for diagnosis of mild cognitive impairment based on approximate entropy. *J Isfahan Med Sch* 2017; 34(407): 1356-61. [In Persian].
- Abbasi MR, Kermani S, Talebi A. A novel and more efficient approach for automatic diagnosis of acute lymphoblastic leukemic cells based on combining geometrical and statistical features of blood cells. *J Isfahan Med Sch* 2017; 35(433): 643-7. [In Persian].
- Etehad Tavakol M, Lucas C, Sadri S, Ng EYK. Analysis of breast thermography using fractal dimension to establish possible difference between malignant and benign patterns. *J Healthc Eng* 2010; 1(1): 27-43.
- McKay ID, Voss LJ, Sleight JW, Barnard JP, Johannsen EK. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling the hypnotic effect of sevoflurane using the spectral entropy of the electroencephalogram. *Anesth Analg* 2006; 102(1): 91-7.
- Li D, Li X, Liang Z, Voss LJ, Sleight JW. Multiscale permutation entropy analysis of EEG recordings during sevoflurane anesthesia. *J Neural Eng* 2010; 7(4): 046010.
- Musizza B, Ribaric S. Monitoring the depth of anaesthesia. *Sensors (Basel)* 2010; 10(12): 10896-935.
- Voss L, Sleight J. Monitoring consciousness: the current status of EEG-based depth of anaesthesia monitors. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2007; 21(3): 313-25.
- Takens F. Detecting strange attractors in turbulence. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1981 p. 366-81.
- Kuhlmann L, Manton JH, Heyse B, Vereecke EM, Lipping T, Struys MMRF, et al. Tracking electroencephalographic changes using distributions of linear models: application to propofol-based depth of anesthesia monitoring. *IEEE Trans Biomed Eng* 2017; 64(4): 870-81.
- Scarpa F, Rubega M, Zanon M, Finotello F, Sejling AS, Sparacino G. Hypoglycemia-induced EEG complexity changes in Type 1 diabetes assessed by fractal analysis algorithm. *Biomed Signal Process Control* 2017; 38: 168-73.

15. Cukic M, Pokrajac D, Stokic M, Simic S, Radivojevic V, Ljubisavljevic M. EEG machine learning with Higuchi fractal dimension and Sample Entropy as features for successful detection of depression [Online]. [cited 15 Mar 2018] ; Available from: URL: <https://arxiv.org/abs/1803.05985>
16. Rosenstein MT, Collins JJ, De Luca CJ. A practical method for calculating largest Lyapunov exponents from small data sets. *Physica D: Nonlinear Phenomena* 1993; 65(1): 117-34.
17. Chemali J, Ching S, Purdon PL, Solt K, Brown EN. Burst suppression probability algorithms: state-space methods for tracking EEG burst suppression. *J Neural Eng* 2013; 10(5): 056017.
18. Sen B, Peker M, Cavusoglu A, Celebi FV. A comparative study on classification of sleep stage based on EEG signals using feature selection and classification algorithms. *J Med Syst* 2014; 38(3): 18.
19. Ho KT. Random decision forests. *Proceedings of 3rd International Conference on Document Analysis and Recognition*; 1995 Aug 14-16; Montreal, Canada. p. 278-82.

Evaluation of Chaos on Electroencephalogram in Different Depths of Anesthesia

Ehsan Mohammadi¹, Saeed Kermani², Mohammad Golparvar³

Original Article

Abstract

Background: Today having monitors and instruments which are able to automatically and precisely determine the depth of anesthesia from the electroencephalogram (EEG) signal is important. The purpose of this was is to provide an approach to assess the dynamics of brain chaos and its electrical activity in order to take advantage of the achievements of this theory in cognitive science.

Methods: According to the chaos theorem, the chaotic features of the electroencephalogram signal in different anesthesia levels have been extracted and evaluated as a chaotic system trajectories. In order to evaluate the effect of anesthesia level on the chaotic behavior of electroencephalogram signal, different models created based on the random forest, and the support vector machine modeling. We proposed a procedure to extract largest Lyapunov exponential and Higuchi's fractal dimension as chaotic features from one channel electroencephalogram in 20 patients under the different depths of anesthesia with sevoflurane; the evaluation was done using K-fold procedure.

Findings: Evaluation of extracted models indicated that mentioned models had repeatability and separability with the accuracy of more than 93%.

Conclusion: Results show that the brain and its electrical activities have chaotic dynamism. Therefore, we can take advantage of chaos theorem in developing of anesthesia monitoring, as well as in many other researches related to the cognitive sciences by analyzing the electroencephalogram signal based on the chaos theorem.

Keywords: Anesthesia, Chaos theory, Electroencephalogram, Fractals

Citation: Mohammadi E, Kermani S, Golparvar M. **Evaluation of Chaos on Electroencephalogram in Different Depths of Anesthesia.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(482): 601-6.

1- PhD Student, Department of Bioelectrics and Biomedical Engineering AND Student Research Committee, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Bioelectrics and Biomedical Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Professor, Department of Anesthesiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Saeed Kermani, Email: kermani@med.mui.ac.ir

اثر ۲۴- هیدروکسی کلسترول در تولید گونه‌های فعال اکسیژن در آستروسیت‌های کشت داده شده تیمار شده با آمیلوئید بتا

زهرا ناظری^۱، شیرین عزیزی دوست^۲، مریم چراغ‌زاده^۳، بهار سپیانی^۱، علیرضا خیراله^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیماری آلزایمر، یک بیماری Neurodegenerative می‌باشد که با تجمع خارج سلولی پلاک‌های آمیلوئید بتا و کلسترول و فرم هایپرفسفریله‌ی Tau در داخل سلول مشخص می‌شود. آمیلوئید بتا، در پاتوژنز آلزایمر و القای گونه‌های فعال اکسیژن (ROS یا Reactive oxygen species) درگیر می‌باشد. از آن جایی که ۲۴- هیدروکسی کلسترول به عنوان یک متابولیت قطبی می‌تواند کلسترول اضافی را از مغز خارج کند، در این مطالعه، نقش تنظیمی ۲۴- هیدروکسی کلسترول بر سطح گونه‌های فعال اکسیژن القا شده توسط کلسترول خارجی و آمیلوئید بتا مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: سلول‌های آستروسیت از مغز موش‌های یک روزه با نژاد C57BL/6 استخراج و در محیط (FBS) Fetal bovine serum (۱۰ درصد + Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) کشت داده شدند. میزان گونه‌های فعال اکسیژن درون سلولی در حضور غلظت‌های مختلف کلسترول و همچنین، در سلول‌های تیمار شده با آمیلوئید بتا در حضور و عدم حضور ۲۴- هیدروکسی کلسترول با استفاده از دستگاه فلوریمتری اندازه‌گیری و نتایج با استفاده از روش ANONA و نرم‌افزار SPSS واکاوی گردید.

یافته‌ها: تولید ROS در سلول‌های تیمار شده با آمیلوئید بتا و کلسترول خارجی نسبت به گروه شاهد به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت؛ در حالی که میزان ROS افزایش یافته توسط آمیلوئید بتا، به طور قابل ملاحظه‌ای در حضور ۲۴- هیدروکسی کلسترول کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: بر اساس گزارش‌های فراوان، آمیلوئید بتا موجب افزایش کلسترول در بیماران دچار آلزایمر می‌شود. از طرف دیگر، ۲۴- هیدروکسی کلسترول، یک عامل مهم در تنظیم هموستاز کلسترول مغز می‌باشد که با کاهش کلسترول می‌تواند نقش مؤثری در کاهش تولید ROS در شرایطی همانند آلزایمر داشته باشد.

واژگان کلیدی: آلزایمر، آمیلوئید بتا، ۲۴- هیدروکسی کلسترول، کلسترول، گونه‌های فعال اکسیژن

ارجاع: ناظری زهرا، عزیزی دوست شیرین، چراغ‌زاده مریم، سپیانی بهار، خیراله علیرضا. اثر ۲۴- هیدروکسی کلسترول در تولید گونه‌های فعال اکسیژن در آستروسیت‌های کشت داده شده تیمار شده با آمیلوئید بتا. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۸۲): ۶۱۳-۶۰۷

مقدمه

بیماری آلزایمر (Alzheimer's disease)، یک بیماری Neurodegenerative است که به صورت دمانس یا زوال عقل آشکار می‌شود (۱). وجود دو نوع رسوب غیر طبیعی مانند پلاک‌های آمیلوئیدی خارج سلولی حاصل از رسوب پروتئین آمیلوئید بتا (Amyloid beta) و کلافه‌های نوروفیبریلاری درون سلول‌های عصبی، موجب کاهش شدید عملکرد نورونی می‌شود (۲). برای این

بیماری، فرضیه‌های مختلفی در نظر گرفته شده است که از آن جمله، می‌توان به فرضیه‌ی کولینرژیک، فسفریلاسیون پروتئین تائو (Tau)، متابولیسم کلسترول، فرضیه‌ی آبشار آمیلوئیدی و استرس اکسیداتیو اشاره کرد (۳). یکی از مهم‌ترین این فرضیه‌ها، فرضیه‌ی آبشار آمیلوئیدی است که طبق این فرضیه، بیماری آلزایمر توسط پلاک‌های پیری که متشکل از آمیلوئید بتا هستند، توصیف می‌شود (۴). اولیگومرهای آمیلوئید بتا، انعطاف‌پذیری سیناپسی را در مغز و ارتباط

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران

۳- دکتری ژنتیک مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران

۴- دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران

آزایمر، هموستاز کلسترول در بافت مغز مختل می‌شود و مشاهده شده است که در مدل‌های موشی آزایمر، سنتز کلسترول در آستروسیت‌ها کاهش می‌یابد، بنابراین در مطالعه‌ی حاضر، به بررسی تأثیر احتمالی ۲۴- هیدروکسی کلسترول در سلول‌های آستروسیت به عنوان سلول‌های اصلی حمایت‌کننده‌ی سنتز کلسترول در بافت مغز بر ایجاد ROS افا شده توسط کلسترول و آمیلوئید بتا پرداخته شد.

روش‌ها

در این مطالعه، ۲۴- هیدروکسی کلسترول از شرکت Sigma، آمیلوئید بتا از شرکت Sigma، ۷، ۲ دی کلروفلورسین دی‌استات (۲،۷-*Dichlorofluorescein diacetate* یا H2DCF) از شرکت Sigma، آمفوتریسین A2411 از شرکت Sigma، آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین از شرکت Atocell، Fetal bovine serum (FBS) از شرکت Gibco، محیط کشت DMEM (DMEM) Dulbecco's Modified Eagle's medium و آنزیم (trypsin/EDTA) Trypsin/Ethylendiaminetetraacetic acid از شرکت Bio-idea خریداری شدند.

جداسازی و کشت آستروسیت: نوزاد موش یک روزه نژاد C57BL/6 از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اهواز خریداری شد و به منظور این مطالعه‌ی تجربی به آزمایشگاه منتقل گردید. حیوانات در شرایط کنترل شده با دسترسی آزاد و آسان به آب و غذا و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. تمامی مراحل کار با حیوانات آزمایشگاهی، بر اساس مجوز کمیته‌ی اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز انجام شد. پس از بیهوش کردن موش‌ها با کتامین/زایلین به نسبت ۱:۱۰، پوست سر نوزاد موش یک روزه باکمک پنس و ایجاد برش شکافته و جدا گردید. سپس، با برداشتن جمجمه، مغز نوزاد موش با استفاده از اسپاتول به آرامی از درون حفره‌ی جمجمه خارج و جهت شستشو به پتری‌دیش حاوی بافر Dulbecco's phosphate-buffered saline (DPBS) انتقال داده شد.

کشت اولیه و ثانویه سلول‌های آستروسیت: پس از شستشوی نمونه‌ها در بافر PBS، مننژ جدا شده و تکه‌های ریز شده‌ی مغز به لوله‌ی فالکون ۱۵ میلی‌لیتری منتقل شد. سپس، تکه‌های ریز شده‌ی مغز جهت تشکیل سلول‌های مجزا به مدت ۳ دقیقه با محلول تریپسین ۰/۱ درصد در دمای محیط انکوبه شدند. پس از خنثی کردن اثر تریپسین، سلول‌ها در محیط کشت DMEM low glucose حاوی ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد پنی‌سیلین-استرپتومایسین (Pen/Sterp) و ۱ درصد آمفوتریسین B در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن به مدت ۷ روز کشت داده

بین سلول‌های عصبی را مختل می‌کنند و مانع از تقویت هیپوکامپی بلند مدت می‌شوند، که این پدیده، یکی از مکانیسم‌های اصلی اختلال حافظه در مراحل اولیه‌ی آزایمر می‌باشد (۴). تجمع آمیلوئید بتا در میتوکندری، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species یا ROS) را القا می‌نماید.

با افزایش ROS، کمپلکس ۴ میتوکندری دچار اختلال می‌شود و فعالیت آن کاهش می‌یابد (۵). در نتیجه، تولید Adenosine triphosphate (ATP) مهار می‌شود و سطح انرژی افت می‌کند. مغز، یکی از اعضای مهم بدن است که برای عملکرد خود به انرژی نیاز دارد. اختلال در زنجیره‌ی انتقال الکترون توسط ROS القا شده توسط آمیلوئید بتا سبب مختل شدن عملکرد صحیح زنجیره برای تولید انرژی و در نهایت، تخریب نورون‌ها می‌شود (۶). ROS مولکول‌های کوچک و بسیار واکنش‌پذیری هستند و تجمع آن‌ها منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود (۷). در حالت عادی، تولید ROS در تعادل با ظرفیت آنتی‌اکسیدان می‌باشد، که در صورت عدم تعادل میزان تولید ROS بیشتر می‌شود که در پی آن استرس اکسیداتیو و بیماری آزایمر ایجاد می‌شود (۸).

علاوه بر فرضیه‌ی آشکار آمیلوئیدی مطالعات نشان داده‌اند که متابولیسم و هموستاز کلسترول در مغز نیز می‌تواند در ایجاد این بیماری مؤثر باشد و با توجه به ارتباط بین بیوسنتز کلسترول و بیماری آزایمر تنظیم هموستاز کلسترول از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد (۹). کلسترول، به عنوان یک ترکیب اصلی غشای پلاسمایی، نقش مهمی در برقراری ارتباط بین نورون‌ها دارد. در نتیجه، تجمع کلسترول منجر به نقص در عملکرد نورون‌ها می‌شود (۱۰). کلسترول سنتز شده در آستروسیت، نمی‌تواند از سد خونی-مغزی عبور کند. بنابراین، کلسترول سنتز شده در آستروسیت‌ها بعد از انتقال به نورون‌ها، توسط آنزیم سیتوکروم اکسیداز P₄₅₀ کلسترول ۲۴ هیدروکسیلاز (CYP_{46A1}) به ۲۴- هیدروکسی کلسترول تبدیل می‌شود که می‌تواند از سد خونی-مغزی عبور کند (۱۱)؛ به طوری که در بیماران دچار آزایمر، کاهش بیان ۲۴- هیدروکسی کلسترول مشاهده شده است (۱۲). تغییر در متابولیسم کلسترول و کاهش ۲۴- هیدروکسی کلسترول، سبب افزایش اتصال آمیلوئید بتا با سلول‌های مغزی می‌شود (۱۳).

مکانیسم‌های مولکولی ایجادکننده‌ی بیماری آزایمر، هنوز به طور کامل شناخته شده نیست، اما گفته شده است که استرس اکسیداتیو ناشی از ROS القا شده توسط آمیلوئید بتا، سبب عدم عملکرد سیناپسی و در نهایت، مرگ نورونی می‌شود (۱۴). آستروسیت‌ها، سلول‌های اصلی حمایت‌کننده‌ی سنتز کلسترول در بافت مغز در دوران بعد از تولد می‌باشند. از آن جایی که در بیماری

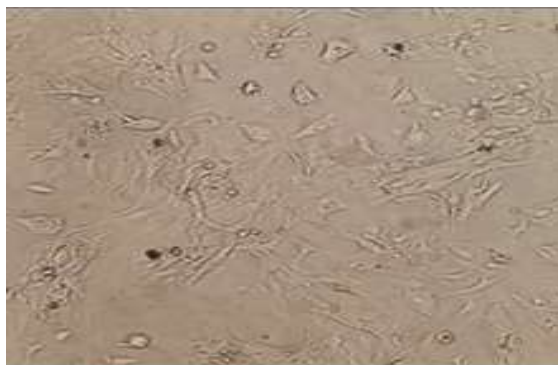
شدند. سه روز پس از کشت اولیه و به منظور خالص‌سازی آستروسیت‌ها، فلاسک‌های حاوی سلول به مدت ۴۵ دقیقه با شتاب ۱۵۰ دور در دقیقه انکوبه شدند. سپس، محیط کشت فلاسک به همراه سلول‌های شناور، شامل سایر سلول‌های گلیا، به طور کامل خارج شد و به سلول‌های خالص شده‌ی آستروسیت، محیط کشت جدید اضافه گردید. کلیه‌ی مراحل کشت سلول، خالص‌سازی و تعیین خلوص سلول‌ها طبق شیوه‌نامه‌ی چاپ شده در مقاله‌ی پیشین (۱۵) انجام شد.

کشت ثانویه و تیمار سلول‌های آستروسیت در حضور و عدم حضور ۲۴- هیدروکسی کلسترول: ۷ روز پس از کشت ثانویه، سلول‌ها پاساژ داده شدند. سلول‌های پاساژ اول با تراکم 5×10^4 سلول در هر چاهک پلیت ۱۲ خانه کشت داده شدند. پس از رسیدن سلول‌ها به تراکم سلولی ۷۰-۸۰ درصد، سلول‌های گروه تیمار با غلظت‌های ۵ ماکرومولار ۲۴- هیدروکسی کلسترول و ۱ ماکرومولار آمپلوئید بتا به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن انکوبه شدند. در پایان زمان انکوباسیون، با اضافه کردن محلول ۲۵ ماکرومولار دی‌هیدرو کلروفلورسین دی‌استات میزان ROS آن اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها

الف- میزان ROS تولید شده‌ی درون سلولی پس از تیمار سلول‌ها با کلسترول: نتایج تغییر در میزان ROS تولید شده‌ی درون سلولی در سلول‌های آستروسیت موشی کشت داده شده (شکل ۱)، بر اثر تیمار با غلظت‌های مختلف کلسترول در شکل ۲ نشان داده شده است.

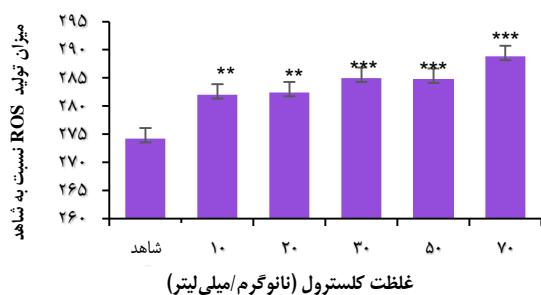
تیمار سلول‌های آستروسیت با غلظت‌های مختلف کلسترول: پس از رسیدن سلول‌ها به تراکم سلولی ۷۰-۸۰ درصد سلول‌های گروه تیمار با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰ و ۷۰ نانوگرم/میلی‌لیتر کلسترول به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن انکوبه شدند. در پایان زمان انکوباسیون، با اضافه کردن محلول ۲۵ ماکرومولار دی‌هیدرو کلروفلورسین، میزان ROS آن اندازه‌گیری شد.



شکل ۱. سلول‌های آستروسیت موشی (بزرگ‌نمایی ۱۰×)

به منظور بررسی اثر کلسترول بر میزان ROS تولید شده، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف کلسترول (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰ و ۷۰ نانوگرم/میلی‌لیتر) تیمار و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند.

سنجش ROS سنجش ROS با روش فلوریمتری و با استفاده از پروب H_2DCF انجام شد. مبنای این روش، تبدیل H_2DCF به DCF است که H_2O_2 تولید شده توسط نمونه باعث این تبدیل می‌شود. DCF تولید شده، با تابش نور فلورسانس در محدوده‌ی تابش ۴۸۸ نانومتر و بازتابش آن در محدوده‌ی ۵۰۰-۶۰۰ نانومتر با روش فلوریمتری سنجیده شد. بدین منظور، ۵۰ هزار سلول در پلیت ۱۲ خانه کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت از زمان کشت سلول‌ها، سلول‌ها با مقادیر ۱ میکرومولار آمپلوئید بتا برای ۲۴ ساعت و در ۳ ساعت آخر با ۵ میکرومولار، ۲۴- هیدروکسی کلسترول تیمار شدند. در پایان زمان انکوباسیون و شستن سلول‌ها با PBS، محلول ۲۵ ماکرومولار H_2DCF به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. در پایان ۳۰ دقیقه تابش فلورسانس، نمونه در محدوده‌ی برانگیختگی ۴۸۸ نانومتر و انتشار ۵۰۰-۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.



شکل ۲. تغییرات میزان Reactive oxygen species (ROS) تولید شده در سلول‌های آستروسیت تحت تیمار با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰ و ۷۰ نانوگرم/میلی‌لیتر کلسترول. کلیه‌ی مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده‌اند و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شده است.

درون سلولی آن‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نشان داد که میزان ROS تولید شده‌ی درون سلولی در گروه تیمار شده با آمیلوئید بتا نسبت به گروه شاهد افزایش چشم‌گیری داشته است. اگر چه مکانیسم کلی بیماری آلزایمر هنوز به طور کامل مشخص نشده است، اما آمیلوئید بتا و هموستاز کلسترول، نقش مهمی در پاتورژن بیماری آلزایمر ایفا می‌کنند (۱۶). مکانیسم دقیق سمیت (Toxicity) ناشی از آمیلوئید بتا همچنان مجهول می‌باشد. فرضیه‌های مختلفی وجود دارد مبنی بر این که استرس اکسیداتیو ناشی از القای ROS توسط آمیلوئید بتا و تجمع کلسترول، در مرگ نورونی نقش دارد (۱۷).

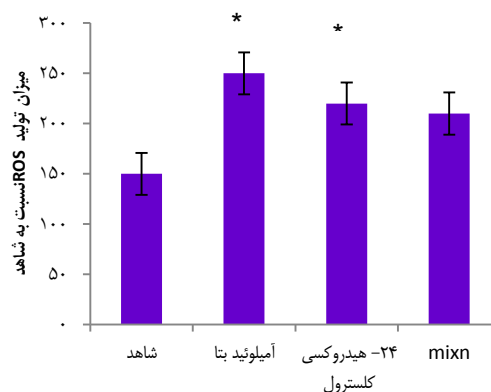
مکانیسم تجمع خارج سلولی آمیلوئید بتا به دلیل عدم تعادل بین تولید و پاک‌سازی آن می‌باشد، که در نتیجه‌ی تجمع آن، ROS افزایش می‌یابد و این امر، منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود که یکی از عوامل ایجاد کننده‌ی بیماری آلزایمر است (۱۴). تجمع آمیلوئید بتا، سبب اختلال در زنجیره‌ی انتقال الکترونی، تولید ATP و متابولیسم اکسیژن می‌گردد. در نتیجه‌ی آن، میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن افزایش می‌یابد و استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود که در نهایت، به مرگ نورونی سلول‌ها منجر می‌شود (۷).

یافته‌های مطالعه‌ی Refolo و همکاران بر روی اثر هیپرکلسترولمی و ارتباط آن با آمیلوئید بتا در بیماران دچار آلزایمر نشان داد که تجمع آمیلوئید بتا به میزان کلسترول در سیستم مغزی ارتباط دارد. بنابراین، افزایش کلسترول باعث تجمع آمیلوئید بتا و افزایش سرعت ابتلا به بیماری آلزایمر می‌شود (۱۸). همچنین، مطالعه‌ی Bogdanovic و همکاران در مورد بررسی ارتباط بین بیماری آلزایمر و متابولیسم کلسترول، نشان داد که میزان بیان CYP46A1 که ژن کد کننده‌ی ۲۴- هیدروکسیلاز است، در بیماران دچار آلزایمر در نورون‌ها کاهش می‌یابد و در آستروسیت افزایش می‌یابد؛ این امر، نشان دهنده‌ی تغییرات متابولیسم کلسترول می‌باشد (۱۹). نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نشان داد زمانی که سلول‌ها در معرض آمیلوئید بتا قرار می‌گیرند، ROS در آن‌ها افزایش می‌یابد که این تغییرات، افزایش ROS در سلول‌های تیمار شده با آمیلوئید بتا نسبت به گروه شاهد افزایش چشم‌گیری داشته‌اند.

علاوه بر فرضیه‌ی آبخار آمیلوئیدی و نقش آمیلوئید بتا در تولید ROS (۲۰)، تغییر هموستاز کلسترول از جمله عوامل مهم دیگری است که در بیماری آلزایمر نقش دارد. تنظیم هموستاز کلسترول، امری ضروری می‌باشد؛ چرا که در صورت نقص در متابولیسم کلسترول، اختلال در کارایی مغز ایجاد می‌شود (۲۱). مطالعات زیادی نشان داده است که تجمع کلسترول در مغز، منجر به تشکیل و رسوب پلاک‌های آمیلوئید می‌شود که در نتیجه‌ی آن نیز ROS تولید خواهد

نتایج به دست آمده، حاصل نشان داد که میزان ROS تولید شده در گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/003$) که تأیید کننده‌ی اثر کلسترول بر افزایش تولید ROS می‌باشد.

ب- سنجش ROS تولید شده در سلول‌های تیمار شده با ۱ ماکرومولار آمیلوئید بتا در حضور و عدم حضور ۲۴- هیدروکسی کلسترول: نتایج نشان دادند زمانی که آستروسیت‌ها در معرض آمیلوئید بتا قرار می‌گیرند، میزان جذب فلورسانس و در نتیجه ROS نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد که در صورت اضافه کردن ۲۴- هیدروکسی کلسترول، این اثر افزایشی به صورت معنی‌داری کاهش می‌یابد (شکل ۳). اگر چه، تیمار سلول‌ها با ۲۴- هیدروکسی کلسترول نیز موجب افزایش ROS شد، اما این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. شکل ۳، میزان ROS القا شده در سلول‌های تحت تیمار با آمیلوئید بتا، ۲۴- هیدروکسی کلسترول و تیمار هم‌زمان آمیلوئید بتا و ۲۴- هیدروکسی کلسترول نسبت به گروه شاهد پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون را نشان می‌دهد.



شکل ۳. میزان Reactive oxygen species (ROS) تولید شده‌ی درون سلولی در سلول‌های آستروسیت تیمار شده با آمیلوئید بتا (Amyloid beta یا AB) و ۲۴- هیدروکسی کلسترول در مقایسه با گروه شاهد. کلبه‌ی مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده‌اند و $P < 0/050$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

بحث

در این مطالعه، سلول‌های آستروسیت به مدت ۲۴ ساعت در معرض آمیلوئید بتا و ۲۴- هیدروکسی کلسترول قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان تیمار، سلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه با محلول DHCFDA در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند و در پایان مدت زمان انکوباسیون، میزان ROS تولید شده‌ی

کلسترول، منجر به افزایش بیان آپولیپوپروتئین E و همچنین، گیرنده‌ی ABCA1 در آستروسیت می‌شود و در نتیجه، خروج کلسترول افزایش و میزان ROS درون سلولی کاهش می‌یابد (۲۵)، اما در پی خروج کلسترول و کاهش میزان درون سلولی آن، دستگاه گلژی منتقل و توسط پروتئاز تجزیه می‌شود و N-ترمینال این پروتئین که به عنوان یک عامل رونویسی عمل می‌کند، آزاد و وارد هسته می‌شود و سبب افزایش بیان HMGC-R و سنتز کلسترول می‌گردد و میزان اندک افزایش ROS درون سلولی، می‌تواند به دلیل سنتز دوباره‌ی کلسترول باشد (۷).

همچنین، در سلول‌های آستروسیت تیمار شده با مخلوط آمیلوئید بتا و ۲۴- هیدروکسی کلسترول نسبت به گروه تیمار شده با آمیلوئید بتا، به میزان قابل توجهی ROS درون سلولی کاهش پیدا می‌کند و این امر، نشان می‌دهد که ۲۴- هیدروکسی کلسترول، می‌تواند میزان ROS درون سلولی تولید شده توسط آمیلوئید بتا را کاهش دهد.

به طور کلی، در مطالعه‌ی حاضر، مشخص گردید زمانی که سلول‌ها در معرض دزهای مختلف کلسترول یا آمیلوئید بتا قرار گرفتند، میزان ROS درون سلولی به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش پیدا کرده است. تولید بیش از حد آمیلوئید بتا و کلسترول، نقش مهمی در پیشرفت و پاتوژنز بیماری آلزایمر دارد. از این رو، عواملی که سبب کاهش شکل‌گیری آمیلوئید بتا و حفظ تعادل کلسترول مغزی می‌شوند، با کاهش استرس اکسیداتیو می‌توانند نقش مؤثری در پیش‌گیری از بیماری آلزایمر داشته باشند.

تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از بخشی از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی می‌باشد. این مطالعه، با شماره‌ی طرح CMRC-9508 و کد اخلاقی IR.AJUMS.REC.1395.63 تحت مجوز و حمایت مالی معاونت توسعه‌ی پژوهش و فن‌آوری تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز و در گروه بیوشیمی بالینی دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی این دانشگاه انجام شد. نویسندگان از همه‌ی کسانی که در انجام این طرح همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌نمایند.

شد (۷). نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد که میزان ROS تولید شده‌ی درون سلولی در سلول‌های آستروسیت تیمار شده با دزهای مختلف کلسترول، به میزان قابل توجهی نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است. کلسترول، قادر به عبور از سد خونی-مغزی نمی‌باشد و همچنین، تجزیه نمی‌شود. در پی افزایش غلظت کلسترول، کریستال‌هایی تشکیل می‌شود که برای سلول‌ها به خصوص نورون‌ها توکسیک می‌باشد (۱۰).

بنابراین، زمانی که کلسترول تجمع پیدا می‌کند، باعث تشکیل ROS می‌شود که نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد که میزان ROS تولید شده‌ی درون سلولی در آستروسیت تیمار شده با دزهای مختلف کلسترول به میزان قابل توجهی نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است. تولید ROS که از تجمع کلسترول ناشی می‌شود، برای سلول‌ها سمی است. یکی از راه‌های خروج کلسترول از سلول، تبدیل کلسترول به ۲۴- هیدروکسی کلسترول می‌باشد که ۲۴- هیدروکسی کلسترول، بر خلاف کلسترول قطبی می‌باشد (۱۱) و می‌تواند از سد خونی-مغزی عبور کند و از تجمع کلسترول درون سلولی جلوگیری می‌کند. تبدیل کلسترول به ۲۴- هیدروکسی کلسترول، از طریق آنزیم CYP46A1 انجام می‌شود. در نتیجه‌ی تبدیل کلسترول به ۲۴- هیدروکسی کلسترول، از تجمع کلسترول جلوگیری می‌شود و میزان ROS درون سلولی کاهش می‌یابد (۲۲، ۷).

در مطالعه‌ی مرتبطی، مشاهده شده است که ۲۴- هیدروکسی کلسترول، باعث افزایش سطح ABCA1، از اعضای خانواده‌ی انتقال دهنده‌های ABCA می‌شود که نقش کلیدی در فرایند انتقال معکوس کلسترول دارد و عنصر اصلی خروج کلسترول و فسفولیپید در عرض غشای سلولی به خارج است که در نتیجه‌ی افزایش بیان حاصل از ABCA1، میزان تولید و یا تجمع آمیلوئید بتا کاهش می‌یابد (۲۳). در سلول‌های آستروسیت تیمار شده با ۲۴- هیدروکسی کلسترول، میزان ROS درون سلولی کاهش می‌یابد.

نکته‌ی قابل توجه، افزایش مختصر میزان ROS تولید شده طی تیمار با ۲۴- هیدروکسی کلسترول در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد (شکل ۳) که بر خلاف انتظار است و می‌تواند به علت اتصال ۲۴- هیدروکسی کلسترول به Liver X receptors (LXR) باشد. فعال شدن گیرنده‌های LXR-گیرنده‌ی هسته‌ای که نقش مهمی در تنظیم و هموستاز کلسترول دارد (۲۴)- توسط ۲۴- هیدروکسی

References

1. Kodamullil AT, Younesi E, Naz M, Bagewadi S, Hofmann-Apitius M. Computable cause-and-effect models of healthy and Alzheimer's disease states and their mechanistic differential analysis. *Alzheimers Dement* 2015; 11(11): 1329-39.
2. Eufemi M, Cocchiola R, Romaniello D, Correani V, Di FL, Fabrizi C, et al. Acetylation and phosphorylation of STAT3 are involved in the

- responsiveness of microglia to beta amyloid. *Neurochem Int* 2015; 81: 48-56.
3. Lombardo S, Maskos U. Role of the nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease pathology and treatment. *Neuropharmacology* 2015; 96(Pt B): 255-62.
 4. Singh M, Kaur M, Kukreja H, Chugh R, Silakari O, Singh D. Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: from nerve toxins to neuroprotection. *Eur J Med Chem* 2013; 70: 165-88.
 5. Miranda S, Opazo C, Larrondo LF, Munoz FJ, Ruiz F, Leighton F, et al. The role of oxidative stress in the toxicity induced by amyloid beta-peptide in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 2000; 62(6): 633-48.
 6. Spuch C, Ortolano S, Navarro C. New insights in the amyloid-Beta interaction with mitochondria. *J Aging Res* 2012; 2012: 324968.
 7. Murphy RC, Johnson KM. Cholesterol, reactive oxygen species, and the formation of biologically active mediators. *J Biol Chem* 2008; 283(23): 15521-5.
 8. Maciel EN, Vercesi AE, Castilho RF. Oxidative stress in Ca(2+)-induced membrane permeability transition in brain mitochondria. *J Neurochem* 2001; 79(6): 1237-45.
 9. Lecis C, Segatto M. Cholesterol Homeostasis Imbalance and Brain Functioning : Neurological Disorders and Behavioral. *Journal of Neurology and Neurological Disorders* 2015; 1(1): 1-14.
 10. L_tjohann D, Meichsner S, Pettersson H. Lipids in Alzheimer's disease and their potential for therapy. *Clinical Lipidology* 2012; 7(1): 65-78.
 11. Leoni V, Caccia C. 24S-hydroxycholesterol in plasma: a marker of cholesterol turnover in neurodegenerative diseases. *Biochimie* 2013; 95(3): 595-612.
 12. Abildayeva K, Jansen PJ, Hirsch-Reinshagen V, Bloks VW, Bakker AH, Ramaekers FC, et al. 24(S)-hydroxycholesterol participates in a liver X receptor-controlled pathway in astrocytes that regulates apolipoprotein E-mediated cholesterol efflux. *J Biol Chem* 2006; 281(18): 12799-808.
 13. Gibson WW, Eckert GP, Igbavboa U, Muller WE. Amyloid beta-protein interactions with membranes and cholesterol: causes or casualties of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1610(2): 281-90.
 14. Gamba P, Leonarduzzi G, Tamagno E, Guglielmotto M, Testa G, Sottero B, et al. Interaction between 24-hydroxycholesterol, oxidative stress, and amyloid-beta in amplifying neuronal damage in Alzheimer's disease: three partners in crime. *Aging Cell* 2011; 10(3): 403-17.
 15. Ito J, Nagayasu Y, Lu R, Kheirollah A, Hayashi M, Yokoyama S. Astrocytes produce and secrete FGF-1, which promotes the production of apoE-HDL in a manner of autocrine action. *J Lipid Res* 2005; 46(4): 679-86.
 16. Ferrera P, Mercado-Gomez O, Silva-Aguilar M, Valverde M, Arias C. Cholesterol potentiates beta-amyloid-induced toxicity in human neuroblastoma cells: involvement of oxidative stress. *Neurochem Res* 2008; 33(8): 1509-17.
 17. Dasari B, Prasanthi JR, Marwarha G, Singh BB, Ghribi O. Cholesterol-enriched diet causes age-related macular degeneration-like pathology in rabbit retina. *BMC Ophthalmol* 2011; 11: 22.
 18. Refolo LM, Malester B, LaFrancois J, Bryant-Thomas T, Wang R, Tint GS, et al. Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model. *Neurobiol Dis* 2000; 7(4): 321-31.
 19. Bogdanovic N, Bretillon L, Lund EG, Diczfalusy U, Lannfelt L, Winblad B, et al. On the turnover of brain cholesterol in patients with Alzheimer's disease. Abnormal induction of the cholesterol-catabolic enzyme CYP46 in glial cells. *Neurosci Lett* 2001; 314(1-2): 45-8.
 20. Angelova PR, Abramov AY. Interaction of neurons and astrocytes underlies the mechanism of Abeta-induced neurotoxicity. *Biochem Soc Trans* 2014; 42(5): 1286-90.
 21. Noguchi N, Saito Y, Urano Y. Diverse functions of 24(S)-hydroxycholesterol in the brain. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 446(3): 692-6.
 22. Sato Y, Bernier F, Yamanaka Y, Aoshima K, Oda Y, Ingelsson M, et al. Reduced plasma desmosterol-to-cholesterol ratio and longitudinal cognitive decline in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (Amst)* 2015; 1(1): 67-74.
 23. Prasanthi JR, Huls A, Thomasson S, Thompson A, Schommer E, Ghribi O. Differential effects of 24-hydroxycholesterol and 27-hydroxycholesterol on beta-amyloid precursor protein levels and processing in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Mol Neurodegener* 2009; 4: 1.
 24. Wang Y, Rogers PM, Su C, Varga G, Stayrook KR, Burris TP. Regulation of cholesterologenesis by the oxysterol receptor, LXRalpha. *J Biol Chem* 2008; 283(39): 26332-9.
 25. Wong J, Quinn CM, Brown AJ. SREBP-2 positively regulates transcription of the cholesterol efflux gene, ABCA1, by generating oxysterol ligands for LXR. *Biochem J* 2006; 400(3): 485-91.

The Effect of 24-Hydroxy Cholesterol on Production of Reactive Oxygen Species (ROS) in Cultured Astrocytes Treated by Beta Amyloid

Zahra Nazeri¹, Shirin Azizidoost², Maryam Cheraghzadeh³, Bahar Sepiani¹, Alireza Kheirollah⁴

Original Article

Abstract

Background: Alzheimer's disease is a neurodegenerative disorder characterized by the accumulation of beta-amyloid plaques outside the cells, and intracellular hyperphosphorylation of tau protein. Amyloid beta is involved in both the pathogenesis of Alzheimer's disease and induction of reactive oxygen species (ROS). Since 24-hydroxy cholesterol (24-OHCho) as a polar metabolite can eliminate excess cholesterol in the brain, we investigated the regulatory role of 24-hydroxy cholesterol on the level of reactive oxygen species induced by exogenous cholesterol and amyloid beta.

Methods: Astrocytes were isolated from the brain of newborn C57BL/6 mice, and cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) + 10% fetal bovine serum (FBS). Intracellular reactive oxygen species were measured in cells treated with various concentration of cholesterol by fluorimeter, and also in the presence of beta amyloid with or without of 24-hydroxy cholesterol. Results were analyzed using ANOVA test via SPSS software.

Findings: The production of reactive oxygen species was significantly increased when astrocytes were treated with exogenous cholesterol or amyloid beta, compare to control. However, treating with 24-hydroxy cholesterol significantly decreased the level of reactive oxygen species in beta-amyloid group.

Conclusion: Based on various reports, beta-amyloid increases cholesterol levels in patients with Alzheimer's disease. On the other hand, 24-hydroxy cholesterol is one of the important factors in regulating cholesterol homeostasis in the brain, and plays an efficient role in reduction of intracellular generation of reactive oxygen species in the case of Alzheimer's disease, by reduction of cholesterol.

Keywords: Alzheimer, Amyloid beta, 24-hydroxy cholesterol, Cholesterol, Reactive oxygen species

Citation: Nazeri Z, Azizidoost S, Cheraghzadeh M, Sepiani B, Kheirollah A. **The Effect of 24-Hydroxy Cholesterol on Production of Reactive Oxygen Species (ROS) in Cultured Astrocytes Treated by Beta Amyloid.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(482): 607-13.

1- MSc Student, Department of Biochemistry, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

2- PhD Student, Department of Biochemistry, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

3- PhD in Molecular Genetics, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

4- Associate Professor, Department of Biochemistry, School of Medicine, Cellular and Molecular Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Alireza Kheirollah, Email: akheirollah@ajums.ac.ir

اثر درمانی طب سوزنی بر روی بیماری انگشت ماشه‌ای

پریسا طاهری^۱، رقیه قاسمی^۲، مریم ملت^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر درمانی طب سوزنی در درمان بیماران دارای مشکل انگشت ماشه‌ای بود.

روش‌ها: این مطالعه‌ی بالینی بدون گروه شاهد، در سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ در مرکز پزشکی الزهرای (س) اصفهان بر روی ۴۲ بیمار که با مشکل انگشت ماشه‌ای به این مرکز مراجعه کرده بودند، انجام شد. بیماران بر اساس معاینه و شرح حال انتخاب و به ۵ گروه تقسیم شدند. اطلاعات آماری، شدت درد بر اساس Visual analog scale (VAS)، امتیاز بیماری بر اساس جدول نمرات امتیازدهی انگشت ماشه‌ای (Trigger finger یا TF) و دامنه‌ی حرکت فعال بدون درد در مفصل Proximal interphalangeal (PIP) تعیین و ثبت شدند. بیماران طی ۱۰ جلسه‌ی ۳۰ دقیقه‌ای (یک روز در میان، سه بار در هفته) تحت درمان با طب سوزنی با سوزن ۰/۱۶ × ۷ میلی‌متری به روش نقطه‌یابی Ah shi قرار گرفتند. پی‌گیری بیماران یک بار بعد از پایان مداخله (بعد از ۱۰ جلسه طب سوزنی) و یک ماه بعد از درمان انجام شد.

یافته‌ها: بر اساس معیارهای ورود به مطالعه، ۴۲ بیمار مورد بررسی قرار گرفتند که در نهایت، ۳۴ بیمار به طور کامل مطالعه را به پایان رساندند. شدت بیماری در ۲۹ نفر (۸۵/۳ درصد) IV و در ۵ نفر (۱۴/۷ درصد) V بود. بعد از درمان، وضعیت شدت انگشت ماشه‌ای آن‌ها به طور مشخص تغییر کرد و بهتر از حالت اولیه بود. شدت بیماری ۲۱ بیمار (۶۱/۸ درصد) به I، ۷ بیمار (۲۰/۶ درصد) به IIb و ۶ بیمار (۱۷/۶ درصد) به III کاهش پیدا کرد. بعد از درمان، از ۲۹ بیمار با شدت IV، ۱۷ نفر به شدت I، ۷ نفر به شدت IIb و ۵ نفر به شدت III رسیدند. همچنین، از ۵ نفر با شدت V، ۴ نفر به I و ۱ نفر به III کاهش شدت نشان دادند. قبل از درمان، میانگین نمره‌ی درد ۲/۱ ± ۵/۹ بود. بعد از درمان، نمره‌ی درد گزارش شده در همه‌ی بیماران، کمتر از حالت اولیه و میانگین کاهش نمره ۲/۱ ± ۵/۶ بود. بعد از درمان، میانگین نمره‌ی درد در بیماران ۰/۲۹ ± ۰/۴۶ بود. آزمون Paired t نشان می‌دهد که کاهش نمره‌ی درد بعد از درمان نسبت به حالت اولیه، از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/001$). تغییر میانگین دامنه‌ی حرکتی بدون درد نیز پس از درمان معنی‌دار بود ($P < 0/001$); میانگین این تغییر در بیماران تحت مطالعه، برابر ۱۳/۸ ± ۴۸/۷ بود.

نتیجه‌گیری: روش‌های درمانی کمتر تهاجمی و کم عارضه نظیر طب سوزنی، می‌توانند در درمان التهاب غشای تاندون اطراف تاندون فلکسور مؤثر باشند.

واژگان کلیدی: انگشت ماشه‌ای، طب سوزنی، درمان

ارجاع: طاهری پریسا، قاسمی رقیه، ملت مریم. اثر درمانی طب سوزنی بر روی بیماری انگشت ماشه‌ای. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۸۲):

۶۱۴-۶۲۰

دست از درون یک غلاف عبور می‌کنند. ضخیم شدن قسمتی از غلاف یا التهاب تاندون در نقطه‌ی ورود به این غلاف، موجب احساس فرو کردن سوزن در آن ناحیه هنگام باز کردن دست می‌شود. پارگی عمیق کف دست، می‌تواند به بخشی از غلاف یا تاندون در محل عبور از درون غلاف آسیب برساند و منجر به بروز این علائم شود. برخی بیماری‌های زمینه‌ای نظیر بیماری روماتیسم، دیابت، نقرس یا بیماری کلیوی، می‌توانند فرد را در معرض این اختلال قرار دهند. در این موارد، به طور معمول درگیری در بیش از یک انگشت

مقدمه

انگشت ماشه‌ای، نوعی التهاب غشای تاندونی اطراف تاندون فلکسور است که در آن حرکات تاندون فلکسور انگشتان، درون غلاف تاندون فلکسور به آسانی صورت نمی‌گیرد و همچنین، احتمال درد وجود دارد (۱). در چنین حالتی، غلاف تاندون فلکسور اغلب متورم و ضخیم می‌شود. این بیماری، ممکن است تمام انگشتان دست را درگیر نماید، اما به طور معمول انگشتان حلقه، میانی و شست بیشتر در معرض این اختلال هستند. تاندون‌های فلکسور انگشتان در کف

۱- استادیار، گروه طب فیزیکی و توانبخشی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دستیار، گروه طب فیزیکی و توانبخشی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤو: رقیه قاسمی

Email: dr.ghasemi2000@yahoo.com

را بررسی کردند. این مطالعه نشان داد که طب سوزنی منجر به افزایش جریان خون و افزایش فعالیت فیروبلاست‌ها در نقاط پاتولوژی می‌شود و احتمال می‌رود با این مکانیسم، در درمان التهاب تاندون مؤثر باشد (۱۵).

در مطالعه‌ی هادیان‌فرد و همکاران در دانشگاه علوم پزشکی شیراز، اثر طب سوزنی با تزریق موضعی متیل پردنیزولون استات در درمان اتنوسنویت دکورون مورد بررسی قرار گرفت. بیماران طی یک هفته با ۵ جلسه طب سوزنی مورد درمان قرار گرفتند. نتایج با گروه شاهد که تزریق کورتون دریافت کرده بودند، مقایسه شد. تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ($P > 0.05$) (۱۴).

با در نظر گرفتن دیدگاه‌های مختلف در روش‌های مورد استفاده در درمان انگشت ماشه‌ای، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثر درمانی طب سوزنی بر بیماری انگشت ماشه‌ای انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه‌ی بالینی بدون گروه شاهد بود که در سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ در مرکز پزشکی الزهرای (س) اصفهان انجام شد. جمعیت آماری شامل بیمارانی بود که با بیماری انگشت ماشه‌ای به این مرکز مراجعه کرده بودند. با توجه به روش درمان این بیماری در کتاب Frontera و همکاران (۲)، خط اول درمان بیماری انگشت ماشه‌ای تزریق کورتون می‌باشد، اما در بیماران مبتلا به دیابت، این درمان به طور معمول انجام نمی‌گیرد. همچنین، سایر درمان‌های غیرتهاجمی (Conservative) اغلب در کنار تزریق کورتون مؤثر هستند. از این رو، به دلیل ابتلای بیشتر بیماران به بیماری دیابت، استفاده از روش تزریق امکان‌پذیر نبود و بیماران به دو گروه تقسیم نشدند و همه در یک گروه، تحت درمان و نسبت به وضعیت قبلی خود مورد مقایسه قرار گرفتند.

معیارهای ورود به مطالعه، شامل سن بالای ۱۸ سال، موافقت بیمار برای شرکت در مطالعه، نمره‌ی بیماری از IIB به بالا (بر طبق جدول ارایه شده در روش کار) و معیارهای خروج از مطالعه، شامل عدم همکاری یا عدم مراجعه برای ادامه‌ی درمان با طب سوزنی، اقدام به درمان‌های دیگر در طول دوره‌ی درمان با طب سوزنی، ابتلا به روماتیسم مفصلی، ابتلا به سندرم Carpal tunnel بر اساس معاینات بالینی و بررسی سابقه، ابتلا به ناهنجاری‌های انعقادی یا استفاده از داروهای ضد انعقادی، وجود زخم در نقاط ورود سوزن و بارداری بیمار بودند.

اندازه‌ی نمونه با استفاده از فرمول تخمین اندازه‌ی نمونه جهت مقایسه‌ی دو میانگین تخمین زده شد. با در نظر گرفتن بازه‌ی اطمینان ۹۵ درصد ($Z_{1-\alpha/2} = 1.96$)، توان آماری ۸۰ درصد ($Z_{1-\beta} = 0.84$)، انحراف معیار شدت بیماری معادل ۱/۱۷ و حداقل تفاوت معنی‌دار قبل و بعد از درمان ۸، اندازه‌ی نمونه، ۳۴ نفر برآورد شد.

(چند انگشت) مشاهده می‌شود. اگر چه در اغلب موارد، این مشکل به صورت خود به خود و به دلیل استفاده‌ی بی‌رویه از دست طی سالیان، در میان‌سال‌ی و به ویژه در زنان میان‌سال اتفاق می‌افتد (۲).

تشخیص این بیماری به طور معمول با معاینه و شرح حال فرد انجام می‌گیرد. علائم اصلی آن، شامل درد و مشکل در خم کردن انگشت، احساس کردن صدای کلیک هنگام باز کردن انگشتان و وجود یک برجستگی بارز در جلوی استخوان متاکارپال است. در موارد اولیه و خفیف که علائم موقتی مانند التهاب غلاف تاندون بروز می‌کند، ممکن است علائم سریع برطرف شود یا با استفاده از داروهای ضد التهابی، آتل و استراحت دادن انگشت بهبود پیدا کند، اما در اغلب موارد این درمان‌ها کافی نیستند (۳).

اگر درمان در مراحل اولیه‌ی بیماری انجام گیرد، یعنی زمانی که مدت زیادی (کمتر از یک ماه) از آغاز بروز علائم نگذشته باشد، در اغلب موارد، التهاب با تزریق موضعی کورتون بهبود می‌یابد، اما امکان بروز مجدد آن در آینده را کاهش نمی‌دهد (۴). هر چه زمان بیشتری از بروز علائم بگذرد، احتمال اثربخشی تزریق موضعی در بهبود بیماری کاهش می‌یابد (۵).

اثرات جانبی معمول تزریق استروئید، شامل پوکی استخوان، ضعف عضلات، افزایش قند خون و غیره می‌باشد که در بیماران مبتلا به بیماری‌های دیگر نظیر دیابت باید مد نظر قرار گیرد. پزشک معالج، باید این نکته را در نظر داشته باشد که مواردی که بیمار مشکل فشار خون بالا دارد، احتمال اثر بخشی تزریق موضعی کورتون کمتر است و احتمال افزایش قند خون در بیمار مبتلا به دیابت وجود دارد. گاهی پارگی تاندون در اثر تزریق گزارش شده است. جراحی برای آزادسازی غلاف پوششی تاندون انگشت در کف دست انجام می‌گیرد و به طور معمول، بیماری بهبود پیدا می‌کند (۶). بعد از عمل، بروز مجدد و عود بیماری در انگشت جراحی شده، مشاهده شده است (۷-۸).

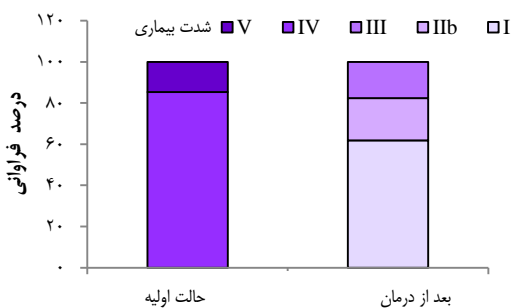
با توجه به توضیحات پیش‌گفته، به نظر می‌رسد که در موارد مزمن، بازگشت این بیماری بعد از عمل و مواردی که استفاده از تزریق کورتون برای بیمار نامناسب است، استفاده از روش کمتر تهاجمی نظیر طب سوزنی را می‌توان به عنوان روشی آسان با عوارض جانبی کمتر برای درمان این مشکل در نظر گرفت (۱۱-۱۲). Schulman و همکاران، در یک گزارش مورد، اثر طب سوزنی و درمان دستی در درمان انگشت ماشه‌ای در مردی با مشکل دیابت را بررسی نمودند. در این مطالعه، ۸ جلسه درمان با طب سوزنی به صورت هفتگی ارایه شد. بعد از پایان دوره‌ی درمان، علائم بیماری از بین رفته بود و در معاینه‌ی انجام شده یک سال پس از درمان، اثری از علائم مشاهده نشد (۱۳).

Longbottom و Neal اثر طب سوزنی بر درمان التهاب تاندون

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) و اکاوی شدند. آزمون‌های آماری استفاده شده جهت واکاوی داده‌ها، شامل آزمون χ^2 برای مقایسه‌ی کیفی داده‌ها قبل و بعد از مداخله و آزمون t Paired برای مقایسه‌ی کمی داده‌ها قبل و بعد از مداخله، آزمون Mann-Whitney برای مقایسه‌ی دامنه‌ی حرکت انگشتان قبل و بعد از مداخله و آزمون Repeated measures ANOVA برای مقایسه‌ی کمی تغییرات قبل و بعد از مداخله استفاده شد.

یافته‌ها

بر اساس معیارهای ورودی مطالعه، ۴۲ بیمار مورد بررسی قرار گرفتند. ۷ بیمار وارد مطالعه نشدند، ۵ بیمار واجد شرایط نبودند و ۲ بیمار از دادن رضایت خودداری کردند. یکی از ۳۵ بیمار انتخاب شده، برای معاینات بعد از درمان مراجعه نکرد و از مطالعه حذف شد. در نهایت، ۳۴ بیمار به طور کامل مطالعه را به پایان رساندند و مورد بررسی قرار گرفتند. متوسط سن بیماران مورد مطالعه، $38/1 \pm 8/5$ سال بود. شدت بیماری در ۲۹ بیمار (۸۵/۳ درصد) V و در ۵ بیمار (۱۴/۷ درصد) IV بود. بعد از درمان، وضعیت شدت انگشت ماشه‌ای بیماران به طور مشخص تغییر کرد و بهتر از حالت اولیه شد. شدت بیماری ۲۱ نفر (۶۱/۸ درصد) به I، ۷ بیمار (۲۰/۶ درصد) به IIb و ۶ بیمار (۱۴/۶ درصد) به III کاهش پیدا کرد (شکل ۱). بعد از درمان، از ۲۹ بیمار با شدت IV، ۱۷ نفر به شدت I، ۷ نفر به شدت IIb و ۵ نفر به شدت III رسیدند. همچنین، از ۵ نفر با شدت V، ۴ نفر به I و ۱ نفر به III کاهش شدت نشان دادند.



شکل ۱. تکرار طبقه‌بندی انگشت ماشه‌ای بعد از درمان در مقایسه با حالت اولیه. آزمون χ^2 نشان می‌دهد که بعد از درمان، طبقه‌بندی انگشت ماشه‌ای به طور مشخصی از حالت اولیه متفاوت بود ($P < 0/001$).

شکل ۲. میانگین نمره‌ی درد قبل و بعد از درمان را نشان می‌دهد. قبل از درمان، میانگین نمره‌ی درد $2/1 \pm 5/9$ بود. بعد از

در این مطالعه، ابتدا بیماران بر اساس معاینات و شرح حال انتخاب شدند. سپس، بر اساس جدول نمرات امتیازدهی انگشت ماشه‌ای (Trigger finger یا TF) به پنج رده تقسیم شدند (۱۶). نمرات انگشت ماشه‌ای بر اساس تظاهرات بالینی حس حرکتی در پولی بند اول (A1-pully) شامل I = حرکت طبیعی بدون درد یا ناراحتی (-)، IIa = حرکت طبیعی با درد یا ناراحتی (+)، IIb = سابقه‌ی حرکت نامتوازن با (+) یا بدون (-) درد یا ناراحتی، III = حرکت نامتوازن با (+) یا بدون (-) درد یا ناراحتی، IV = عدم حرکت (قفل شدن)، قابل اصلاح فعال با (+) یا بدون (-) درد یا ناراحتی، V = عدم حرکت (قفل شدن)، قابل اصلاح غیر فعال یا غیر پویا با (+) یا بدون (-) درد یا ناراحتی بودند.

در نهایت، نمونه‌ها با نمره‌ی IIb و بالاتر در مطالعه وارد شدند و اطلاعات آماری، اطلاعات مربوط به شدت درد بر اساس Visual analog scale (VAS) و نمره‌ی بیماری بر اساس جدول TF، دامنه‌ی حرکت فعال بدون درد مفصل ایتروفلانژیال پروگزیمال (Proximal interphalangeal یا PIP) بر اساس اندازه‌گیری انجام شده توسط گونیامتر (زاویه‌سنج) در بیمارانی که دارای شرایط ورود به مطالعه بودند، تعیین و ثبت شد. بعد از کسب رضایت‌نامه‌ی کتبی، بیماران تحت ۱۰ جلسه‌ی ۳۰ دقیقه‌ای (یک روز در میان، سه بار در هفته) درمان با طب سوزنی قرار گرفتند.

این عمل با استفاده از یک سوزن $0/16 \times 7$ میلی‌متر انجام شد. نحوه‌ی کار به این صورت بود که ابتدا بیمار در یک موقعیت راحت قرار گرفت. محل ندول با پنبه‌ی الکلی استریل شد. سپس، سوزن اول در نقطه‌ی وسط تاندون مفصل متاکارپوفالانژیال درگیر وارد شد و آن‌گاه، سوزن‌های دیگر به صورت چرخشی در دو ردیف اطراف سوزن اول وارد شدند (در کل، ۱۰ سوزن لازم بود تا حداکثر ۱۰ نقطه‌ی Ah shi در هر جلسه به دست آید). عمق هر سوزن، حدود ۰/۵ سانتی‌متر بدون هیچ تحریک خارجی بود و با زاویه‌ی ۹۰ درجه در تمامی نقاط وارد شد. در پایان ۳۰ دقیقه، سوزن‌ها خارج شدند. تمامی مراحل توسط مدیر اجرایی طرح انجام گرفت. بیماران یک بار بعد از پایان مداخلات (بعد از ۱۰ جلسه‌ی درمان با طب سوزنی) و بار دیگر یک ماه پس از درمان (از نظر درد، میزان قفل‌شدگی مفصل و دامنه‌ی حرکتی فعال) مورد بررسی قرار گرفتند و مشخصات و شدت بیماری تعیین و ثبت شد.

داده‌های جمع‌آوری شده، شامل سن، جنسیت، مدت بیماری، شدت درد بر اساس مقیاس VAS، دامنه‌ی حرکتی بدون درد مفصل PIP بر اساس اندازه‌گیری‌های گونیامتر، نمره‌ی بیماری در مقیاس TF بودند. عوارض این روش در کل بسیار ناچیز است و با توجه به انتخاب دقیق بیماران، عوارضی چون درد، هماتوم یا خونریزی مشاهده نشد.

است که در آن حرکات تاندون فلکسور انگشتان، درون غلاف تاندون فلکسور به آسانی صورت نمی‌گیرد و همچنین، احتمال درد وجود دارد (۱). طب سوزنی یکی از روش‌های درمان این بیماری است (۹). تحریک ندول‌ها، باعث آغاز فرایند التهابی و ارسال سلول‌های التهابی به ناحیه‌ی درگیر می‌شود و تنظیم هورمون‌هایی نظیر کورتیزول و Adrenocorticotropic hormone (ACTH) که در فرایند التهابی مؤثرند، به کاهش التهاب کمک می‌کنند. از طرف دیگر، اثر تسکین درد طب سوزنی برای درمان دردهای مزمن، مؤثرتر از دارونماها می‌باشد و به نظر می‌رسد که مکانیزم عصبی طب سوزنی در کاهش درد مؤثر است. با وارد کردن سوزن، فیبرهای عصبی میلین‌دار کوچک در عضلات فعال می‌شوند و پیام تحریک به نخاع ارسال می‌کنند که از طریق آن، مراکز عصبی سه‌گانه (نخاع، مغز میانی و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز) فعال می‌شوند و اثرات تسکین درد خود را بروز می‌دهند. این تحریکات نخاعی، با آزادسازی انسفالین و دیورفین از ارسال محرک‌های درد جلوگیری می‌نمایند (۱۰).

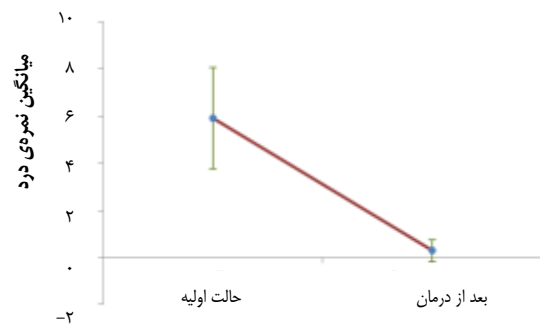
مطالعه‌ی اخیر نشان می‌دهد که طب سوزنی میزان درد و فعالیت را در بیماران با التهاب مزمن تاندون آشیل بهبود می‌بخشد (۲۱).

نشان داده شده است که طب سوزنی، باعث افزایش جریان خون موضعی در بافت هدف و ارسال فیبروبلاست‌ها از طریق ترمیم کلاژن عضلانی می‌شود و به نظر می‌رسد که این دو مکانیزم، اساس کنترل التهاب تاندونی باشند (۲۳-۲۲). به علاوه، بیماران درمان با طب سوزنی را به خوبی تحمل می‌کنند و به نظر می‌رسد این روش، یک روش درمانی ایمن با حداقل اثرات جانبی است (۲۴).

شواهد استفاده از طب سوزنی در درمان انگشت ماشه‌ای بسیار کم است، نه به دلیل عدم اثر بخشی آن، بلکه به دلیل این که تحقیقات زیادی روی آن انجام نشده است. مشکل دیگر این که طب سوزنی اغلب در قالب مفهوم و زبان طب چینی قابل توصیف است و می‌تواند طیف وسیعی از مداخلات را در بر بگیرد که برای سایر زبان‌ها قابل دسترسی نمی‌باشد (۱۲).

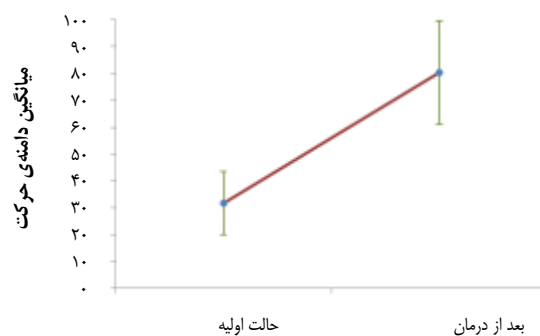
درمان اولیه با طب سوزنی، تحریک الکتریکی و اولتراسوند، می‌تواند به طور مؤثری برای درمان حالت خفیف و متوسط مشکل انگشت ماشه‌ای به کار گرفته شود. جراحی، اگر ضروری بود، باید به عنوان آخرین راه حل در نظر گرفته شود (۱۳). تا آن جایی که مشخص است، مطالعه‌ای برای مقایسه‌ی اثر طب سوزنی با درمان‌های استاندارد یا ساختگی در بیماران دارای مشکل انگشت ماشه‌ای صورت نگرفته است. نتیجه‌گیری انجام شده در مطالعه‌ی حاضر، یافته‌های بسیاری از مطالعات قبلی را که به بررسی اثر طب سوزنی بر روی درمان التهاب تاندون پرداخته بودند، تأیید می‌کند.

درمان، نمره‌ی درد گزارش شده در همه‌ی بیماران، کمتر از حالت اولیه و میانگین کاهش نمره $2/1 \pm 5/6$ بود. بعد از درمان، میانگین نمره‌ی درد در بیماران $0/29 \pm 0/46$ بود. آزمون Paired t نشان می‌دهد که کاهش نمره‌ی درد بعد از درمان نسبت به حالت اولیه، از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/001$). تغییر میانگین دامنه‌ی حرکتی بدون درد در بیماران تحت مطالعه، $13/8 \pm 48/7$ بود.



شکل ۲. میانگین نمره‌ی درد بعد از درمان در مقایسه با حالت اولیه. آزمون Paired t نشان داد که بعد از درمان، نمره‌ی درد به طور مشخصی نسبت به حالت اولیه کاهش یافت ($P < 0/001$).

در بین معیارهای بررسی شده قبل و بعد از درمان، معیار درد زودتر از سایر گزینه‌ها کاهش نشان داد و پس از آن، شدت بیماری و در نهایت، دامنه‌ی فعال حرکتی بدون درد بهبود نشان داد. در بین معیارهای مورد بررسی، معیار درد بیشترین بهبود ($5/6$ کاهش درد) را نشان داد. به طور متوسط، شروع بهبود درد و دامنه‌ی حرکتی بیماران، از جلسه‌ی سوم بود.



شکل ۳. میانگین دامنه‌ی حرکت فعال بدون درد (PIP) Proximal interphalangeal بعد از درمان در مقایسه با حالت اولیه. آزمون Paired t نشان می‌دهد که بعد از درمان، دامنه‌ی حرکتی به طور مشخصی نسبت به حالت اولیه افزایش یافت ($P < 0/001$).

بحث

انگشت ماشه‌ای، نوعی التهاب غشای تاندونی اطراف تاندون فلکسور

در مطالعه‌ی Lee و Song، درمان طب سوزنی تاندونی-عضلانی Meridian، درمان Pharmacopuncture با زهر زنبور عسل و درمان Moxibustion، با توجه به ساختار آناتومی بیماران با تشخیص انگشت شست ماشه‌ای همراه با درد، ورم و محدودیت حرکت انگشت شست انجام گرفت. به علاوه، جهت افزایش اثر درمانی طب سوزنی، الکتروپانکچر در کنار طب سوزنی و ورزش درمانی غیر فعال هم قبل و بعد از درمان انجام شد. نتیجه‌ی این مطالعه، نشان داد که نمره‌ی VAS بعد از ۱۸ جلسه‌ی درمان به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته است که با نتایج مطالعه‌ی حاضر تطابق دارد (۲۶).

اگر چه اثرات مفید طب سوزنی ممکن است کوتاه مدت باشد، اما به نظر می‌رسد برای بیمارانی که تمایلی به تزریق استروئید ندارند یا در بیمارانی که اثرات جانبی استفاده از کورتن در آن‌ها بسیار بالا می‌باشد، مانند زنان شیرده یا بیماران دیابتی، روش درمانی بسیار امن و مفیدی باشد. درمان با طب سوزنی در این مطالعه خیلی زمان‌بر نبود و تمامی جلسات پشت سر هم در ۱۰ جلسه انجام شدند. مزیت دیگر طب سوزنی در مقایسه با تزریق استروئید یا دیگر روش‌های معمول، این است که در موارد مزمن، می‌تواند در تعداد جلسات بیشتری انجام شود یا اگر بازگشت بیماری مشاهده شد، بدون ترس از اثرات جانبی، درمان تکرار شود. طب سوزنی، همچنین میان سایر روش‌های درمانی، یک درمان به نسبت مقرون به صرفه به شمار می‌رود.

بر طبق مطالعه‌ی حاضر، طب سوزنی نه تنها شدت درد، بلکه حالت ناتوانی حرکتی بیماران با انگشت ماشه‌ای را نیز بهبود داد. در پایان، پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای با پی‌گیری طولانی‌تر انجام شود تا کارایی بلند مدت این درمان روی انگشت ماشه‌ای بررسی شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه، برگرفته از طرح پژوهشی به شماره‌ی ۳۹۴۵۳۹ بوده و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شده است.

در مطالعه‌ی انجام شده توسط Chao و همکاران (۱۷) که به مقایسه‌ی اثر درمانی ریلیز پره کوتانوس و تزریق کورتن در انگشت شست ماشه‌ای پرداخته‌اند، نشان داده شد که ریلیز پره کوتانوس از تزریق کورتن تأثیر بیشتری در درمان این بیماری داشته است.

مطالعه‌ی اجمالی انجام شده توسط Pfefer و همکاران (۱۸)، اثرات کوتاه مدت تسکین درد ناشی از طب سوزنی در درمان التهاب تاندون را نشان داد، اما نتوانست شواهد کافی برای تأیید یا رد استفاده از درمان با طب سوزنی ارائه دهد. مطالعات اجمالی انجام شده توسط Trinh و همکاران (۱۹) و نیز Green و همکاران (۲۰)، شواهد قوی‌تری فراهم کردند که نشان می‌داد طب سوزنی در تسکین کوتاه مدت درد اپی‌کندیدل داخلی مؤثر است.

Lai و همکاران، تحقیقی برای ارزیابی اثر درمانی سوزن‌های بسیار باریک با روش‌های طب سوزنی سنتی تحت اصول آسیب‌شناسی در درمان انگشت ماشه‌ای انجام داد. آن‌ها از چهار جلسه‌ی درمانی شامل ۴ درمان استفاده کردند. در هر جلسه‌ی درمانی، بین ۲۰-۳۰ دقیقه دستکاری با طب سوزنی سنتی اعمال شد. هدف از انجام این تمرینات، تسکین و فعال‌سازی مفاصل، برقراری ارتباط مجدد بین خون و انرژی حیات، آزادسازی چاکراها و تسکین درد در اثر از بین بردن چسبندگی بافت نرم در انگشتان درگیر بود. در نهایت، نتایج نشان داد که طب سوزنی انجام شده با سوزن‌های بسیار باریک و روش‌های سنتی، با توجه به اصول آسیب‌شناسی، در درمان التهاب غشای تاندونی (Tenosynovitis) فلکسور ناشی از تنگی کانال تاندونی (Pulley) مؤثر است (۲۵).

در یک مطالعه‌ی موردی انجام شده توسط Schulman و همکاران در درمان یک مرد مبتلا به دیابت با طب سوزنی، گزارش شده است که روش‌های درمانی فیزیکی مانند طب سوزنی و دستکاری استنوپاتی، می‌تواند در درمان التهاب غشای تاندونی فلکسور مفید باشد (۱۳).

References

- Makkouk AH, Oetgen ME, Swigart CR, Dodds SD. Trigger finger: etiology, evaluation, and treatment. *Curr Rev Musculoskelet Med* 2008; 1(2): 92-6.
- Frontera W, Silver J, Rizzo T. *Essentials of Physical Medicine and Rehabilitation*. Philadelphia, PA: Elsevier; 2008. p. 179-80.
- Fleisch SB, Spindler KP, Lee DH. Corticosteroid injections in the treatment of trigger finger: a level I and II systematic review. *J Am Acad Orthop Surg* 2007; 15(3): 166-71.
- Baumgarten KM, Gerlach D, Boyer MI. Corticosteroid injection in diabetic patients with trigger finger. A prospective, randomized, controlled double-blinded study. *J Bone Joint Surg Am* 2007; 89(12): 2604-11.
- Peters-Veluthamaningal C, van der Windt DA, Winters JC, Meyboom-de JB. Corticosteroid injection for trigger finger in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; (1): CD005617.
- Stahl S, Kanter Y, Karnielli E. Outcome of trigger finger treatment in diabetes. *J Diabetes Complications* 1997; 11(5): 287-90.
- American Academy of Orthopaedic Surgeons. Trigger Finger [Online]. [cited 2018 Mar]; Available

- from: URL: <https://orthoinfo.aaos.org/en/diseases--conditions/trigger-finger>
8. Saldana MJ. Trigger digits: diagnosis and treatment. *J Am Acad Orthop Surg* 2001; 9(4): 246-52.
 9. Gellman H. Acupuncture treatment for musculoskeletal pain: a textbook for orthopaedics, anesthesia, and rehabilitation. Boca Raton, FL: CRC Press; 2002. p. 80-1.
 10. Stux G, Berman B, Pomeranz B, Kofen P, Sahn KA. Basics of Acupuncture. Springer Berlin Heidelberg; 2003. p. 42-3.
 11. Sho JL. Trigger Finger Cure: A Comprehensive Guide and Toolkit for Trigger Finger, Locking Finger, Video Game Thumb Pain, iPad and Smartphone Finge. LasGeorges; 2013. p. 64.
 12. Xu J, Su H. Acupuncture and trigger finger-Don't text message too much [Online]. [cited 2010 sep 26]; Available from: URL: <http://www.drXuacupuncture.co/21-trigger-finger-dont-text-message-too-much/>
 13. Schulman R, Levchenko A, Lombardo SR, Walkoski SA, Moroz A. Trigger Finger in a Male with Diabetes Successfully Treated with Acupuncture and Osteopathic Manipulative Treatment. *Medical Acupuncture* 2013; 25(1): 74-7.
 14. Hadianfard M, Ashraf A, Fakheri M, Nasiri A. Efficacy of acupuncture versus local methylprednisolone acetate injection in De Quervain's tenosynovitis: a randomized controlled trial. *J Acupunct Meridian Stud* 2014; 7(3): 115-21.
 15. Neal BS, Longbottom J. Is there a role for acupuncture in the treatment of tendinopathy? *Acupunct Med* 2012; 30(4): 346-9.
 16. Quinnell RC. Conservative management of trigger finger. *Practitioner* 1980; 224(1340): 187-90.
 17. Chao M, Wu S, Yan T. The effect of miniscalpel-needle versus steroid injection for trigger thumb release. *J Hand Surg Eur Vol* 2009; 34(4): 522-5.
 18. Pfefer MT, Cooper SR, Uhl NL. Chiropractic management of tendinopathy: a literature synthesis. *J Manipulative Physiol Ther* 2009; 32(1): 41-52.
 19. Trinh KV, Phillips SD, Ho E, Damsma K. Acupuncture for the alleviation of lateral epicondyle pain: a systematic review. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(9): 1085-90.
 20. Green S, Buchbinder R, Barnsley L, Hall S, White M, Smidt N, et al. Acupuncture for lateral elbow pain. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; (1): CD003527.
 21. Zhang BM, Zhong LW, Xu SW, Jiang HR, Shen J. Acupuncture for chronic Achilles tendnopathy: A randomized controlled study. *Chin J Integr Med* 2013; 19(12): 900-4.
 22. Goldman N, Chen M, Fujita T, Xu Q, Peng W, Liu W, et al. Adenosine A1 receptors mediate local anti-nociceptive effects of acupuncture. *Nat Neurosci* 2010; 13(7): 883-8.
 23. Kubo K, Yajima H, Takayama M, Ikebukuro T, Mizoguchi H, Takakura N. Effects of acupuncture and heating on blood volume and oxygen saturation of human Achilles tendon in vivo. *Eur J Appl Physiol* 2010; 109(3): 545-50.
 24. Sandberg M, Lundeberg T, Lindberg LG, Gerdle B. Effects of acupuncture on skin and muscle blood flow in healthy subjects. *Eur J Appl Physiol* 2003; 90(1-2): 114-9.
 25. Lai MHL, Song Q, John F. Clinical observation on the treatment of trigger finger with filiform needles and traditional acupuncture techniques guided by acupotomology principles. *American Acupuncturist* 2012; 59: 18-23.
 26. Lee JI, Song HS. A Case Report on Patient with Trigger Thumb Improved by Complex Korean Medical Treatment. *J Acupunct Res* 2015; 32(1): 141-7.

The Therapeutic Effect of Acupuncture on Trigger Finger Disease

Parisa Taheri¹, Roghayeh Ghasemi², Maryam Mellat²

Original Article

Abstract

Background: This study aimed to find the therapeutic effect of acupuncture in the treatment of patient with trigger finger.

Methods: This clinical trial study without control group was performed during the years 2014-2015 in Alzahra Medical Health Center in Isfahan, Iran, on 42 patients with trigger finger referred to this center. Patients were selected based on examination and description, and classified into five groups based on trigger finger (TF) scoring table. Demographic information, pain severity based on visual analog scale (VAS), disease score based on trigger finger score, and finger movement range were determined and recorded. Patients were treated with acupuncture for 10 sessions of half an hour using needle 7 × 0.16 mm using ah shi points locating method. Patients were followed once after the end of intervention (after 10 sessions of acupuncture) and one month later.

Findings: Based on the inclusion criteria, 42 patients enrolled the study, but 34 of them finalized it, 29 patients (85.3%) with grade IV, and 5 (14.7%) with grade V. After treatment, totally, 21 patients (61.8%) changed to grade I, 7 (20.6%) changed to grade IIb, and 6 changed to grade III. In other words, of 29 patients with grade IV, 17 changed to grade I, 7 changed to grade IIb, and 5 changed to grade III. Moreover, of 5 patients with grade V, 4 changed to grade I, and 1 changed to grade III. Before treatment, the mean pain score was 5.9 ± 2.1 , which change to 5.6 ± 2.1 after the surgery. Reduction of pain score after treatment was statistically significant ($P > 0.001$). After treatment, the range of motion significantly improved in all patients ($P > 0.001$); the mean of reduction was 48.7 ± 13.8 .

Conclusion: Less invasive and less complicated treatment modalities such as acupuncture can be useful in the treatment of flexor tendon tenosynovitis.

Keywords: Trigger finger disorder, Acupuncture, treatment

Citation: Taheri P, Ghasemi R, Mellat M. **The Therapeutic Effect of Acupuncture on Trigger Finger Disease.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(482): 614-20.

1- Assistant Professor, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Resident, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Roghayeh Ghasemi, Email: dr.ghasemi2000@yahoo.com

بررسی تأثیر تجویز دو دز استازولامید به عنوان پیش‌دارو بر روی تسکین درد ارجاعی پس از عمل جراحی کوله سیستکتومی به روش لاپاروسکوپی با گاز دی‌اکسید کربن و مقایسه‌ی آن با گروه شاهد

پروین ساجدی^۱، پیمان سلیمانی^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: درد ارجاعی بعد از عمل جراحی لاپاروسکوپی کله سیستکتومی، یکی از عوارض شایع آن است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی و مقایسه‌ی دزهای مختلف استازولامید بر روی کاهش درد بعد از عمل در بیماران تحت عمل جراحی لاپاروسکوپی کله سیستکتومی با گاز دی‌اکسید کربن بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی دو سوکور، تعداد ۹۰ بیمار که کاندیدای عمل جراحی کله سیستکتومی به واسطه‌ی لاپاروسکوپی بودند، وارد این مطالعه شدند. بیماران به صورت تصادفی در سه گروه موازی شامل گروه تحت درمان با داروی استازولامید استازولامید ۱۰ (تا حداکثر ۷۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، گروه تحت درمان با داروی استازولامید ۵ (تا حداکثر ۳۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و گروه تحت درمان با دارونما (کپسول خالی) یک ساعت قبل از عمل جراحی قرار گرفتند. سپس، متغیرهای مطالعه در سه گروه مقایسه شد.

یافته‌ها: میزان درد ارجاعی بعد از عمل در ابتدا، ۱۲ و ۱۸ ساعت بعد از عمل به ترتیب در گروه‌های استازولامید ۱۰ (تا حداکثر ۷۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، استازولامید ۵ (تا حداکثر ۳۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و دارونما از کمتر به بیشتر بود ($P < 0/05$). همچنین، میزان نیاز به پتیدین در گروه استازولامید ۱۰ (تا حداکثر ۷۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت معنی‌داری کمتر از گروه‌های استازولامید ۵ (تا حداکثر ۳۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و دارونما بود ($P < 0/001$), اما میزان عوارض بعد از عمل در گروه استازولامید ۱۰ (تا حداکثر ۷۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نسبت به سایر گروه‌ها به صورت معنی‌داری بیشتر بود ($P = 0/002$).

نتیجه‌گیری: استفاده از دز ۱۰-۷۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم استازولامید، باعث کاهش قابل توجه درد ارجاعی بعد از عمل و نیاز به داروهای اپیوئید در بیماران تحت عمل جراحی کله‌سیستکتومی لاپاروسکوپی با گاز دی‌اکسید کربن شد، اما میزان عوارض آن به نسبت بالاتر بود؛ هر چند این عوارض شدید نبود.

واژگان کلیدی: استازولامید، کله سیستکتومی، لاپاروسکوپی، درد بعد از عمل، پیش‌دارو

ارجاع: ساجدی پروین، سلیمانی پیمان. بررسی تأثیر تجویز دو دز استازولامید به عنوان پیش‌دارو بر روی تسکین درد ارجاعی پس از عمل جراحی کوله سیستکتومی به روش لاپاروسکوپی با گاز دی‌اکسید کربن و مقایسه‌ی آن با گروه شاهد. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛

۳۶ (۴۸۲): ۶۲۸-۶۲۱

H در سطح سروزای اعضای شکمی، pH کاهش می‌یابد و باعث درد می‌شود. pH سروزای داخل شکم به تعادل بین تولید یون H و برداشت یون H بستگی دارد که در نتیجه ی دمیدن گاز CO₂، این pH به زیر ۶/۲۴ (در مدل‌های حیوانی) می‌رسد (۴-۵). همچنین، یکی از انواع دردهای پس از عمل لاپاروسکوپی درد شانه می‌باشد که در نتیجه‌ی تحریک و التهاب دیافراگم ناشی از حضور گاز CO₂ در شکم، ایجاد می‌شود (۶). آنزیم کربنیک انیدراز، آنزیمی است که تولید یون H و HCO₃ را از CO₂ و H₂O کاتالیز

مقدمه

روش‌های جراحی لاپاروسکوپی (Laparoscopic) اغلب با دمیدن گاز دی‌اکسید کربن (CO₂ یا Carbon dioxide) به داخل پریتون انجام می‌شود؛ چرا که خطر عواقب ناشی از آمبولی داخل وریدی با گازهای محلول نظیر اکسید نیتروژن، هوا و هلیوم بیشتر است (۱). وجود باقی مانده‌ی گاز CO₂ پس از عمل جراحی، باعث درد شکمی و درد انتشاری ناشی از تحریک پریتون و دیافراگم در این بیماران می‌گردد (۲-۳). به علاوه، در طی دمیدن گاز CO₂ به دلیل تولید یون

۱- استاد، مرکز تحقیقات بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی پزشکی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: payman.soleimani1992@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤو: پیمان سلیمانی

می‌کند. حدود ۹۰ درصد از CO₂ در بدن انسان با این واسطه و به صورت یون بیکربنات حمل می‌شود (۷، ۳-۲).

در بعضی مطالعات، نشان داده شده است که تزریق ساب دیافراگمی نرمال سالین (۳۰-۳۰ میلی لیتر/کیلوگرم) در پایان کوله سیستکتومی لاپاروسکوپی و اسپیراسیون بعدی آن، باعث کاهش درد ناحیه‌ی ران و شانه در دوره‌ی پس از عمل می‌شود. این اثر مفید تزریق سالین، ممکن است به دلیل رقیق کردن اسید کربنیک و جابه‌جایی CO₂ باقی مانده باشد (۹-۸).

همان‌طور که شناخته شده است، تشکیل آنزیم کربنیک از CO₂ و H₂O توسط آنزیم کربنیک آیدراز تسریع می‌شود. بنابراین، استازولامید، یک مهارکننده‌ی قوی کربنیک آیدراز است که برای کاهش درد ارجاع شده پس از کوله سیستکتومی لاپاروسکوپی استفاده می‌شود (۹). در مطالعات اخیر، مشاهده شده است که استفاده از استازولامید وریدی، باعث کاهش درد انتشاری پس از عمل لاپاروسکوپی در گروه استفاده‌کننده از این دارو نسبت به گروه استفاده‌کننده از دارونما شده و این کاهش، حدود ۳۳ درصد بوده است (۱۰).

تا کنون تعداد بسیار محدودی مطالعه بر روی تأثیر دز ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید خوراکی بر روی دردهای پس از عمل لاپاروسکوپی انجام شده است. از آنجایی که مطالعات بسیار محدودی در این زمینه انجام شده است و می‌توان با انجام این مطالعه و دست آوردن آن گام بلندی در جهت برطرف کردن دردهای پس از عمل و فراهم کردن آرامش بیماران برداشت، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر پیش‌گیرانه‌ی تجویز دو دز استازولامید بر تسکین درد پس از عمل جراحی کوله سیستکتومی به روش لاپاروسکوپی با گاز دی‌اکسید کربن انجام شد.

روش‌ها

بیماران: در این مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی دو سوکور که به عنوان پایان‌نامه‌ی دکتری حرفه‌ای پزشکی عمومی در معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به تصویب رسید، تعداد ۹۰ بیمار از ۱۳۴ بیمار که کاندیدای عمل جراحی کله سیستکتومی لاپاروسکوپی به وسیله‌ی گاز دی‌اکسید کربن بودند و طی سال‌های ۹۶-۱۳۹۵ به مرکز آموزشی-درمانی الزهرای (س) اصفهان مراجعه کرده بودند، با نمونه‌گیری آسان وارد مطالعه شدند.

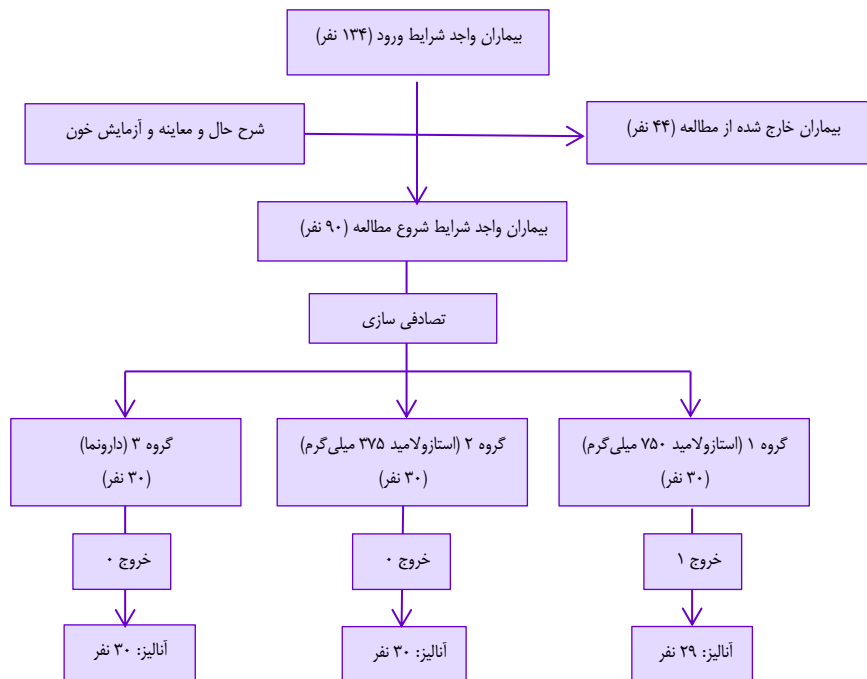
معیارهای ورود به مطالعه، شامل تمامی بیمارانی بود که کاندیدای عمل کوله سیستکتومی لاپاروسکوپی به وسیله‌ی گاز دی‌اکسید کربن بودند، سن بین ۱۸-۶۵ سال، درجه‌ی بیهوشی ۱ یا ۲ بر اساس معیارهای (ASA) American Society of Anesthesiologists و

رضایت جهت شرکت در مطالعه داشتند. معیارهای عدم ورود به مطالعه، شامل سابقه‌ی بیماری‌های خونی، حاملگی، سابقه‌ی اسیدوز متابولیک مزمن، بیماری‌های انسدادی ریه و یا نارسایی تنفسی، نارسایی کلیه یا غلظت کراتینین سرم بالای ۲ میلی‌گرم/دسی‌لیتر، پیوند کلیه، اختلالات الکترولیت (پتاسیم زیر ۳/۵ میلی‌اکی‌والان/لیتر و سدیم زیر ۱۳۵ میلی‌اکی‌والان/لیتر، آلرژیک به سولفانامیدها، بیماران تحت درمان با لیتیم، درمان با انواع دیورتیک‌ها، بیماری کبدی و یا بیماری سیستم عصبی مرکزی بود. همچنین، هرگونه تغییر در روش بیهوشی، روش جراحی، ایست قلبی و حساسیت شدید به خون و داروها، به عنوان معیارهای خروج در نظر گرفته شد.

گروه‌های مورد مطالعه: بعد از ورود بیماران به مطالعه، با استفاده از نرم‌افزار Random allocation، بیماران به سه گروه موازی و مساوی (۳۰ نفره) شامل گروه استازولامید خوراکی با دز ۱۰ (تا حداکثر ۷۵۰) میلی‌گرم/کیلوگرم، گروه استازولامید خوراکی با دز ۵ (تا حداکثر ۳۷۵) میلی‌گرم/کیلوگرم و گروه دارونما (کپسول‌های خالی) تقسیم شدند. هر سه گروه، کپسول دارو را همراه با ۳۰ سی‌سی آب یک ساعت قبل از عمل به عنوان پیش‌دارو دریافت کردند.

روش کورسازی در این مطالعه، توسط مجری طرح به این صورت انجام گرفت که برای هر سه گروه، سه کپسول داده شد و بیماران از محتوای درون کپسول آگاه نبودند و با توجه به این که قرص استازولامید به صورت ۲۵۰ میلی‌گرم در ایران موجود است، در این مطالعه با در نظر گرفتن معیار وزن ۷۵ کیلوگرم به یک گروه ۷۵۰ میلی‌گرم (۳ قرص) که هر کدام داخل ۳ کپسول یعنی هر قرص ۲۵۰ داخل یک کپسول بود، به گروه دیگر ۳۷۵ میلی‌گرم (۳ نصف قرص) که هر کدام داخل ۳ کپسول یعنی هر قرص ۱۲۵ داخل یک کپسول بود) و به گروه دارونما، سه کپسول خالی داده شد. برای بیماران یک چک لیست تعبیه شد که شامل اطلاعات دموگرافیک و اطلاعات مورد نیاز این مطالعه بود. دیاگرام تقسیم بیماران در هر مرحله از مطالعه در شکل ۱ آمده است.

تکنیک بیهوشی در قبل، طول مدت و بعد از عمل: قبل از عمل جراحی، علائم حیاتی هر سه گروه شامل فشار خون سیستول، فشار خون دیاستول و ضربان قلب و تعداد تنفس اندازه‌گیری و ثبت گردید. همه‌ی بیماران تحت بیهوشی عمومی بودند و در هر سه گروه، القای بیهوشی با پروپوفول ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم و فنتانیل ۲ میکروگرم/کیلوگرم و آترکوریوم ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم انجام گرفت. ادامه‌ی بیهوشی با مرفین، ایزوفلوران ۱/۳ حداقل غلظت آلئولی (Minimum alveolar concentration یا MAC) و اکسیژن انجام شد. طی عمل جراحی، CO₂ انتهای بازدمی پایش شد و هر ۱۵ دقیقه، مقادیر آن ثبت گردید.



شکل ۱. دیاگرام تقسیم بیماران در هر مرحله از مطالعه

درصد و ضریب اطمینان ۹۵ درصد و بر اساس انحراف معیار نمره‌ی درد (۱/۵۵) بر اساس مطالعات قبلی و اختلاف بین میانگین‌های نمره‌ی درد (۱/۱) (۱۰)، مقدار ۳۰ بیمار در هر گروه برآورد شد. قابل ذکر است فرد آنالیز کننده و جمع کننده‌ی اطلاعات توسط مجری طرح کورسازی (از نوع گروه‌ها نامطلع بودند) شده بودند. تمام داده‌ها وارد نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۴ (version 24, IBM Corporation, Armonk, NY) شد و آزمون‌های مورد استفاده در این مطالعه برای مقایسه‌ی سه گروه برای داده‌های کیفی نرم‌افزار χ^2 و برای مقایسه‌ی داده‌های کمی از آزمون ANOVA استفاده شد. همچنین، از آزمون Repeated measures ANOVA برای مقایسه‌ی تغییرات نمره‌ی VAS در سه گروه استفاده شد. قابل ذکر است داده‌های کمی به صورت میانگین و انحراف معیار و داده‌های کیفی به صورت تعداد (درصد) نشان داده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۳۰ بیمار در گروه ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم استازولامید (۲۲ زن و ۸ مرد)، ۳۰ بیمار در گروه ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم استازولامید (۱۹ زن و ۱۱ مرد) و ۳۰ بیمار در گروه دارونما (۲۳ زن و ۷ مرد) بودند. قابل ذکر است بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری بر اساس سن ($P = ۰/۷۹۰$)، جنس ($P = ۰/۴۹۰$)، شاخص توده‌ی بدنی (Body mass index یا BMI) ($P = ۰/۲۹۰$)، ASA ($P = ۰/۶۷۰$) وجود نداشت (جدول ۱).

همچنین، نمونه‌ی خون از بیماران حین عمل با روش استاندارد خون‌گیری و با رضایت بیماران (قبل از عمل)، توسط متخصص بیهوشی به منظور اندازه‌گیری سطح سرمی پتاسیم و بیکربنات از Venous blood gas (VBG) گرفته و در ریکاوری، علائم حیاتی هر ۳۰ دقیقه کنترل و ثبت شد.

در صورت بیداری کامل در ابتدا، درد بیمار بر اساس معیار Visual analogue scale (VAS) یا مقدار ۱۰-۰ در ابتدا ثبت گردید. ترخیص بیماران از ریکاوری در صورتی بود که مقدار نمره‌ی Modified Aldrete score حداقل ۹ از ۱۰ باشد. فاصله‌ی زمانی ترخیص از ریکاوری نسبت به زمان ورود به ریکاوری، ثبت گردید. همچنین، درد بیمار پس از ترخیص از ریکاوری و سپس، هر ۶ ساعت تا ۲۴ ساعت بر اساس معیار VAS ثبت شد. در صورت درخواست بیمار برای مخدر در طی ۲۴ ساعت اول، نخست بیمار کنترل و پس از ثبت آن در صورت $VAS > ۵$ ، پتیدین ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم تزریق گردید. قابل ذکر است میزان VAS بر اساس نمره‌ای که بیماران بین ۱۰-۰ به درد بعد از عمل می‌دادند، بررسی شد که شامل درد ارجاعی مانند درد شانه (به خاطر گاز CO_2) بود. عوارض مصرف استازولامید شامل تب، گزگز انتهاها و خواب‌آلودگی نیز بررسی و در پرسش‌نامه ثبت گردید.

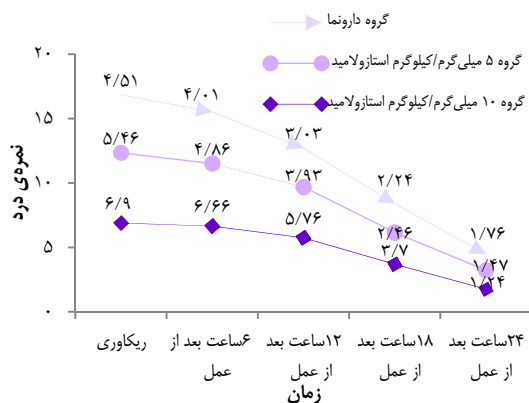
آنالیز آماری: حجم نمونه‌ی این مطالعه بر اساس فرمول محاسبه‌ی حجم نمونه با در نظر گرفتن توان مورد انتظار آزمون ۸۰

جدول ۱. متغیرهای دموگرافیک بیماران در سه گروه تحت مطالعه

متغیر	گروه ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید	گروه ۵ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید	گروه دارونما	مقدار P
تعداد	۳۰	۳۰	۳۰	-
سن (سال) (میانگین ± انحراف معیار)	۴۰/۳۶ ± ۱۲/۲۶	۴۲/۶۶ ± ۱۱/۳۳	۴۱/۵۳ ± ۱۲/۸۵	۰/۷۹۰
جنس	زن	زن	زن	۰/۴۹۰
	۲۲ (۷۳/۳)	۱۹ (۶۳/۳)	۲۳ (۷۶/۷)	
	مرد	مرد	مرد	۰/۲۹۰
	۸ (۲۶/۷)	۱۱ (۳۶/۷)	۷ (۲۳/۳)	
BMI (کیلوگرم/مترمربع) (میانگین ± انحراف معیار)	۲۴/۸۰ ± ۳/۴۴	۲۳/۵۱ ± ۲/۶۴	۲۳/۹۵ ± ۳/۴۶	۰/۶۷۰
ASA (میانگین ± انحراف معیار)	۱/۵۰ ± ۰/۵۰	۱/۴۰ ± ۰/۴۹	۱/۴۰ ± ۰/۴۹	

*ANOVA test; ** χ^2

BMI: Body mass index; ASA: American Society of Anesthesiologists



شکل ۲. تغییرات نمره‌ی درد ارجاعی بعد از عمل بر اساس معیار

Visual analog scale (VAS) در سه گروه مورد مطالعه

میانگین CO_2 انتهایی بازدمی در گروه ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم نسبت به گروه ۵ میلی گرم/کیلوگرم و دارونما بیشتر بود و در گروه ۵ میلی گرم/کیلوگرم نسبت به گروه دارونما بیشتر بود که این رابطه معنی دار بود ($P < ۰/۰۰۱$). همچنین، بین سه گروه اختلاف معنی داری بر اساس مدت زمان ریکاوری وجود نداشت ($P = ۰/۳۶۰$). قابل ذکر است یک بیمار در گروه ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید به خاطر سن و BMI بالا در حین عمل جراحی لاپاروسکوپی نیاز به Open شدن پیدا کرد که از مطالعه خارج شد.

قبل از عمل، فشار خون سیستول و دیاستول، تعداد ضربان قلب و تعداد تنفس بیماران ثبت شد. میزان فشار خون سیستول و دیاستول بلافاصله قبل از عمل (پس از دریافت دارو) به ترتیب کمتر به بیشتر در گروه‌های ۱۰ و ۵ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید و گروه دارونما بود که این رابطه، معنی دار بود ($P = ۰/۰۱۰$) برای فشار خون سیستول و ($P = ۰/۰۰۳$) برای فشار خون دیاستول). همچنین، بین سه گروه اختلاف معنی داری بر اساس تعداد ضربان قلب ($P = ۰/۶۶۰$) و تعداد تنفس ($P = ۰/۶۷۰$) وجود نداشت (جدول ۲ و ۳).

درد ارجاعی بعد از عمل یا VAS در سه گروه در بدو ورود به ریکاوری، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت بعد از عمل بررسی شد. قابل ذکر است، VAS در ابتدا، ۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت بعد از عمل به ترتیب در گروه ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید به طور معنی داری کمتر از دو گروه دیگر و در گروه ۵ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید به صورت معنی داری کمتر از دارونما بود ($P > ۰/۰۰۱$ برای هر ۴ مورد). همچنین، بین سه گروه اختلاف معنی داری بر اساس VAS در ۲۴ ساعت بعد از وجود داشت ($P = ۰/۱۲۰$). سایر اطلاعات در جدول ۴ آمده است.

همچنین، طبق آزمون Repeated measures ANOVA، تغییرات نمره‌ی VAS در مقاطع مختلف زمانی در سه گروه مورد مطالعه معنی دار بود ($P > ۰/۰۰۱$ ، برای ۳ گروه) (شکل ۲). مقدار CO_2 انتهایی بازدمی مراقبت حین عمل بررسی شد.

جدول ۲. متغیرهای بالینی (فشار و ضربان قلب) بیماران در سه گروه تحت مطالعه

متغیر	گروه ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید	گروه ۵ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید	گروه دارونما	مقدار P
فشار خون سیستول (mmHg) (میانگین ± انحراف معیار)	۱۲۳/۲۶ ± ۹/۸۰	۱۲۸/۳۶ ± ۱۳/۱۷	۱۳۱/۹۶ ± ۱۱/۳۶	۰/۰۱۰
فشار خون دیاستول (mmHg) (میانگین ± انحراف معیار)	۷۷/۵۰ ± ۸/۳۴	۷۸/۷۳ ± ۹/۷۵	۸۴/۶۶ ± ۶/۴۶	۰/۰۰۳
تعداد ضربان قلب (میانگین ± انحراف معیار)	۷۸/۱۳ ± ۱۱/۰۱	۸۰/۴۳ ± ۹/۹۹	۷۹/۹۶ ± ۱۰/۰۴	۰/۶۶۰

*ANOVA test

جدول ۳. درد ارجاعی بعد از عمل یا (VAS) Visual analog scale در مقاطع زمانی مختلف بعد از عمل در گروه‌های مورد مطالعه

مقدار *P	گروه دارونما	گروه ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید	گروه ۵ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید	VAS (میانگین ± انحراف معیار)
< ۰/۰۰۱	۶/۹۰ ± ۱/۳۷	۵/۴۶ ± ۱/۵۲	۴/۵۱ ± ۱/۳۵	در ابتدا
< ۰/۰۰۱	۶/۶۶ ± ۱/۳۲	۴/۸۶ ± ۱/۳۸	۴/۰۱ ± ۱/۱۰	۶ ساعت بعد
< ۰/۰۰۱	۵/۷۶ ± ۱/۲۲	۳/۹۳ ± ۱/۲۵	۳/۰۳ ± ۰/۹۴	۱۲ ساعت بعد
< ۰/۰۰۱	۳/۷۰ ± ۰/۸۷	۲/۴۶ ± ۰/۸۹	۲/۲۴ ± ۰/۷۳	۱۸ ساعت بعد
۰/۱۲۰	۱/۷۶ ± ۰/۶۲	۱/۴۳ ± ۱/۰۱	۱/۳۴ ± ۰/۸۱	۲۴ ساعت بعد

*ANOVA test

VAS: Visual analogue scale

در گروه استازولامید ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به نسبت پایین‌تر از گروه دارونما بود. علاوه بر این، به خاطر کمتر بودن میزان درد بعد از عمل در گروه استازولامید ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، نیاز به داروی پتیدین به نسبت در این گروه کمتر بود، اما میزان عوارض بعد از عمل در گروه استازولامید ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم بیشتر از دو گروه دیگر بود؛ هر چند این عوارض مثل گزگز انتهاها یا خواب‌آلودگی، بسیار جزئی بودند و عوارض جدی به حساب نمی‌آمدند.

در مطالعه‌ی موثقی و همکاران، استفاده از استازولامید ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم، ۱ ساعت قبل از عمل به عنوان پروفیلاکسی کنترل درد انتشاری و بهبود کیفیت درد، نشان داد که تجویز یک دز استازولامید هیچ تأثیر آماری معنی‌داری بر کیفیت خواب نداشت. علاوه بر این، تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌ها در مورد تهوع و استفراغ وجود نداشت، اما این تک دز استازولامید با کاهش آماری قابل توجه در درد شانه، بلافاصله پس از لاپاروسکوپی (ساعات اولیه بعد از عمل) ارتباط داشت. هر چند که در ساعات ۲، ۴، ۶، ۱۲ و ۲۴ بعد از عمل، این تفاوت معنی‌دار نبود. همین‌طور، استفاده از استازولامید در میزان مصرف داروهای ضد درد در ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از لاپاروسکوپی اثر معنی‌داری نگذاشت (۱۱).

نیاز به پتیدین بعد از عمل به خاطر درد ارجاعی در گروه ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم استازولامید ۱۷/۲ درصد، در گروه ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم استازولامید ۴۶/۷ درصد و در گروه دارونما ۷۳/۳ درصد بود و بین سه گروه بر اساس نیاز به پتیدین بعد از عمل رابطه‌ی معنی‌داری وجود داشت ($P > ۰/۰۰۱$). همچنین، عوارض بعد از عمل در گروه ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم استازولامید شامل ۲۴/۱ درصد گزگز انتهاها و ۳۱/۰ درصد خواب‌آلودگی؛ در گروه ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم استازولامید شامل ۱۳/۳ درصد گزگز انتهاها و ۱۶/۷ درصد خواب‌آلودگی و در گروه دارونما شامل ۳/۳ درصد تب و ۳/۳ درصد خواب‌آلودگی بود. بنابراین، بین سه گروه اختلاف معنی‌داری بر اساس عوارض بعد از عمل وجود داشت (جدول ۴).

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، هیچ یک از بیماران دچار افت فشار خون به دلیل مصرف استازولامید نشد. در نتایج، مشاهده گردید که میزان درد ارجاعی بعد از عمل در دز بالای استازولامید (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به نسبت پایین‌تر از دو گروه دیگر (استازولامید ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و دارونما) در لحظه‌ی اولیه، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت بعد از عمل بود. همچنین، میزان این درد بعد از عمل

جدول ۴. متغیرهای سه گروه در حین و بعد از عمل

متغیر	گروه ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید	گروه ۵ میلی گرم/کیلوگرم استازولامید	گروه دارونما	مقدار *P
تعداد تنفس (میانگین ± انحراف معیار)	۲۳/۵۰ ± ۴/۳۵	۲۲/۶۳ ± ۴/۰۷	۲۳/۳۰ ± ۳/۴۳	۰/۶۷۰
CO ₂ توتال در حین عمل (میانگین ± انحراف معیار)	۳۴/۱۰ ± ۵/۵۴	۳۰/۳۰ ± ۳/۷۲	۲۶/۱۶ ± ۵/۳۹	< ۰/۰۰۱
مدت زمان ریکاوری (دقیقه) (میانگین ± انحراف معیار)	۷۰/۲۴ ± ۱۳/۲۶	۷۳/۰۳ ± ۱۲/۸۸	۷۴/۹۳ ± ۸/۹۸	۰/۳۶۰
نیاز به پتیدین در بعد از عمل	۵ (۱۷/۲)	۱۴ (۴۶/۷)	۲۲ (۷۳/۳)	<< ۰/۰۰۱
ندارد	۲۴ (۲۸/۸)	۱۶ (۵۳/۳)	۸ (۲۶/۷)	
تب	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۳/۳)	
عوارض بعد از عمل	۷ (۲۴/۱)	۴ (۱۳/۳)	۰ (۰)	<< ۰/۰۰۲
خواب‌آلودگی	۹ (۳۱/۰)	۵ (۱۶/۷)	۱ (۳/۳)	

*ANOVA test; ** χ^2

گروه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (۱۵).

در مطالعه‌ی Bala و همکاران که به بررسی و مقایسه‌ی تأثیر داروی استازولامید در مقایسه با شستشوی (آبیاری) داخل شکمی نرمال‌سالین بر کاهش درد بعد از عمل پرداخته بودند، مشاهده شد که شستشوی داخل شکمی نرمال‌سالین، تأثیر بیشتری نسبت به استازولامید بر روی کاهش درد ویسرال و نیاز به داروهای اپیوئید دارد؛ با این حال، تأثیر آن بر روی کاهش درد شانه مشابه استازولامید بود (۹).

با توجه به نتایج مطالعات قبلی و مطالعه‌ی حاضر، به نظر می‌رسد داروی استازولامید داروی مفیدی در جهت درد بعد از عمل باشد؛ به طوری که در مطالعه‌ی حاضر، مشاهده شده که استازولامید ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، تأثیر زیادی در کاهش درد ارجاعی بعد از عمل جراحی لاپاروسکوپی (کله سیستکتومی) و نیاز به داروهای اپیوئید نسبت به دز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و دارونما دارد و از طرفی، عوارض این دز به نسبت بالا بود؛ هر چند این عوارض شدید نبود.

بنابراین، از جمله محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر، می‌توان به عدم توانایی بررسی pH موضعی در شکم اشاره کرد. احتمال می‌رود که تغییر pH و تغییر غلظت HCO₃ داخل حفره‌ی شکم ناشی از لاپاروسکوپی بیش از آن چیزی باشد که توسط نمونه‌ی Arterial-blood gas (ABG) ثبت شده است؛ چرا که نمونه‌ی ABG نماینده‌ی pH و HCO₃ خون سیستمیک می‌باشد. از دیگر محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر، می‌توان به این نکته اشاره کرد که کارایی استازولامید با دزهای استاندارد داروهای مخدر یا داروهای ضد التهاب مقایسه نشد. در پایان، به نظر می‌رسد به مطالعات بیشتر در حجم نمونه‌ی بالاتر برای بررسی دقیق‌تر نقش این دارو نیاز باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه، به عنوان پایان‌نامه‌ی دکتری حرفه‌ای پزشکی عمومی با شماره‌ی ۳۹۵۱۴۲ در معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به تصویب رسیده است. بدین وسیله از پرسنل اتاق عمل بیمارستان الزهراء (س) اصفهان که در اجرای این پژوهش همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

یکی از عللی که این مطالعه نتایج متفاوتی با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر دارد، این است که آن‌ها از استازولامید به صورت تک دز و با ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم استفاده کردند. همچنین در مطالعه‌ی پیش‌گفته، فشار CO₂ حین عمل اندازه‌گیری نشد.

مطالعات Woehlick و همکاران (۱۰) و Hanly و همکاران (۱۲) نشان داده است که تزریق استازولامید می‌تواند درد ارجاعی را کاهش دهد، اما درد محل عمل را کاهش نمی‌دهد. همچنین، در این دو مطالعه، اختلاف معنی‌داری در مورد کاهش درد ارجاعی بین گروه مورد و شاهد وجود نداشت. بر اساس مطالعه‌ی Singh و همکاران، اضافه کردن استازولامید به یک رژیم چند دارویی، توانست درد در بیماران تحت عمل جراحی نفرکتومی لاپاروسکوپی را بهبود بخشد (۱۳). در مطالعه‌ی مؤذنی بیستگانی و همکاران که به بررسی تأثیر استازولامید بر روی میزان درد بعد از عمل جراحی کوله سیستکتومی به روش لاپاروسکوپی بر روی ۸۸ بیمار با سنگ کیسه‌ی صفرا پرداخته بودند، گروه مورد تحت درمان با استازولامید ۲۵۰ میلی‌گرم از ۲۴ ساعت قبل از عمل و تا ۲۴ ساعت بعد از عمل (هر ۸ ساعت) قرار گرفته بودند. ابزار جمع‌آوری اطلاعات در این مطالعه، پرسش‌نامه‌ی درد McGill بود که از قبل از مداخله تا بعد از جراحی برای بیماران تکمیل شد. نکته‌ی این مطالعه، این بود که بر خلاف انتظار، میزان درد بعد از عمل در گروه مورد ۲۴ ساعت بعد از عمل به صورت معنی‌داری بالاتر از دارونما بود و در زمان‌های دیگر، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بر اساس میزان درد بعد از عمل وجود نداشت. در نتیجه‌گیری این مطالعه، بیان شد که علت این افزایش درد در گروه استازولامید به خاطر افزایش اسیدیته (یکی از عوارض دارو) به دنبال مصرف دارو بوده است (۱۴).

در یک مطالعه‌ی گذشته نگر توسط Pournalian و همکاران که به بررسی تأثیر استازولامید (۲۵۰ میلی‌گرم) بر روی کاهش درد بعد از عمل جراحی لاپاروسکوپی فتق اینگوئینال (۶۶ بیمار) پرداختند، میانگین درد بعد از عمل در گروهی که استازولامید مصرف کرده بودند، به صورت معنی‌داری پایین‌تر از گروه شاهد بود. همچنین، نیاز به داروی مورفین بعد از عمل در گروه استفاده‌کننده از داروی استازولامید به طور معنی‌داری کمتر بود. علاوه بر این، در میزان عوارض بعد از عمل بین دو

References

- Demco L. Effect of heating and humidifying gas on patients undergoing awake laparoscopy. J Am Assoc Gynecol Laparosc 2001; 8(2): 247-51.
- Minoli G, Terruzzi V, Spinzi GC, Benvenuti C, Rossini A. The influence of carbon dioxide and nitrous oxide on pain during laparoscopy: a double-blind, controlled trial. Gastrointest Endosc 1982; 28(3): 173-5.
- Corona R, Binda MM, Mailova K, Verguts J, Koninckx PR. Addition of nitrous oxide to the carbon dioxide pneumoperitoneum strongly decreases adhesion formation and the dose-dependent adhesiogenic effect of blood in a laparoscopic mouse model. Fertil Steril 2013; 100(6): 1777-83.

4. Korell M, Schmaus F, Strowitzki T, Schneeweiss SG, Hepp H. Pain intensity following laparoscopy. *Surg Laparosc Endosc* 1996; 6(5): 375-9.
5. Ren H, Tong Y, Ding XB, Wang X, Jin SQ, Niu XY, et al. Abdominal wall-lifting versus CO2 pneumoperitoneum in laparoscopy: A review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7(6): 1558-68.
6. Rettenmaier MA, Micha JP, Lopez KL, Wilcox AM, Goldstein BH. A prospective, observational trial assessing the efficacy of abdominal compression in reducing laparoscopic-induced shoulder pain. *Surg Innov* 2017; 24(6): 552-6.
7. Koninckx PR, Corona R, Timmerman D, Verguts J, Adamyan L. Peritoneal full-conditioning reduces postoperative adhesions and pain: a randomised controlled trial in deep endometriosis surgery. *J Ovarian Res* 2013; 6(1): 90.
8. Tsimoyiannis EC, Glantzounis G, Lekkas ET, Siakas P, Jabarin M, Tzourou H. Intraperitoneal normal saline and bupivacaine infusion for reduction of postoperative pain after laparoscopic cholecystectomy. *Surg Laparosc Endosc* 1998; 8(6): 416-20.
9. Bala I, Bhatia N, Mishra P, Verma GR, Kaman L. Comparison of preoperative oral acetazolamide and intraperitoneal normal saline irrigation for reduction of postoperative pain after laparoscopic cholecystectomy. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2015; 25(4): 285-90.
10. Woehlck HJ, Otterson M, Yun H, Connolly LA, Eastwood D, Colpaert K. Acetazolamide reduces referred postoperative pain after laparoscopic surgery with carbon dioxide insufflation. *Anesthesiology* 2003; 99(4): 924-8.
11. Movassaghi R, Peirovifar A, Aghamohammadi D, Mohammadipour AH, Golzari SE, Kourehpaz Z. Premedication with single dose of acetazolamide for the control of referral shoulder pain after laparoscopic cholecystectomy. *Anesth Pain Med* 2015; 5(6): e29366.
12. Hanly EJ, Mendoza-Sagaon M, Murata K, Hardacre JM, De Maio A, Talamini MA. CO2 Pneumoperitoneum modifies the inflammatory response to sepsis. *Ann Surg* 2003; 237(3): 343-50.
13. Singh R, Sen I, Wig J, Minz M, Sharma A, Bala I. An acetazolamide based multimodal analgesic approach versus conventional pain management in patients undergoing laparoscopic living donor nephrectomy. *Indian J Anaesth* 2009; 53(4): 434-41.
14. Moazeni-Bistgani M, Mohammad Ali-Beigi F, Shahrjerdi S. Assessment of oral acetazolamide on postoperative pain after laparoscopic cholecystectomy. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2010; 12(2): 21-6. [In Persian].
15. Poursadian I, Lois AW, Frelich MJ, Woehlck HJ, Weber M, Kastenmeier AS, et al. Acetazolamide reduces postoperative pain following laparoscopic inguinal herniorrhaphy. *Surg Endosc* 2016; 30(7): 2685-9.

Investigating the Effect of Two Doses of Acetazolamide, as a Precursor for Relief of Referral Pain, after Laparoscopic Cholecystectomy with Carbon Dioxide Gas, and Comparing it with Control Group

Parvin Sajedi¹, Payman Soleimani²

Original Article

Abstract

Background: Referral pain is one of the most common complications after laparoscopic cholecystectomy. The aim of this study was to evaluate and compare the effect of different doses of acetazolamide on postoperative pain in patients undergoing laparoscopic cholecystectomy with carbon dioxide gas.

Methods: In this double-blind clinical trial study, 90 patients who were candidates for laparoscopic cholecystectomy were enrolled and randomly divided into three groups. The first group was treated with acetazolamide (10 mg/kg up to 750 mg), the second group was treated with acetazolamide (5 mg/kg up to 375 mg), and the third group was treated with placebo (empty capsule) one hour before the operation. Then, the study variables were compared between three groups.

Findings: At the baseline, and 6, 12, and 18 hours after the operation, referral pain was significantly less to more in first, second, and third groups, respectively ($P < 0.050$). Moreover, the need to analgesia (pethidine) in the first group was significantly lower than second and third groups ($P < 0.001$). However, the postoperative complications in the first group was significantly higher than others ($P = 0.002$).

Conclusion: The usage of 10 mg/kg up to 750 mg of acetazolamide significantly reduced postoperative referral pain, and need to analgesia in patients undergoing laparoscopic cholecystectomy with carbon dioxide gas; but the complications of this dose were relatively higher, although were not severe.

Keywords: Acetazolamide, Cholecystectomy, Laparoscopy, Postoperative pain, Drug precursors

Citation: Sajedi P, Soleimani P. Investigating the Effect of Two Doses of Acetazolamide, as a Precursor for Relief of Referral Pain, after Laparoscopic Cholecystectomy with Carbon Dioxide Gas, and Comparing it with Control Group. J Isfahan Med Sch 2018; 36(482): 621-8.

1- Professor, Anesthesiology and Critical Care Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Student of Medicine, Student Research Committee, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Payman Soleimani, Email: payman.soleimani1992@gmail.com

Editorial Board (In alphabetical order)

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



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 36, No. 482, 2nd Week August 2018

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman: **Mansour Sholehvar MD**

Emerita Editor-in-Chief: **Roya Kelishadi MD**

Editor-in-Chief: **Majid Berekatain MD**

Associate Editor: **Maryam Radahmadi PhD**

Owner:

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

Office:

P.O. Box 81744-176, Isfahan, Iran
Tel/fax: +98 31 37922291
Email: jims@med.mui.ac.ir
Website: <http://jims.mui.ac.ir>

Executive Manager: Ali Moradi, Office Secretary: Golnaz Rajabi

Publisher:

Vesnu Publications

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

Tel/fax: +98 31 32224382
Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexers

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

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

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