

مقاله های پژوهشی

- ۵۹۹ بررسی ارتباط سطح سرمی آدیپونکتین با برخی از عوامل بیوشیمیایی و متابولیک در بیماران تحت همودیالیز
دکتر مریم حیدری، دکتر سعید مردانی، دکتر حمید نصری
- ۶۱۰ ارزیابی اندازه گیری آپوپتوز ناشی از تابش یونیزان در لنفوسیت های T به روش فلوسایتومتری به عنوان دزیمتری بیولوژیک
دکتر محمد باقر توکلی، دکتر مجید خیرالهی، علی کیانی، محمد کاظمی، لیلا موهبت، دکتر شقایق حق جوی جوانمرد، دکتر مهناز رعایایی
- مقایسه ی نشانگرهای سطحی CD۱۴ و CD۴۴ در سلول های بنیادی مشتق از چربی (ADSCs) و سلول های کندروسیت
تمایز یافته طی فرایند کندروژنز
۶۲۱
روناک زارعی، دکتر بتول هاشمی بنی، دکتر ابراهیم اسفندیاری، دکتر علی والیانی، فریبرز کیانپور، مریم علی اکبری
- ۶۳۱ شناسایی و طبقه بندی خودکار نواحی خونریزی مغزی با استفاده از ماشین بردار پشتیبان چند کلاسه در تصاویر سی تی اسکن
بهاره شاهنگیان، دکتر حسین پورقاسم

نامه به سردبیر

- ۶۴۷ آسیب های عروقی در تقریب لوپوسی: نیازی برای برای توجه بیشتر به واسکولوپاتی در این بیماران
دکتر آذر برادران، دکتر مریم ستاری

Original Articles

- The Association of Serum Adiponectin Level and Various Biochemical and Metabolic Factors in Patients under Hemodialysis 609
Maryam Heydari MD, Saeed Mardani MD, Hamid Nasri MD
- Evaluation of Measuring Radiation-Induced Apoptosis in Human T-Lymphocytes by Flow Cytometry as a Biological Dosimetry System 620
Mohammad Bagher Tavakkoli PhD, Majid Kheirollahi PhD, Ali Kiani MSc, Mohammad Kazemi MSc, Leili Mohebat MSc, Shagayegh Haghjooy-Javanmard MD, PhD, Mahnaz Roayaei MD
- Comparison of CD44 and CD14 Surface Markers in Adipose-Derived Stem Cells and Differentiated Chondrocytes during Chondrogenesis 630
Ronak Zarei, Batoul Hashemibeni PhD, Ebrahim Esfandiary MD, PhD, Ali Valiani PhD, Fariborz Kianpuor MSc, Maryam Aliakbri
- Automatic Segmentation and Classification of Brain Hemorrhage Regions Using Multi-class Support Vector Machine in Computed Tomography (CT-Scan) Images 646
Bahareh Shahangian, Hossein Pourghassem PhD
- Letter to Editor
- Vascular Lesions in Lupus Nephropathy 649
Azar Baradaran MD, Maryam Sattari MD



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۲۸۴)، هفته اول تیر ۱۳۹۳

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 رضا روزبهانی

ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

E-mail: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مسؤول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱۱-۶۶۹۴۷۳۷

E-mail: jims@med.mui.ac.ir

<http://www.journals.mui.ac.ir/jims>

وب سایت مجله:

امور نشر:

(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)

شرکت فرزانتگان راداندیش

اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵

تلفن و دورنگار: ۰۳۱۱-۶۶۸۶۳۰۲

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

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 مجتبی ابطحی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، متخصص علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر محمد اسماعیل اکبری	استاد، فوق تخصص جراحی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، متخصص داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، آمریکا
۵- دکتر افسون امامی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۶- شاهین امامی	گروه بیوشیمی و غدد داخلی، بیمارستان سن آنتونیو، فرانسه
۷- دکتر علیرضا امامی	دانشیار، متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص اطفال، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر کن باست	استاد، متخصص بیماری‌های پوستی، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۱۱- دکتر رضا باقریان سرارودی	استادیار، متخصص روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۲- دکتر مجید برکتین	دانشیار، متخصص روانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- فرزین پور فرزاد	گروه زیست شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند
۱۴- دکتر مسعود پورمقدس	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۵- دکتر احمد چیت‌ساز	دانشیار، متخصص داخلی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر مینا حسن رضایی	متخصص نورو ایمنولوژی، دانشکده‌ی داروسازی، آمریکا
۱۷- دکتر سید مرتضی حیدری	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۸- دکتر بهناز خانی	دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۹- دکتر مجید خزاعی	دانشیار، متخصص فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۳- دکتر منصور شعله‌ور	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۴- دکتر محمدرضا صفوی	استادیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۵- دکتر خسرو عادل‌لی	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۲۶- دکتر سعید عندلیب	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لوئیس ویل، آمریکا
۲۷- دکتر غلامرضا عسکری	متخصص بیماری‌های پوستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر زیبا فرج‌زادگان	دانشیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر حمید فشارکی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۰- دکتر مرجانه فولادی	دکترای پرستاری، دانشگاه فلوریدا، آمریکا
۳۱- دکتر علی قیصری	استاد، فوق تخصص جراحی قلب، کالیفرنیا، آمریکا
۳۲- دکتر منصور کارآموز	استاد، متخصص اورولوژی، کالیفرنیا، آمریکا
۳۳- دکتر رویا کلشادی	استاد، متخصص اطفال، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، فوق تخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۵- دکتر عزیز گهروی	استاد، متخصص بیماری‌های پوستی، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۳۶- دکتر پروین محزونی	دانشیار، فوق تخصص آسیب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۷- دکتر سید مهدی مدرس	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۸- دکتر محمد مردانی	دانشیار، متخصص علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۹- دکتر هوشنگ معین	استاد، متخصص جراحی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۰- دکتر آتیه مغيثی	استاد، متخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، آمریکا
۴۱- دکتر مجید ملکی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴۲- دکتر محمدرضا نوربخش	دانشیار، متخصص فیزیوتراپی، آمریکا
۴۳- دکتر فریدون نوحی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴۴- دکتر علی محمد هنجنی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

- ۱- **اهداف و چشم انداز:** مجله دانشکده پزشکی اصفهان به صورت هفته‌نامه و تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد.
- ۲- این مجله مقالات اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را منتشر می‌نماید و همچنین فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین را بر روی وب سایت مجله قرار می‌دهد.
- ۳- **پذیرش دست‌نوشته:** پذیرش دست نوشته‌ها و پیگیری‌های بعدی در این مجله فقط از طریق وب سایت اختصاصی آن به آدرس <http://www.journals.mui.ac.ir/jims> و پس از ثبت نام (Registration) در آن ممکن می‌باشد. همراه دست نوشته باید یک نامه تاپ‌شده (Covering letter) به سردبیر، شامل عنوان و اسامی نویسنده یا نویسندگان و اعلام این که این دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است و یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد، ارسال گردد.
- ۴- دست‌نوشته باید توسط نرم‌افزار MS Word در سایز A4 و فاصله خطوط دو برابر (Double Spaced) با حاشیه‌های ۲/۵ سانتی‌متری تهیه شوند. جداول بدون حاشیه خارجی و تصاویر در فرمت GIF و JPEG و در تعداد محدود باشند. ارسال مدارک با فرمت PDF به هیچ عنوان پذیرفته نیست.
- ۵- دست نوشته باید شامل صفحه عنوان، چکیده، مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع باشد. **صفحه عنوان:** این صفحه باید شامل عنوان کامل، عنوان مکرری، اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان و همچنین آدرس، تلفن، فاکس و پست الکترونیکی نویسنده مسؤول باشد. ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی در این صفحه ضروری است.
- ۶- **چکیده:** تمام مقالات اصلی باید دارای چکیده مقاله به دو زبان فارسی و انگلیسی با حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد. چکیده باید شامل بخش‌های سابقه علمی موضوع، روش‌ها، یافته‌ها و بحث باشد. در پایان چکیده مقاله ۳-۵ کلمه کلیدی قرار می‌گیرد که تنها با استفاده از راهنمای MESH در آدرس (<http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>) استخراج گردند.
- ۷- **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.
- ۸- **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؛ در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.
- ۹- **یافته‌ها:** این بخش به صورت متن همراه با جدول‌ها، شکل‌ها و نمودارها ارائه می‌گردد. محتوای جداول نباید به صورت کامل در متن ارائه شوند، بلکه کافی است با ذکر شماره جدول، شکل و یا نمودار به آنها اشاره شود. جدول‌ها، نمودارها و شکل‌ها هر کدام باید در یک صفحه جداگانه و پس از منابع، در پایان دست‌نوشته آورده شوند. در این بخش فقط یافته‌ها ارائه می‌شود و باید از ذکر دلایل و استدلال‌های مرتبط با آن خودداری گردد.
- ۱۰- **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.

۱۱- **تقدیر و تشکر:** تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند باید در این بخش 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.

۱۲- **جدول‌ها:** تعداد محدود جدول با توجه به حجم مطالعه و مقاله، همراه با ذکر عنوان آن در بالای جدول مورد قبول خواهد بود. ارسال جداول فقط تحت نرم‌افزار MSWord مورد قبول است. توضیحات اضافی در خصوص محتوای جداول باید به صورت پی‌نوشته و در پایین جدول باشد. جدول‌ها باید در صفحات جداگانه و در پایان دست نوشته (پس از منابع) قرار داده شوند.

۱۳- **شکل‌ها:** تعداد محدود شکل همراه ذکر عنوان آن در زیر شکل یا نمودار و با فرمت GIF و JPEG قابل قبول است. اطلاعات موجود در شکل‌ها یا نمودارها نباید به طور کاملاً مشابه در جدول‌ها و یا متن مقاله ذکر شده باشند.

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

(EN): Iner N. Treatment of calcific aortic stenosis. Am J Cardiol 1987; 59(6): 314-7.

(FA): Zini F, Basiri Jahromi Sh. Study of fungal infections in patients with leukemia. Iranian journal of public health 1994; 1(4):89-103.[Persian].

(چنانچه تعداد نویسندگان ۶ نفر یا کمتر باشد، ذکر اسامی آن‌ها ضروری است. اگر تعداد آن‌ها ۷ نفر یا بیشتر باشد، پس از ۶ نفر، عبارت "et al." استفاده شود.)

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

نام خانوادگی و حرف اول نام کوچک نویسنده (نویسندگان). عنوان کتاب. نوبت چاپ. محل نشر؛ نام ناشر؛ سال انتشار. p. شماره صفحات (نام نویسندگان با علامت کاما از هم جدا شود). مثال:

(EN): Romenes GJ. Cunningham's manual. 15th ed. New York: Oxford Univ Press; 1987.p.43-5.

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

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

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

۱۷- 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.

۱۸- پس از چاپ، یک نسخه از مجله برای نویسنده مسؤوّل ارسال خواهد شد.

- ۱۹- **ملاحظات اخلاقی:** این ملاحظات باید در بخش روش‌ها اشاره گردند. اخذ رضایت‌نامه از کلیه‌ی افراد بالغ شرکت‌کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأییدکننده‌ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.
- ۲۰- **تداخل منافع (Conflict of Interest):** نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق‌الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه‌ها، سازمان‌ها، نهادها، شرکت‌ها و سایر منابع که انتشار یافته‌های مطالعه می‌تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.
- ۲۱- **هزینه چاپ:** هیچ‌گونه هزینه‌ای برای چاپ مقالات در این مجله دریافت نمی‌شود.
- ۲۲- **حق نسخه‌برداری (Copyright):** تمامی محتویات مجله دانشکده پزشکی اصفهان تحت قانون حق نسخه‌برداری بین‌المللی قرار دارد. این مجله برای استفاده غیر تجاری در اختیار افراد قرار می‌گیرد. اصلاح، انتشار، انتقال و نمایش هر گونه محتویات مجله بدون ذکر نام این مجله ممنوع است.
- ۲۳- **فرآیند مرور دقیق (Peer Review):** تمام دست‌نوشته‌ها توسط حداقل ۳ نفر از داوران منتخب شورای نویسندگان مجله مورد بررسی دقیق قرار می‌گیرد. نویسنده‌ی مسؤؤل در کوتاه‌ترین زمان در جریان تصمیم‌سردبیر در مورد رد، قبول یا اصلاحات مورد نظر داوران و هیأت تحریریه قرار خواهد گرفت. در صورت پذیرش مقاله برای چاپ، نامه پذیرش به همراه ایمیل برای نویسنده‌ی مسؤؤل ارسال می‌شود و مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت.
- ۲۴- هیأت تحریریه در رد، اصلاح، ویرایش و خلاصه کردن مقاله آزاد است.
- ۲۵- مسؤولیت صحت یا سقم مطالب ارائه شده در مقاله بر عهده‌ی نویسنده یا نویسندگان است.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

- ۵۹۹..... بررسی ارتباط سطح سرمی آدیپونکتین با برخی از عوامل بیوشیمیایی و متابولیک در بیماران تحت همودیالیز.....
دکتر مریم حیدری، دکتر سعید مردانی، دکتر حمید نصری
- ۶۱۰..... ارزیابی اندازه‌گیری آپتوز ناشی از تابش یونیزان در لنفوسیت‌های T به روش فلوسایتومتری به عنوان دزیمتری بیولوژیک.....
دکتر محمد باقر توکلی، دکتر مجید خیرالهی، علی کیانی، محمد کاظمی، لیلا موهبت، دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد، دکتر مهناز رعایایی
- ۶۲۱..... مقایسه‌ی نشانگرهای سطحی CD۴۴ و CD۱۴ در سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (ADSCs) و سلول‌های کندروسیت تمایز یافته طی فرایند کندروژنز.....
روناک زارعی، دکتر بتول هاشمی بنی، دکتر ابراهیم اسفندیاری، دکتر علی والیانی، فریبرز کیانپور، مریم علی اکبری
- ۶۳۱..... شناسایی و طبقه‌بندی خودکار نواحی خونریزی مغزی با استفاده از ماشین بردار پشتیبان چند کلاسه در تصاویر سی تی اسکن.....
بهاره شاهنگیان، دکتر حسین پورقاسم

نامه به سردبیر

- ۶۴۷..... آسیب‌های عروقی در نفريت لوپوسی: نیازی برای توجه بیشتر به واسکولوپاتی در این بیماران.....
دکتر آذر برادران، دکتر مریم ستاری

بررسی ارتباط سطح سرمی آدیپونکتین با برخی از عوامل بیوشیمیایی و متابولیک در بیماران تحت همودیالیز

دکتر مریم حیدری^۱، دکتر سعید مردانی^۲، دکتر حمید نصری^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: آدیپونکتین سرم یک هورمون ترشح شده از بافت چربی است و میزان آن در بیماران با نارسایی کلیه بیشتر می‌شود. در شرایط اورمی نه تنها نقش محافظت کننده در برابر آترواسکلروز را ندارد، بلکه خود آن یک عامل خطر به شمار می‌رود و این هورمون در بیماران با نارسایی کلیه، یک پیش‌بینی کننده‌ی مستقیم از عوارض قلبی و عروقی می‌باشد.

روش‌ها: در این مطالعه ۷۳ نفر بیمار تحت همودیالیز بدون دیابت انتخاب شدند و نمونه‌ی خون ناشتا جهت اندازه‌گیری آدیپونکتین و برخی از عوامل بیوشیمیایی گرفته شد. دور کمر، دور شکم، وزن و شاخص توده‌ی بدنی اندازه‌گیری شد. جهت یافتن ارتباط میان آدیپونکتین و پارامترهای ذکر شده از روش آماری Pearson استفاده شد.

یافته‌ها: سطح آدیپونکتین به طور معکوس و معنی‌داری با وزن ($P < 0/001$)، شاخص توده‌ی بدنی ($P < 0/001$)، دور کمر ($P < 0/050$)، دور شکم ($P < 0/010$) و تری‌گلیسرید ($P < 0/010$) ارتباط دارد.

نتیجه‌گیری: سطح سرمی آدیپونکتین بیماران همودیالیزی با وزن و شاخص توده‌ی بدنی ارتباط معکوس و معنی‌داری داشت که بیانگر تأثیر احتمالی این هورمون است. در نتیجه، با یافتن ارتباط‌های درست و مشخص این سایتوکین با دیگر عوامل خطر آترواسکلروز و هایپرتانسیون، در آینده‌ای نزدیک می‌توان آدیپونکتین سرم را به عنوان یک نشانگر قابل اندازه‌گیری و مهم برای میزان آترواسکلروز و پیش‌آگهی و پیشرفت به سمت مرگ و میر در این بیماران معرفی نمود.

واژگان کلیدی: آدیپونکتین، نارسایی کلیه، همودیالیز

ارجاع: حیدری مریم، مردانی سعید، نصری حمید. بررسی ارتباط سطح سرمی آدیپونکتین با برخی از عوامل بیوشیمیایی و متابولیک در

بیماران تحت همودیالیز. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۴): ۵۹۹-۶۰۹

مقدمه

(۷-۴، ۱). این سایتوکین در حقیقت ۱ درصد از کل پروتئین‌های سرم را تشکیل می‌دهد (۸-۴، ۱). در شرایط بدون بیماری کلیوی، به علت اثرات بازخوراند منفی سطح سرمی آن روی بیان ژن تولید کننده‌ی بافت چربی، میزان ساخت و ترشح این سایتوکین نسبت

آدیپونکتین یک ماده‌ی ساخته شده از بافت چربی سفید از جنس پروتئین شبه کلاژنی با ۲۴۴ اسید آمینه (۳-۱)، دارای خصلت ژن-پروتئینی است و به میزان $20-2 \mu\text{g/ml}$ در پلاسمای افراد سالم وجود دارد

- ۱- دستیار، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
- ۲- استادیار، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
- ۳- استاد، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر حمید نصری

Email: hamidnasri@med.mui.ac.ir

هیپرکاتابولیک می‌شود که باعث لیز و مصرف انرژی‌های بدن اعم از چربی و پروتئین می‌شود که این روند، باعث کاهش وزن و لاغری و در نتیجه به جلو انداختن مرگ و میر بیماران می‌گردد (۳۶-۴۲). آدیپونکتین در این شرایط باعث ایجاد و تشدید روند هیپرکاتابولیک می‌شود (۳۱-۳۶). گزارش شده است که این افزایش با از دست دادن پروتئین انرژی، افزایش حجم مایع در این گروه از بیماران ارتباط دارد (۳۱-۳۶). مطالعه‌ای روی سندرم نفروتیک نشان می‌دهد که افزایش در سطح آدیپونکتین سرم با عوامل خطر سندرم متابولیک و پروتئینوری ارتباط مثبت قوی دارد (۴۳).

در مطالعه‌ای روی بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیه با دیابت تیپ یک، ارتباط بین آدیپونکتین سرم، میزان آلبومینوری و کراتینین بررسی گردید. نتایج آن ارتباط مثبت میان افزایش آدیپونکتین سرم با میزان آلبومینوری و افزایش کراتینین نشان داد (۴۴). با عنایت به اهمیت آدیپونکتین در شرایط التهابی و از طرفی نبود اطلاعاتی در خصوص ارتباط آن با پارامترهای مؤثر در شرایط التهابی بیماران تحت همودیالیز بدون دیابت، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط آدیپونکتین سرم با یک سری از پارامترهای دیگر در این بیماران انجام شد.

روش‌ها

نوع مطالعه و روش جمع‌آوری نمونه‌ها

برای انجام مطالعه، ۷۳ بیمار تحت همودیالیز بدون دیابت مراجعه کننده به بخش همودیالیز بیمارستان هاجر (س) شهرکرد در سال ۱۳۹۱ انتخاب شدند. از این تعداد، ۳۳ نفر زن و ۴۰ نفر مرد بودند. دامنه‌ی

معکوس با وزن بدن دارد (۸-۱۷). دفع آدیپونکتین از طریق فیلتراسیون گلوومرولی است (۱۸-۲۸). آدیپونکتین نقش محافظت کننده در برابر آترواسکلروز دارد؛ به گونه‌ای که مانع چسبیدن منوسیت‌ها به اندوتلیال می‌گردد (۱۸-۲۶). همچنین در شرایط طبیعی بدن، آدیپونکتین بر نحوه‌ی عملکرد انسولین و میزان ترشح آن و همچنین بر مصرف و ذخیره‌ی بهینه‌ی انرژی‌های بدن و تنظیم متابولیسم و کاتابولیسم انرژی در میتوکندری‌ها تأثیر به‌سزایی دارد (۱۸-۲۶).

به طور مشخص در بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیه و بیماران تحت همودیالیز و همچنین دیالیز صفاقی آدیپونکتین افزایش دارد (۲۶-۳۴). تحقیقات نشان می‌دهد که سطوح آدیپونکتین افراد همودیالیزی ۳-۲/۵ برابر افراد سالم است که میزان این افزایش‌ها با کاهش عملکرد کلیه و اختلال در تنظیم میزان و نوع آن و اختلال گیرنده‌ها به آدیپونکتین ارتباط داشته است (۱۹-۳۰). آدیپونکتین افزایش یافته در این شرایط، جزء عوامل خطر ساز جدید آترواسکلروز که یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در این بیماران است قرار می‌گیرد (۲۱-۳۳). میان آدیپونکتین سرم و سایر عوامل خطر آترواسکلروز اعم از عوامل سنتی و جدید ارتباط وجود دارد (۳۱-۳۴).

مطالعات بیان می‌کنند در بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیه، آدیپونکتین پیش‌بینی کننده‌ی مرگ و میر و پیشرفت درجه‌ی نارسایی کلیه است. این موضوع حاکی است که اثرات بیولوژیکی حفاظت کننده‌ی قلبی و عروقی آدیپونکتین در افراد اورمیک کاهش یافته است (۳۱-۳۶).

در شرایط التهابی مزمن مثل بیماری مزمن نارسایی قلبی، نارسایی کلیه، سرطان‌ها وارد فاز

انجام آزمون‌ها در دمای $^{\circ}\text{C}$ ۸۰- تا ۷۰- نگهداری شدند. سپس توسط کیت تهیه شده از شرکت Orgenium به روش الیزا بر حسب $\mu\text{g/mL}$ در آزمایشگاه سطح آدیپونکتین اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های حاصل از اطلاعات بیماران که چک لیست ثبت شده بود و داده‌های حاصل از آزمایشگاه پس از جمع‌آوری و در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) وارد و آنالیز انجام شد. برای پارامترهای توصیفی از آزمون χ^2 استفاده شد. ارتباط سطح آدیپونکتین بیماران با سایر پارامترها از طریق محاسبه ضریب همبستگی Pearson بررسی و نمودار آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم گردید. ضریب همبستگی زیر ۵ درصد به عنوان معنی‌دار تلقی گردید.

ملاحظات اخلاقی

طرح تحقیقاتی اولیه به تصویب کمیته‌ی پژوهشی بیمارستان هاجر (س) و دانشکده‌ی پزشکی رسید و کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد نیز آن را تأیید کرد. قبل از آغاز مطالعه، رضایت‌نامه‌ی کتبی از بیماران جهت شرکت در مطالعه اخذ شد و تمامی اطلاعات شخصی بیماران به صورت کد و محرمانه ثبت گردید.

یافته‌ها

جدول ۱ اطلاعات مربوط به بیماران مورد مطالعه را نشان می‌دهد. از ۷۳ بیمار تحت همودیالیز بدون دیابت مورد مطالعه، ۵۴/۸۰ درصد مرد و ۴۵/۲۰ درصد زن بودند. متوسط سن بیماران ۵۷/۰۷ سال بود که جوان‌ترین و پیرترین آن‌ها به ترتیب

سنی بیماران ۹۱-۱۳ سال بود. قبل از انجام همودیالیز، فشارخون سیستولیک و دیاستولیک تمامی بیماران طبق پروتکل استاندارد در دو نوبت به فاصله‌ی ۱۵ دقیقه و بر حسب میلی‌متر جیوه اندازه‌گیری شد. وزن بیماران با ترازوی کالیبره شده با حداقل لباس و بدون کفش بر حسب kg ثبت شد. قد بیماران بدون کفش با کمک یک متر پارچه‌ای که به دیوار چسبیده بود؛ به طوری که پاشنه‌ی پای بیماران به طور کامل به دیوار چسبیده باشد، به صورت عمودی اندازه‌گیری و به متر ثبت گردید. شاخص توده‌ی بدنی (BMI یا Body mass index) از تقسیم وزن (kg) بر مجذور قد (m^2) به دست می‌آمد. اندازه‌ی دور شکم بر حسب cm به کمک متر از روی ناف و ۳ cm بالای ایلیاک کرست اندازه‌گیری شد. دور کمر نیز بر حسب cm با یک متر پارچه‌ای اندازه‌گیری شد.

جهت تهیه‌ی نمونه‌ی خون آدیپونکتین و سایر نمونه‌ها، از سرنگ ۱۸ و از محل دیالیز نمونه گرفته شد؛ به این صورت که اگر دیالیز توسط پرماکت انجام می‌شد ابتدا، آسپیره‌ی چند cc خون جهت خروج هپارین محل دریافت می‌شد و سپس از لاین شریانی نمونه‌ی لازم گرفته می‌شد و اگر محل دیالیز فیستول یا گرافت بود، همان ناحیه‌ای که جهت شروع دیالیز زده می‌شد، از راه شریانی نمونه‌ی مورد نظر گرفته می‌شد. نمونه‌ها جهت آزمایش گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید سرم (به روش آنزیماتیک بر حسب mg/dl در آزمایشگاه بیمارستان هاجر شهرکرد، کلسترول کل (به روش ایمونوتوربیدومتری بر حسب mg/dl) ارسال گردید. جهت تعیین آدیپونکتین، سرم‌ها بلافاصله پس از خونگیری جدا و تا زمان

۱۳ و ۹۱ سال داشتند.

در جدول ۱ داده‌های اکوکاردیوگرافی بیماران شامل فشار شریان ریوی (بر اساس mmHg)، برون‌ده قلبی (بر حسب درصد) و اختلالات حرکت جدار قلب شامل هایپوکینزی و آکینزی ارایه شده است. میانگین برون‌ده قلبی آن‌ها ۵۲/۵۵ درصد بود. حدود ۲۱/۹۲ درصد از بیماران دارای اختلالات حرکت جدار قلب شامل هایپوکینزی و آکینزی بودند. میانگین فشار شریان ریوی بیماران mmHg ۳۱/۵۵ بود که با سطح آدیپونکتین سرم ارتباط مثبت و غیر معنی‌داری داشت (جدول ۲). نتایج به دست آمده حاکی است که میانگین سطح

آدیپونکتین سرم بیماران $\mu\text{g/ml}$ ۱۰/۵۶ بود. همچنین کمترین و بیشترین میزان آدیپونکتین سرم بیماران به ترتیب $\mu\text{g/ml}$ ۳۲/۰۰ و ۱۷/۴۱ بود (جدول ۱). متوسط وزن بیماران ۵۸/۳۸ kg، شاخص توده‌ی بدنی kg/m^2 ۲۱/۹۲، متوسط دور کمر و شکم بر حسب cm نیز ۸۷/۷۳ و ۹۲/۱۹ بود (جدول ۱).

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، ارتباط آدیپونکتین با سن بیماران منفی و غیر معنی‌دار بود. ارتباط منفی و معنی‌داری بین آدیپونکتین با وزن بدن و شاخص توده‌ی بدنی ($P < 0.05$) و R به ترتیب -0.48 و -0.55 مشاهده گردید (شکل‌های ۱ و ۲).

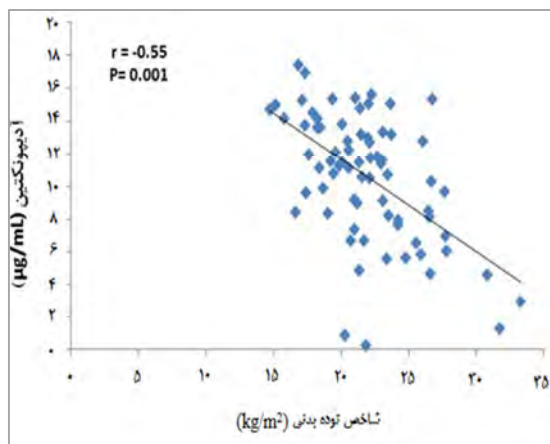
جدول ۱. داده‌های بیماران

ویژگی	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
سن (سال)	۵۷/۰۷	۱۹/۹۶	۱۳/۰۰	۹۱/۰۰
جنس مرد (درصد)	۵۴/۸۰	۵۰/۱۱	۰	۱۰۰
عادت سیگار (درصد)	۱۰/۹۶	۳۱/۴۵	۰	۱۰۰
برون‌ده قلبی (درصد)	۵۲/۵۵	۹/۰۴	۲۰/۰۰	۶۷/۰۰
هایپوکینزی و آکینزی (درصد)	۲۱/۹۲	۴۱/۶۶	۰/۰۰	۳/۰۰
آدیپونکتین ($\mu\text{g/ml}$)	۱۰/۵۶	۳/۸۸	۰/۳۲	۱۷/۴۱
وزن (kg)	۵۸/۳۸	۱۴/۳۳	۳۱/۰۰	۱۰۳/۰۰
شاخص توده‌ی بدنی (kg/m^2)	۲۱/۹۲	۳/۷۹	۱۴/۷۴	۳۳/۳۳
دور کمر (cm)	۸۷/۷۳	۱۰/۷۷	۶۵/۰۰	۱۴۰/۰۰
دور شکم (cm)	۹۲/۱۹	۱۰/۴۳	۵۹/۰۰	۱۱۵/۰۰
فشار سیستولیک (mmHg)	۱۲۴/۳۸	۲۱/۹۸	۹۰/۰۰	۱۹۰/۰۰
فشار دیاستولیک (mmHg)	۷۰/۲۷	۹/۸۶	۶۰/۰۰	۹۰/۰۰
فشار شریان ریوی (mmHg)	۳۱/۵۵	۲۰/۲۵	۰/۰۰	۱۰۰
سدیم (mg/dl)	۱۴۰/۹۳	۲/۷۵	۱۳۴/۰۰	۱۴۶/۰۰
پتاسیم (mg/dl)	۴/۹۸	۰/۶۹	۳/۰۰	۷/۵۰
نیتروژن اوره‌ی خون (mg/dl)	۶۴/۹۴	۱۸/۵۲	۲۶/۰۰	۱۱۲/۰۰
کراتینین (mg/dl)	۸/۶۲	۲/۸۸	۲/۸۰	۱۰/۰۰
کلسیم (mg/dl)	۹/۰۰	۰/۵۴	۷/۵۰	۱۱/۰۰
فسفر (mg/dl)	۵/۱۱	۱/۱۳	۲/۸۰	۱۰/۰۰
قند ناشتا (mg/dl)	۸۲/۲۹	۱۰/۰۹	۶۵/۰۰	۱۱۰/۰۰
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۱۵۰/۹۱	۹۵/۹۲	۴۵/۰۰	۵۸۱/۰۰
کلسترول (mg/dl)	۱۷۱/۹۳	۴۱/۲۴	۷۱/۰۰	۲۸۳/۰۰

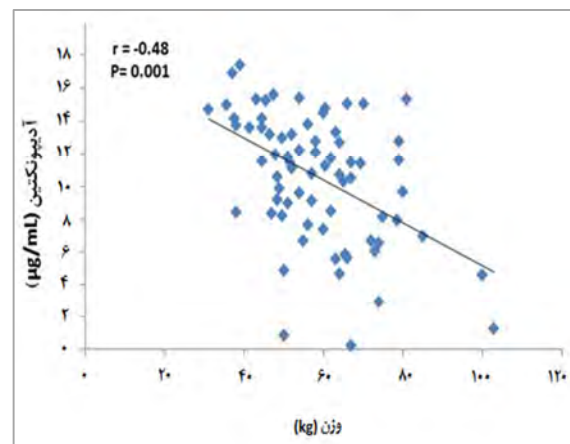
جدول ۲. ارتباط بین آدیپونکتین با سایر ویژگی‌های بیماران تحت همودیالیز (n = ۷۳)

ویژگی	ضریب همبستگی r	مقدار P
سن (سال)	-۰/۱۸۰	۰/۱۳۰
وزن (kg)	-۰/۴۸۰	۰/۰۰۱***
شاخص توده‌ی بدنی (kg/m ²)	-۰/۵۵۰	۰/۰۰۱***
دور کمر (cm)	-۰/۲۵۰	۰/۰۳۷°
دور شکم (cm)	-۰/۴۰۰	۰/۰۰۴**
فشار سیستولیک (mmHg)	۰/۰۴۰	۰/۷۱۰
فشار دیاستولیک (mmHg)	۰/۰۰۷	۰/۹۶۰
فشار شریان ریوی (mmHg)	۰/۲۳۰	۰/۰۵۲
سدیم (mg/dl)	۰/۱۶۰	۰/۱۷۰
پتاسیم (mg/dl)	۰/۰۰۱	۰/۹۹۰
نیتروژن اوره‌ی خون (mg/dl)	۰/۱۴۰	۰/۲۴۰
کراتینین (mg/dl)	۰/۰۸۰	۰/۴۹۰
کلسیم (mg/dl)	-۰/۰۱۰	۰/۹۲۰
فسفر (mg/dl)	۰/۱۶۰	۰/۱۷۰
قند ناشتا (mg/dl)	۰/۱۴۰	۰/۲۳۰
تری گلیسرید (mg/dl)	-۰/۳۲۰	۰/۰۰۵**
کلسترول (mg/dl)	-۰/۱۹۰	۰/۱۱۰

°، ** و *** به ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح احتمال ۵، ۱ و ۰/۱ درصد



شکل ۲. ارتباط بین سطح آدیپونکتین سرم با شاخص توده‌ی بدنی بیماران تحت همودیالیز بدون دیابت

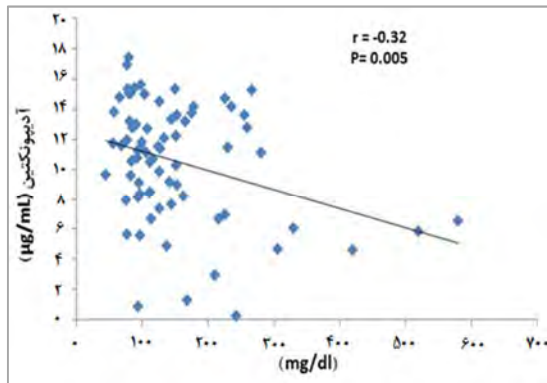


شکل ۱. ارتباط بین سطح آدیپونکتین سرم با وزن بیماران تحت همودیالیز بدون دیابت

متوسط فشار خون سیستول و دیاستول بر اساس mmHg ۱۲۴/۳۸ و ۷۰/۲۸ بود (جدول ۱) و در سطح آماري ۵ درصد ارتباط معنی‌داری میان فشار خون و

ضریب همبستگی بین آدیپونکتین با دور کمر و شکم به ترتیب -۰/۲۵ و -۰/۴۰ بود که در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (شکل‌های ۳ و ۴).

میانگین کلسترول و تری‌گلیسرید بیماران به ترتیب $171/93$ و $150/91$ mg/dl بود (جدول ۱) و همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است، فقط ارتباط تری‌گلیسرید با آدیپونکتین منفی و معنی‌دار بود ($R = -0/32$ و $P < 0/050$).



شکل ۵. ارتباط بین سطح آدیپونکتین سرم با تری‌گلیسرید بیماران تحت همودیالیز بدون دیابت

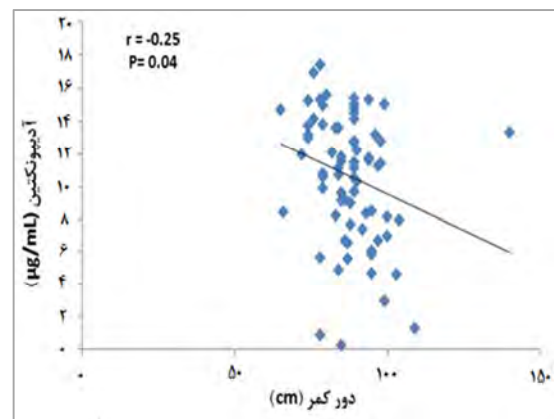
بحث

بر اساس نتایج به دست آمده، سطح سرمی آدیپونکتین بیماران مبتلا به همودیالیز با وزن و شاخص توده‌ی بدنی ارتباط معکوس و معنی‌داری دارند ($P < 0/001$ و r به ترتیب $-0/48$ و $-0/55$). همچنین دور کمر و دور شکم نیز یک ارتباط معکوس و معنی‌داری دارند (P به ترتیب $0/040$ و $0/004$ و r به ترتیب $-0/250$ و $-0/400$). آدیپونکتین یک سیتوکین پروتئینی-کلاژنی است که فقط از بافت چربی ترشح می‌شود (۲۶-۲۷). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که بافت چربی فقط یک بافت ذخیره‌ی انرژی نیست، بلکه مانند یک بافت اندوکراین است که هورمون تولید می‌کند و به وسیله‌ی آن‌ها با سایر بافت‌های بدن ارتباط دارد (۳۹).

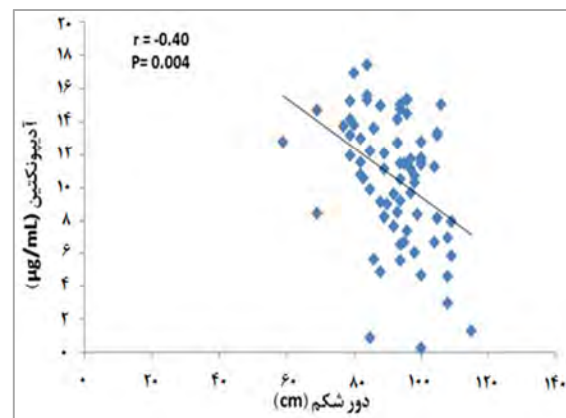
تولید آدیپونکتین توسط یک مجموعه‌ی ژنی بافت

آدیپونکتین وجود نداشت (جدول ۲). همان‌طور که در جدول ۱ اشاره شده است، حد متوسط الکترولیت‌ها شامل سدیم، پتاسیم، نیتروژن اوره‌ی خون، کراتینین، کلسیم و فسفر بر حسب mg/dl در حد قابل قبول بود؛ اما با این حال ارتباط معنی‌داری میان این پارامترها و آدیپونکتین سرم وجود نداشت (جدول ۲).

متوسط قند ناشتای بیماران $82/29$ mg/dl بود (جدول ۱) و ارتباط معنی‌داری با سطح آدیپونکتین سرم بیماران نداشت (جدول ۲).



شکل ۳. ارتباط بین سطح آدیپونکتین سرم با دور کمر بیماران تحت همودیالیز بدون دیابت



شکل ۴. ارتباط بین سطح آدیپونکتین سرم با دور شکم بیماران تحت همودیالیز بدون دیابت

محل تجمع سلول های التهابی و تولید سیتوکین های التهابی است، اطراف احشا تجمع می یابد که حجم و وزن زیادی ندارد، شکل می گیرد (۴۵-۵۲). بنابراین شرایط التهابی مزمن مانند اورمی و CHF (Congestive heart failure) باعث کاهش وزن، شاخص توده ی بدنی و کاهش دور کمر و دور شکم می شود. در مقابل، تولید آدیپونکتین به عنوان سیتوکین التهابی بیشتر می شود و باعث به دست آوردن یک رابطه ی معکوس میان سطح آدیپونکتین سرم با وزن، شاخص توده ی بدنی، دور کمر و دور شکم می شود. مطالعه ای نیز بیان می کند که ارتباط مثبت معنی داری میان آدیپونکتین پلاسما و کاهش وزن شدید سیستمیک وجود دارد که خود، پیش بینی کننده ی به جلوتر انداختن مرگ است. مطالعه ای نیز بیان می کند که در بیماران دارای نارسایی قلب، میزان آدیپونکتین سرم با کاهش وزن شدید رابطه دارد (۳۵، ۴۵-۵۵).

در این مطالعه بین آدیپونکتین و تری گلیسرید نیز رابطه منفی و معنی داری وجود داشت (شکل ۵). آدیپونکتین روی متابولیسم چربی ها مؤثر است؛ به صورتی که هم باعث برداشت و مصرف بهتر اسیدهای چرب به عنوان منبع انرژی در عضلات می شود و هم تأثیر محرک مثبت بر روی فعالیت میتوکندری ها دارد (۳۵، ۴۵-۵۵). مطالعه ای بیان می کند که اگر رژیم غذایی پر کالری را همراه با آدیپونکتین به موش ها دهیم، موش ها اضافه وزن پیدا نمی کنند و کالری های دریافتی توسط موش ها مصرف می شود (۳۵، ۴۸-۵۷).

مطالعه ای نیز نشان می دهد که در بیماران ESRD سطح آدیپونکتین سرم با تری گلیسرید رابطه ای منفی

چربی انجام می گیرد. تأثیر آدیپونکتین روی ارگان های دیگر از طریق گیرنده ی آدیپونکتین تیپ ۱ و ۲ است (۳۸-۳۹).

تولید آدیپونکتین توسط یک رابطه ی فیدبک منفی سطح سرمی آدیپونکتین بر روی بافت چربی تنظیم می گردد (۴۳-۴۹). آدیپونکتین در پلاسما به سه شکل وجود دارد: با وزن مولکولی کم، متوسط و زیاد (۴۳-۴۹)؛ اما آدیپونکتین با وزن مولکولی بالا از نظر عملکردی مؤثر است. دفع آدیپونکتین از طریق فیلتراسیون گلومرول کلیه است (۴۳-۴۹).

در افراد سالم آدیپونکتین نقش محافظت کننده در برابر آترواسکلروز دارد، اما بعد از ایجاد پلاک آترواسکلروز نه تنها نقش محافظت کننده ندارد؛ بلکه خودش (به خصوص در شرایط التهابی پایه مثل اورمی) در کنار سایر سیتوکین های التهابی به عنوان یک ایجاد کننده و تسریع کننده ی پیشرفت پلاک آترواسکلروتیک عمل می کند (۴۳-۴۹). مطالعات بیان می کنند که در افراد مبتلا به همودیالیز سطوح آدیپونکتین خون ۴-۵ برابر نسبت به افراد سالم است (۳۵، ۴۵-۵۲). این افزایش به علت بیان بیشتر mRNA (Messenger RNA) آدیپونکتین در بافت چربی زرد افراد مبتلا به ESRD (End stage renal disease) بیشتر از افراد سالم است (۳۵، ۴۵-۵۲). این افزایش باعث افزایش خطر مرگ و میر به علت مشکلات قلبی و عروقی می شود (۳۵، ۴۵-۵۲).

در شرایط التهابی پایه مثل اورمی، شرایط هایپرکاتابولیک وجود دارد که باعث مصرف انرژی بدن و مصرف چربی سفید زیرجلدی (منبع ذخیره ی انرژی بدن) می شود. در مقابل، بافت چربی زرد که

باشد. در نتیجه، با یافتن ارتباط‌های درست و مشخص این سیتوکین با دیگر عوامل خطر آترواسکلروز و هایپرکاتابولیک، در آینده‌ای نزدیک می‌توان آدیپونکتین سرم را به عنوان یک نشانگر قابل اندازه‌گیری و مهم برای میزان آترواسکلروز و پیش‌آگهی و پیشرفت به سمت مرگ و میر در این بیماران معرفی نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی دستیاری می‌باشد و نویسندگان از مساعدت مالی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جهت انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌نمایند.

داشته است (۴۸-۵۴، ۳۵). مطالعه‌ای دیگر نیز بیان می‌کند که در بیماران ESRD هر چه آدیپونکتین سرم بیشتر باشد، مصرف چربی‌ها هم بیشتر است و باعث یک رابطه‌ی معکوس میان آن دو می‌شود (۴۸-۵۶). آدیپونکتین یک هورمون مترشحه از بافت چربی است که در شرایط اورمی نه تنها نقش محافظت کننده در برابر آترواسکلروز را ندارد؛ بلکه خود آن یک عامل خطر به شمار می‌رود. بنابراین، می‌تواند روی سایر عوامل خطر آترواسکلروز تأثیرگذار باشد و همچنین می‌تواند باعث ایجاد و تشدید شرایط هایپرکاتابولیک و در نتیجه، مصرف بی‌رویه و بی‌هدف انرژی- پروتئین بدن شود که پیش‌بینی کننده‌ی عوارض و مرگ و میر بیشتر در این افراد

References

1. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 221(2): 286-9.
2. Maesaka JK, Sodam B, Palaia T, Ragolia L, Batuman V, Miyawaki N, et al. Prostaglandin D2 synthase: Apoptotic factor in alzheimer plasma, inducer of reactive oxygen species, inflammatory cytokines and dialysis dementia. *J Nephropathol* 2013; 2(3): 166-80.
3. Spasovski D. Renal markers for assessment of renal tubular and glomerular dysfunction. *J Nephropharmacol* 2013; 2(2): 23-5.
4. Nasri H. The awareness of chronic kidney disease and aging; the focus of world kidney day in 2014. *J Nephropharmacol* 2014; 3(1): 1-2.
5. Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Vitamin D therapy in diabetic kidney disease. *J Nephropharmacol* 2014; 3(1): 3-4.
6. Ardalan MR, Sanadgol H, Nasri H, Baradaran A, Tamadon MR, Rafieian-Kopaei R. Impact of vitamin D on the immune system in kidney disease. *J Parathyroid Dis* 2013; 1(2): 17-20.
7. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Association of serum vitamin D level with age in individuals with normal renal function. *J Nephropharmacol* 2012; 1(1): 7-9.
8. Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes Care* 2003; 26(8): 2442-50.
9. Nasri H. Impact of diabetes mellitus on parathyroid hormone in hemodialysis patients. *J Parathyroid Dis* 2013; 1(1): 9-11.
10. Hajivandi A, Amiri M. World diabetes day: diabetes mellitus and nephrology. *J Nephropharmacol* 2013; 2(2): 31-2.
11. Solati M, Mahboobi HR. Paraoxonase enzyme activity and dyslipidemia in chronic kidney disease patients. *J Nephropathol*. 2012; 1(3): 123-5.
12. Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Correlation of serum leptin with levels of hemoglobin in hemodialysis. *J Nephropharmacol* 2012; 1(2): 23-6.
13. Tamadon MR, Ardalan MR, Nasri H. World Kidney Day 2013; acute renal injury; a global health warning. *J Parathyroid Dis* 2013; 1(2): 27-8.
14. Shahbazian N, Shahbazian H, Mohammadjafari R, Mousavi M. Ambulatory monitoring of blood pressure and pregnancy outcome in pregnant women with white coat hypertension in the third trimester of pregnancy: A prospective cohort study. *J Nephropharmacol* 2013; 2(1): 5-9.
15. Madsen EL, Rissanen A, Bruun JM, Skogstrand

- K, Tonstad S, Hougaard DM, et al. Weight loss larger than 10% is needed for general improvement of levels of circulating adiponectin and markers of inflammation in obese subjects: a 3-year weight loss study. *Eur J Endocrinol* 2008; 158(2): 179-87.
16. Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Serum lipoprotein (a) and atherosclerotic changes in hemodialysis patients. *J Renal Inj Prev* 2013; 2(2): 47-50.
 17. Hajivandi A, Amiri M. World Kidney Day 2014: Kidney disease and elderly. *J Parathyroid Dis* 2014; 2(1): 3-4.
 18. Haghghi M, Nematbakhsh M, Talebi A, Nasri H, Ashrafi F, Roshanaei K, et al. The role of angiotensin II receptor 1 (AT1) blockade in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: gender-related differences. *Ren Fail* 2012; 34(8): 1046-51.
 19. Engeli S, Feldpausch M, Gorzelniak K, Hartwig F, Heintze U, Janke J, et al. Association between adiponectin and mediators of inflammation in obese women. *Diabetes* 2003; 52(4): 942-7.
 20. Nematbakhsh M, Ashrafi F, Safari T, Talebi A, Nasri H, Mortazavi M, et al. Administration of vitamin E and losartan as prophylaxes in cisplatin-induced nephrotoxicity model in rats. *Nephrol* 2012; 25(3): 410-7.
 21. Nasri H. Correlation of serum magnesium with serum levels of 25-hydroxyvitamin D in hemodialysis patients. *J Parathyroid Dis* 2014; 2(1): 11-3.
 22. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Significant difference of serum 25-hydroxyvitamin D level in male hemodialysis patients with or without diabetes; a single center study. *J Nephropharmacol* 2012; 1(2): 15-6.
 23. Ardalan MR, Sanadgol H, Nasri H, Baradaran A, Tamadon MR, Rafieian-Kopaei R. Vitamin D therapy in diabetic kidney disease; current knowledge on a public health problem. *J Parathyroid Dis* 2014; 2(1): 15-7.
 24. Baradaran A. Beyond mineral metabolism, the bright immunomodulatory effect of vitamin D in renal disease. *J Nephropharmacol* 2012; 1(2): 17-8.
 25. Baradaran A, Behradmanesh S, Nasri H. Association of body mass index and serum vitamin D level in healthy Iranian adolescents. *Endokrynol Pol* 2012; 63(1): 29-33.
 26. Schupp M, Clemenz M, Gineste R, Witt H, Janke J, Helleboid S, et al. Molecular characterization of new selective peroxisome proliferator-activated receptor gamma modulators with angiotensin receptor blocking activity. *Diabetes* 2005; 54(12): 3442-52.
 27. Huang JW, Yen CJ, Chiang HW, Hung KY, Tsai TJ, Wu KD. Adiponectin in peritoneal dialysis patients: a comparison with hemodialysis patients and subjects with normal renal function. *Am J Kidney Dis* 2004; 43(6): 1047-55.
 28. Baradaran A, Nasri H. Correlation of serum magnesium with serum parathormone levels in patients on regular hemodialysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2006; 17(3): 344-50.
 29. Ardalan MR. Parathyroid carcinoma in hemodialysis patients; it should not be diagnosed as a thyroid nodule. *J Parathyroid Dis* 2013; 1(2): 25-6.
 30. Rastegari E, Nasri H. Association of serum leptin with serum C-reactive protein in hemodialysis patients. *J Nephropharmacol* 2012; 1(2): 19-21.
 31. Nasri H. Influence of parathyroid hormone on platelet counts and mean platelet volume in hemodialysis. *J Parathyroid Dis* 2014; 2(1): 7-9.
 32. Ardalan MR, Nasri H. Acute kidney injury; the focus of world kidney day in 2013. *J Nephropharmacol* 2013; 2(2): 15-6.
 33. Nasri H, Shirani S, Baradaran A. Lipids in association with leptin in maintenance hemodialysis patients. *J Med Sci* 2006; 6(2): 173-9.
 34. Kollerits B, Fliser D, Heid IM, Ritz E, Kronenberg F. Gender-specific association of adiponectin as a predictor of progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease Study. *Kidney Int* 2007; 71(12): 1279-86.
 35. Levey AS. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: where do we start? *Am J Kidney Dis* 1998; 32(5 Suppl 3): S5-13.
 36. Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Impact of inflammation on anemia of hemodialysis patients who were under treatment of recombinant human erythropoietin. *J Renal Inj Prev* 2013; 2(3): 93-5.
 37. Nasri H. Serum C-reactive protein (CRP) in association with various nutritional parameters in maintenance hemodialysis patients. *Bratisl Lek Listy* 2005; 106(12): 390-5.
 38. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(6): 1595-9.
 39. Jia T, Carrero JJ, Lindholm B, Stenvinkel P. The complex role of adiponectin in chronic kidney disease. *Biochimie* 2012; 94(10): 2150-6.
 40. Sanadgol H, Abdani S, Tabatabaiee P, Mohammadi M. Protective effect of high dose short term statin therapy with normal saline in

- prevention of contrast-induced nephropathy among iodixanol-receiving patients. *J Renal Inj Prev* 2012; 1(1): 43-5.
41. Nasri H. Elevated serum parathyroid hormone is a heart risk factor in hemodialysis patients. *J Parathyroid Dis* 2013; 1(1):13-4.
 42. Tamadon MR. Secondary hyperparathyroidism and chronic kidney disease. *J Parathyroid Dis* 2013; 1(1):15-6.
 43. Jorsal A, Tarnow L, Frystyk J, Lajer M, Flyvbjerg A, Parving HH, et al. Serum adiponectin predicts all-cause mortality and end stage renal disease in patients with type I diabetes and diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2008; 74(5): 649-54.
 44. Nasri H, Baradaran A. The influence of serum 25-hydroxy vitamin D levels on Helicobacter Pylori Infections in patients with end-stage renal failure on regular hemodialysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2007; 18(2): 215-9.
 45. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257(1): 79-83.
 46. Looker HC, Krakoff J, Funahashi T, Matsuzawa Y, Tanaka S, Nelson RG, et al. Adiponectin concentrations are influenced by renal function and diabetes duration in Pima Indians with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(8): 4010-7.
 47. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. Inflammatory proteins as predictors of cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19(Suppl 5): V67-V72.
 48. Nasri H. Helicobacter pylori infection and its relationship to plasma magnesium in hemodialysis patients. *Bratisl Lek Listy* 2007; 108(12): 506-9.
 49. Gable DR, Hurel SJ, Humphries SE. Adiponectin and its gene variants as risk factors for insulin resistance, the metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2006; 188(2): 231-44.
 50. Nasri H. Pulmonary artery pressure in association with serum parathormone in maintenance hemodialysis patients. *Arch Med Sci* 2006; 2(1): 32-5.
 51. Yamauchi T, Nio Y, Maki T, Kobayashi M, Takazawa T, Iwabuchi M, et al. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat Med* 2007; 13(3): 332-9.
 52. Nasri H. Serum leptin concentration and left ventricular hypertrophy and function in maintenance hemodialysis patients. *Minerva Urol Nefrol* 2006; 58(2): 189-93.
 53. Koshimura J, Fujita H, Narita T, Shimotomai T, Hosoba M, Yoshioka N, et al. Urinary adiponectin excretion is increased in patients with overt diabetic nephropathy. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 316(1): 165-9.
 54. Nasri H. Linkage of elevated CaxPO4 product with inflammation in maintenance hemodialysis patients. *Minerva Urol Nefrol* 2006; 58(4): 339-45.
 55. Nasri H. Impact of vitamin C on parathormone secretion in patients on hemodialysis with secondary hyperparathyroidism. *J Parathyroid Dis* 2013; 1(2):29-31.
 56. Marchlewska A, Stenvinkel P, Lindholm B, Danielsson A, Pecoits-Filho R, Lonnqvist F, et al. Reduced gene expression of adiponectin in fat tissue from patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* 2004; 66(1): 46-50.
 57. Nasri H, Kheiri S. Effects of diabetes mellitus, age, and duration of dialysis on parathormone in chronic hemodialysis patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2008; 19(4): 608-13.

The Association of Serum Adiponectin Level and Various Biochemical and Metabolic Factors in Patients under Hemodialysis

Maryam Heydari MD¹, Saeed Mardani MD², Hamid Nasri MD³

Original Article

Abstract

Background: Serum adiponectin (ADPN), an adipocyte-produced hormone, has a higher level in patients with uremia with or without diabetes. Plasma ADPN levels are direct predictor of cardiovascular outcomes among patients with end stage renal disease (ESRD). Also, Studies showed that level of adiponectin reflects death.

Methods: Seventy-three under-hemodialysis patients without diabetes were selected. Fasting blood sample of all patients was caught to determine ADPN level and other parameters. Weight, body mass index, waist and abdomen were measured, too. To assess the relationship of ADPN level with other parameters, Pearson test was used.

Findings: There was significant negative association of ADPN level with weight ($P < 0.001$), body mass index ($P < 0.001$), waist ($P < 0.050$) and abdomen ($P < 0.010$) circumferences and serum triglyceride level ($P < 0.010$).

Conclusion: Our results demonstrated that serum ADPN level in without-diabetes patients under hemodialysis show malnutrition, wasting and lower muscle and fat tissue. The findings need further evaluation to precisely find the impact of ADPN on mortality and morbidity of under-hemodialysis patients.

Keywords: Adiponectin, End-stage renal disease, Renal function, Hemodialysis

Citation: Heydari M, Mardani S, Nasri H. **The Association of Serum Adiponectin Level and Various Biochemical and Metabolic Factors in Patients under Hemodialysis.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(284): 559-609

1- Resident, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2- Assistant Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
3- Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
Corresponding Author: Hamid Nasri MD, Email: hamidnasri@med.mui.ac.ir

ارزیابی اندازه‌گیری آپوپتوز ناشی از تابش یونیزان در لنفوسیت‌های T به روش فلوسایتومتری به عنوان دزیمتری بیولوژیک

دکتر محمد باقر توکلی^۱، دکتر مجید خیرالهی^۲، علی کیانی^۳، محمد کاظمی^۴، لیلا موهبت^۵،
دکتر شقایق حق جوی جوانمرد^۶، دکتر مهناز رعایایی^۷

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در حوادث پرتوی مثل انفجار هسته‌ای یا نشت مواد رادیو اکتیو از نیروگاه‌های هسته‌ای و یا حوادث در بخش‌های پزشکی هسته‌ای بیمارستان‌ها، عده‌ی زیادی از افراد به طور تصادفی مقدار نامشخصی از پرتوهای یونیزان را دریافت می‌کنند. اولین قدم برای درمان این افراد توسط پزشک تعیین میزان دز اشعه‌ی دریافتی توسط مصدومان است. در چنین مواقعی و همچنین هنگام رادیوتراپی، برای تعیین میزان دقیق اثربخشی درمان پرتوی یونیزان از دزیمتری بیولوژیک استفاده می‌شود. در دزیمتری بیولوژیک، از شاخص‌های بیولوژیک قابل اندازه‌گیری که در اثر تابش تغییر می‌کنند، برای برآورد و اندازه‌گیری دز تابشی اشعه توسط فرد استفاده می‌شود.

روش‌ها: در این تحقیق آزمون‌ی برای دزیمتری بیولوژیک بر اساس القای آپوپتوز توسط تابش پرتوی گاما در لنفوسیت‌های T خون محیطی ۱۶ داوطلب انجام شد. به این منظور، خون ۱۶ داوطلب به عنوان نمونه گرفته شد. سپس لنفوسیت‌های خون جدا و در محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ (Roswell Park Memorial Institute ۱۶۴۰) کشت داده شد و در اتمسفر ۵ درصد CO₂ در دمای ۳۷ °C قرار داده شد. سپس از محیط کشت، نمونه‌هایی تهیه شد و با دزهای مختلف تابش داده شد. نمونه‌ها دوباره به انکوباتور منتقل شدند تا آپوپتوز در آن‌ها اندازه‌گیری شود. آپوپتوز ایجاد شده در اثر تابش در جامعه‌ی سلولی به روش فلوسایتومتری و با استفاده از رنگ‌آمیزی FITC (Fluorescein isothiocyanate) Annexin V + PI (Prodium iodide) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: آپوپتوز ایجاد شده با تابش با دقت کافی قابل اندازه‌گیری است و به دز تابش بستگی دارد. اما میزان آپوپتوز به زمان بعد از دریافت تابش و روش فلوسایتومتری بستگی دارد.

نتیجه‌گیری: امکان استفاده از اندازه‌گیری آپوپتوز پرتوی به عنوان دزیمتر بیولوژیک در زمان‌های کوتاه بعد از پرتوگیری در حوادث پرتوی وجود دارد.

واژگان کلیدی: آپوپتوز، فلوسایتومتری، سلول‌های T، لنفوسیت‌ها، دزیمتری بیولوژیک، تابش

ارجاع: توکلی محمد باقر، خیرالهی مجید، کیانی علی، کاظمی محمد، موهبت لیلا، حق جوی جوانمرد شقایق، رعایایی مهناز. **ارزیابی اندازه‌گیری آپوپتوز ناشی از تابش یونیزان در لنفوسیت‌های T به روش فلوسایتومتری به عنوان دزیمتری بیولوژیک.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۴): ۶۲۰-۶۱۰

۱- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشجوی دکتری، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و مری، گروه فیزیک، دانشکده علوم، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، اصفهان، ایران

۴- دانشجوی دکتری، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- کارشناس ارشد، آزمایشگاه مرکزی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۶- دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۷- استادیار، گروه انکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

مقدمه

در حوادث پرتوی، مانند حوادث در بخش‌های پزشکی هسته‌ای بیمارستان‌ها، انفجارهای هسته‌ای یا نشت مواد رادیو اکتیو از نیروگاه‌های هسته‌ای، افرادی به طور ناگهانی و ناخواسته در معرض یک دز بالای نامشخص از پرتو یونیزان قرار می‌گیرند. برای درمان این افراد بسیار مهم است که سریع دز تابشی دریافت شده توسط آنان تعیین شود تا پزشک معالج درمان را بر اساس آن انتخاب کند. برای تعیین مقدار اشعه‌ی دریافتی توسط افراد، یک روش متداول که توسط آژانس بین‌المللی انرژی اتمی به عنوان روش استاندارد تأیید شده است، دزیمتری بیولوژیک می‌باشد (۱-۶).

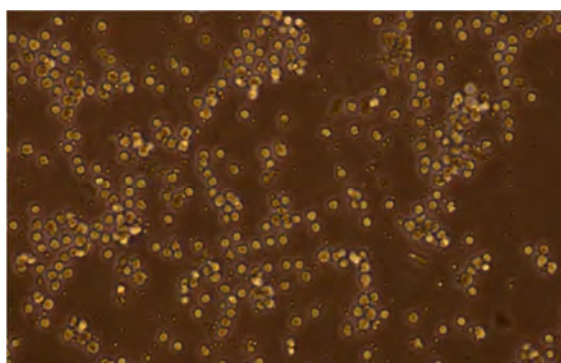
در دزیمتری بیولوژیک از شاخص‌های بیولوژیک که در اثر تابش تغییر می‌کنند و تغییرات آن‌ها قابل اندازه‌گیری است. برای برآورد و اندازه‌گیری دز تابشی دریافت شده توسط فرد استفاده می‌شود. پاسخ این شاخص‌های بیولوژیک به اشعه‌ی دریافتی، باید تکرار پذیر و قابل اعتماد باشد (۷-۱۲). یک روش استاندارد طلایی برای دزیمتری بیولوژیک، شمارش ابیراهی‌های کروموزومی ایجاد شده پس از تابش در لنفوسیت‌های خون است (۱۳-۱۷). تابش *In vivo* و یا *In vitro* لنفوسیت‌های خون، نتایج مشابهی از ابیراهی‌های کروموزومی نشان می‌دهد. بنابراین میزان دز دریافتی یک فرد پرتو دیده در حوادث پرتوی را می‌توان با یک منحنی پاسخ دز که از قبل با تابش دادن لنفوسیت‌های خونی به صورت *In vitro* و شمارش ابیراهی‌های کروموزومی به ویژه شمارش دی ستتریک‌ها به دست آمده است، تعیین نمود. به دلیل عمر طولانی لنفوسیت‌ها، ابیراهی‌های کروموزومی

حتی تا سال‌ها بعد از یک حادثه قابل تشخیص هستند. این منحنی پاسخ دز برای هر مرکز اختصاصی است و منحنی کالیبراسیون نام دارد (۱۷-۱۶).

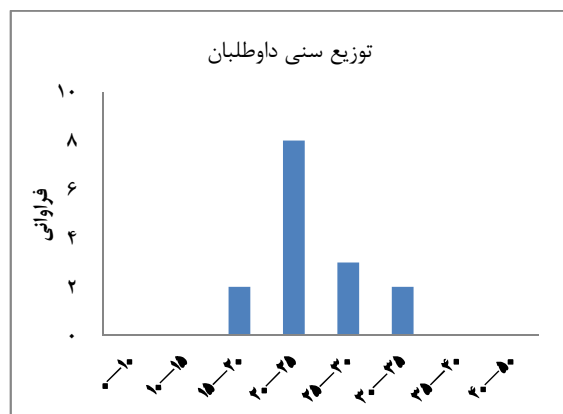
آزمون مشابه دیگری که برای دزیمتری بیولوژیک استفاده می‌شود، شمارش سلول‌های لنفوسیت دارای ریز هسته هنگام تقسیم سلولی است. بعد از تابش یونیزان در پی هر تقسیم سلولی ریز هسته‌ها به صورت یک یا چند جسم کوچک‌تر از هسته و از جنس آن هستند که علاوه بر هسته در سیتوپلاسم سلول‌های دختر دیده می‌شود (۲۱-۱۸). این آزمون ساده‌تر و سریع‌تر است و اندازه‌گیری و تشخیص تعداد زیادی سلول را با استفاده از امکانات پردازش تصویر و یا فلوسایتومتری امکان پذیر می‌سازد. آزمون ریز هسته برای عملیات معمول با تعداد بالای نمونه سریع‌تر قابل انجام است (۲۱-۱۹). به صورت نظری، دزهای حدود ۵۰-۱۰۰ mGy به عنوان کمترین مقادیر قابل تشخیص و یا حد تفکیک آن در دزیمتری بیولوژیک با ابیراهی‌های کروموزومی بیان می‌شوند (۱۷). تحقیقات اخیر نشان داده است که آپوتوز در لنفوسیت‌های خون می‌تواند به عنوان یک دزیمتر بیولوژیک برای اندازه‌گیری دز به کار رود (۲۴-۲۲، ۸).

آپوتوز مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول‌ها در پاسخ به علایم تهدید کننده و مسمومیت‌ها از جمله تابش است. این پدیده را می‌توان بعد از تابش در جامعه‌ی سلولی به خصوص سلول‌های هسته‌دار خون و مغز استخوان مشاهده نمود. بعد از تابش، علت اصلی مرگ لنفوسیت‌ها آپوتوز است (۲۹-۲۵، ۱۳). آپوتوز در حوادث پرتوی که تعداد زیادی از افراد مقدار زیادی اشعه دریافت کرده‌اند، با سرعت و به راحتی با استفاده از دستگاه فلوسایتومتر و یک رنگ فلورسانت مانند

هپارینه گرفته شد (شکل ۳). این کار با رعایت پروتکل‌های استاندارد مربوط انجام شد. سپس خون با نسبت مساوی با (Phosphate buffered saline) PBS رقیق شد و خون رقیق شده به آرامی به داخل فالکن دیگری که حاوی ۵ cc محلول فایکل‌های پک بود، منتقل شد و با ۲۰ دقیقه سانتریفوژ در دور ۲۰۰۰ rpm لئوسیت‌ها جدا شدند. لئوسیت‌های جدا شده، با تریپان بلو رنگ‌آمیزی و شمارش شدند و درصد سلول‌های زنده‌ی آن‌ها مشخص شد.



شکل ۲. تصویر لئوسیت‌ها در میکروسکوپ زمینه تاریک با بزرگ‌نمایی ۴۰۰



شکل ۳. توزیع سنی داوطلبان در این مطالعه

سپس سوسپانسیون سلولی به فلاسک حاوی محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ که به آن ۱۰ درصد سرم

(Fluorescein isothiocyanate) FITC می‌تواند اندازه‌گیری شود (۲۹، ۲۳، ۸).

روش‌ها

نمونه‌گیری

در این تحقیق، برای اندازه‌گیری آپوپتوز در لئوسیت‌ها، یک آزمایش با دستگاه رادیوترابی کبالت ۶۰ در بیمارستان سیدالشهدا (ع) اصفهان (TearatronPhonix Canada) ترتیب داده شد (شکل ۱) و برای دزهای مورد استفاده در رادیوترابی (۱۰-۰/۱ Gy) میزان القای آپوپتوز پس از پرتوگیری با پرتوهای یونیزان در لئوسیت‌های خون افراد داوطلب در پاسخ به تابش تعیین شد.



شکل ۱. دستگاه کبالت و فانوم معادل بافت که برای تابش دادن سلول‌ها استفاده شد

از آن جا که رده‌های مختلف سلولی لئوسیت‌ها حساسیت پرتوی متفاوتی از خود نشان می‌دهند (شکل ۲)، بنابراین لئوسیت‌های T برای این آزمایش انتخاب شدند (۴).

به این منظور، از ۱۶ داوطلب سالم با سن بین ۱۸-۳۵ سال سن که اعتیاد به سیگار و الکل و سابقه‌ی تابش درمانی نداشتند، ۱۰ ml خون در ظرف‌های

پارامتری توسط دستگاه فلوسایتومتر با دو لیزر ۵۳۰ nm و ۶۴۰ nm، آپوپتوز ایجاد شده با تابش اندازه‌گیری شد. تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار Cell-quest انجام شد. پراکندگی نوری در جلو (FSC) و جنبی (Side scatter) و (Forward scatter) همین‌طور فلورسانس PI و FITC برای سلول‌ها اندازه‌گیری شد. لئوسیت‌ها گیت شدند تا درصد آپوپتوز اندازه‌گیری شود. پراکندگی نوری در جلو در دو طول موج متفاوت ۵۳۰ nm سبز و ۶۴۰ nm قرمز برای هر سلول اندازه‌گیری شد. FSC پراکندگی در جلو با اندازه‌ی سلول متناسب است؛ در حالی که پراکندگی جنبی SSC متناسب با گرانولیت‌های سلولی (ساختار سلولی) است. با استفاده از این دو پارامتر، امکان گیت کردن لکوسیت‌های مختلف و گیت کردن لئوسیت‌ها وجود دارد.

FITC جفت شده با Annexin-v فلورسانس سبز ایجاد می‌کند که برای اندازه‌گیری آپوپتوز استفاده می‌شود. رنگ PI (پروپیدیم یدید) با فلورسانس قرمز برای اندازه‌گیری سلول‌های نکروزه و جدا کردن آن‌ها از سلول‌های آپوپتوز استفاده می‌شود. اطلاعات هر نمونه بلافاصله بعد از آماده شدن نمونه به دست آمده است. پارامترهای اندازه‌گیری شده، امکان جداسازی چهار جامعه‌ی لکوسیت‌ها را می‌دهد. با استفاده از نمودار پراکندگی رو به جلو FSC بر حسب پراکندگی کناری SSC، سه زیر جمعیت لکوسیت‌ها (مونوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و لئوسیت‌ها) به خوبی از خرده‌های سلولی و همین‌طور لئوسیت‌ها جدا می‌شوند. داده‌ها برای ۱۰۰۰۰ سلول در حدود ۳ دقیقه به دست می‌آیند. سلول‌های لئوسیت در حال آپوپتوز جمعیت مشخصی از لئوسیت‌های طبیعی را

و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک و PHA (Phytohemagglutinin) به عنوان محرک تقسیم سلولی اضافه شده بود، افزوده شد و در انکوباتور مخصوص کشت سلولی قرار گرفت. پس از ۳ روز از هر محیط کشت ۱۰ قسمت ۱ ml سلول با تراکم یک میلیون در میلی‌لیتر جدا و به ۱۰ پلیت ۶ تایی منتقل شد و هر پلیت با دزی در محدوده‌ی ۱۰-۰/۱ Gy تابش داده شد. دزیتری فیزیکی با دستگاه Farmer (Nucler Enterprise Zurich Switzzland) و فانتوم معادل بافت انجام شد تا دز خروجی دستگاه اندازه‌گیری شود. سپس هر پلیت دوباره به انکوباتور منتقل شد تا مقدار آپوپتوز ایجاد شده با تابش اندازه‌گیری شود.

فلوسایتومتری

بعد از ۳ روز نگهداری سوسپانسیون خونی در انکوباتور، سلول‌ها برداشت شد. به این منظور، سوسپانسیون به داخل یک لوله‌ی ۱۵ ml منتقل و ۵ دقیقه در ۱۵۰۰ rpm در دمای اتاق سانتریفوژ شد. پس از ریختن مایع رویی، قرص سلولی در ۲۰۰ μl مایع باقی‌مانده قرار گرفت. سپس قرص سلولی ابتدا با بافر PBS و سپس با بافر BD (BD-Bioscience) شستشو و رنگ Annexin v + FITC (BD-Bioscience) به آن اضافه و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. سپس رنگ اضافه با PBS شسته و رنگ PI به محیط اضافه گردید. سپس سلول‌ها با بافر BD-Bioscience رقیق و مقدار آپوپتوز آن‌ها با فلوسایتومتری اندازه‌گیری شد.

تحلیل فلوسایتومتری

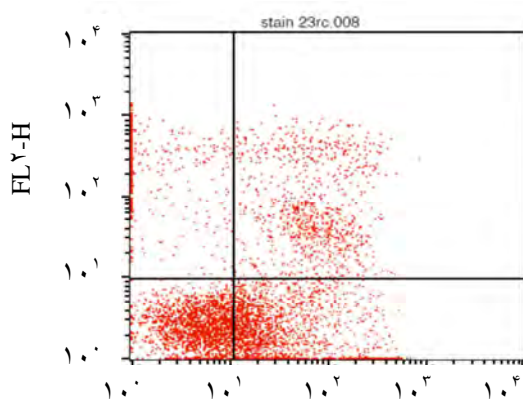
فلوسایتومتری با دستگاه بکتون دیکنسون (Becton Dickinson FACScan) با استفاده از نرم‌افزار Cell-quest انجام شد. با اندازه‌گیری چند

گیت شد و برای ناحیه‌ی گیت‌بندی شده، نمودار فراوانی سلول‌های با فلورسنت PI بر حسب Annexin-FITC در دو کانال FL¹H و FL²H برای شناسایی سلول‌های آپوپتوتیک رسم شد (شکل ۴-ب). پس از گیت کردن لنفوسیت‌ها در منحنی FSC بر حسب SSC بر روی این نمودار، چهار ناحیه مشخص شد. ناحیه‌ی FITC مثبت، PI منفی که این ناحیه مربوط به سلول‌های نکروزه است. ناحیه‌ی FITC مثبت، PI منفی که ناحیه‌ای است که سلول‌هایی که تازه دچار آپوپتوز شده‌اند را نشان

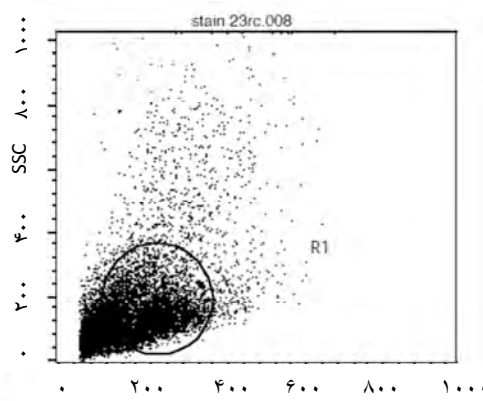
در فلوسایتمتری تشکیل می‌دهند و می‌توانند با اندازه‌ی کوچک‌ترشان یعنی FSC کوچک‌تر و گرانولیتیه‌ی بزرگ‌تر یعنی SSC بزرگ‌تر تشخیص داده شوند. این سلول‌ها رنگ Annexin-FITC را جذب می‌کنند و نور فلورسانس سبز می‌دهند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

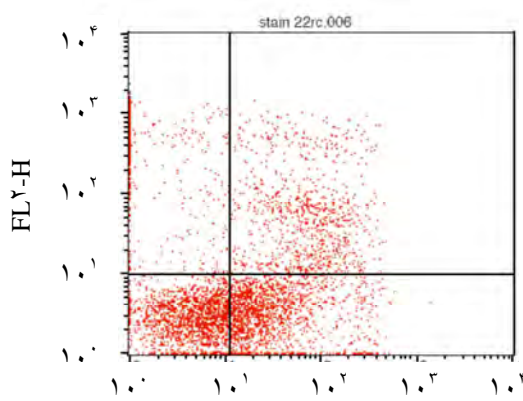
داده‌ها در دو مرحله تجزیه و تحلیل شدند. ابتدا یک نمودار دو بعدی FSC بر حسب SSC فلورسانس برای شناسایی و جداسازی لنفوسیت‌ها رسم شد (شکل ۴-ا). سپس ناحیه‌ی مربوط به لنفوسیت‌ها



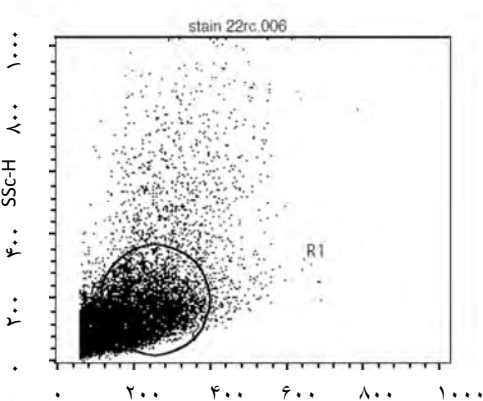
شکل ۴-ا



شکل ۴-ب

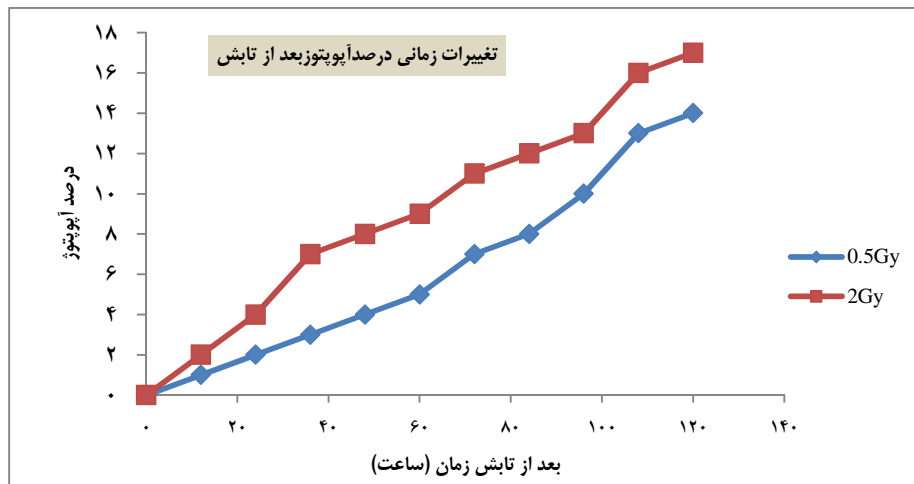


شکل ۴-ج



شکل ۴-د

شکل ۴. آنالیز فلوسایتمتری لنفوسیت‌های Annexin V + FITC T مثبت نمودار پراکندگی رو به جلو (Forward scatter) FSC (FL¹-H) اندازه‌ی سلول بر حسب پراکندگی جنبی (Side scatter) SSC (FL²-H) گرانولاریته‌ی نمودار نقطه‌ای همه‌ی ذرات حاضر در محیط کشت را نشان می‌دهد. ناحیه‌ی گیت شده‌ی سلول‌های مورد نظر یعنی لنفوسیت‌ها را نشان می‌دهد. کانال FL¹H مربوط به FITC (Fluorescein isothiocyanate) مثبت و کانال FL²H مربوط به PI مثبت است.



شکل ۵. تغییرات در فراوانی آپوپتوز با افزایش زمان بعد از تابش در دو گروه با دز تابش ۰/۵ Gy و ۲

یک دز ۲ Gy در فاصله‌ی زمانی ۵ روز با یک آنالیز هر ۲۴ ساعت طراحی شد. در بررسی آپوپتوز در جمعیت لنفوسیت‌های T، در انکوباسیون‌های بیش از ۳ روز، افزایش واضحی در فرکانس آپوپتوز با افزایش زمان انکوباسیون دیده می‌شود (شکل ۵). از این رو به نظر می‌رسد که با استفاده از زمان انکوباسیون طولانی‌تر، این روش را می‌توان برای بررسی اثر دزهای پایین استفاده کرد. اما با افزایش زمان، افزایش خطا در اندازه‌گیری‌ها نیز باید در نظر گرفته شود.

با توجه به افزایش نرخ آپوپتوز بعد از تابش و زیاد شدن خطا در فواصل بیش از ۵ روز که باعث نزدیک شدن نتایج در دزهای متفاوت به یکدیگر می‌شود، تنها از نتایج روز سوم برای اندازه‌گیری دزیمری استفاده شد (شکل ۶). مقدار میانگین‌ها و انحراف معیار برای هر دز برای تمام نمونه آن حساب شد. نتایج در جدول ۱ آمده است. کسر سلول‌های آپوپتوتیک در نمونه‌های پرتو ندیده، و آپوپتوز فوری بلافاصله بعد از تابش نیز برای تعیین دقیق آپوپتوز ایجاد شده با تابش اندازه‌گیری شد و برای به دست آوردن یک منحنی کالیبراسیون یک تابع خطی به

می‌دهد و مورد نظر می‌باشد (شکل ۴-D). ناحیه‌ی FITC منفی، PI منفی که سلول‌های سالم را نشان می‌دهد و ناحیه‌ی FITC منفی، PI مثبت که سلول‌های لیز شده را نشان می‌دهد. پردازش اطلاعات و محاسبات آماری، با نرم‌افزار Excel انجام شد.

یافته‌ها

نمونه‌ها با دز گامای ۰/۰۵ Gy، ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۶ و ۱۰ تابش داده شدند. آپوپتوز ایجاد شده با تابش در لنفوسیت‌های T بعد از تابش دادن اندازه‌گیری شد. حتی برای ۵۰ mGy، آپوپتوز ایجاد شده با تابش به حد کافی بزرگ‌تر از مقدار آپوپتوز زمینه در سلول‌های تابش ندیده در گروه شاهد بود و در سطح اطمینان ۹۵ درصد تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/050$).

برای مشخص کردن نکروزه شدن سلول‌ها، از رنگ‌آمیزی PI و برای نشان دادن انتقال فسفوتیدیل سرین به لایه‌ی بیرونی غشای سلول و آپوپتوز، از کیت تجاری Annexin-FITC استفاده شد و سلول‌های آپوپتوتیک برای تأیید آپوپتوز با میکروسکوپ الکترونی نیز مشاهده شدند. بنابراین، یک آزمایش با

میکروسکوپ معمولی نشان داد که سلول‌ها کامل و دارای هسته‌ی متراکم در مرکز هستند و سیتوپلاسم دارای اجسام مختلفی است؛ اما میتوکندری‌ها ناپدید شده‌اند. تمام این اطلاعات تأیید کرد که سلول‌ها از طریق آپوتوز مرده‌اند و نکروزه نشده‌اند.

این آزمون تشخیص دزهایی به کوچکی 50 mGy را در ۴ تا ۵ روز بعد از تابش نمونه‌ها که تفاوت‌ها در بین نمونه‌ها به حداقل رسیده است، ممکن می‌سازد.

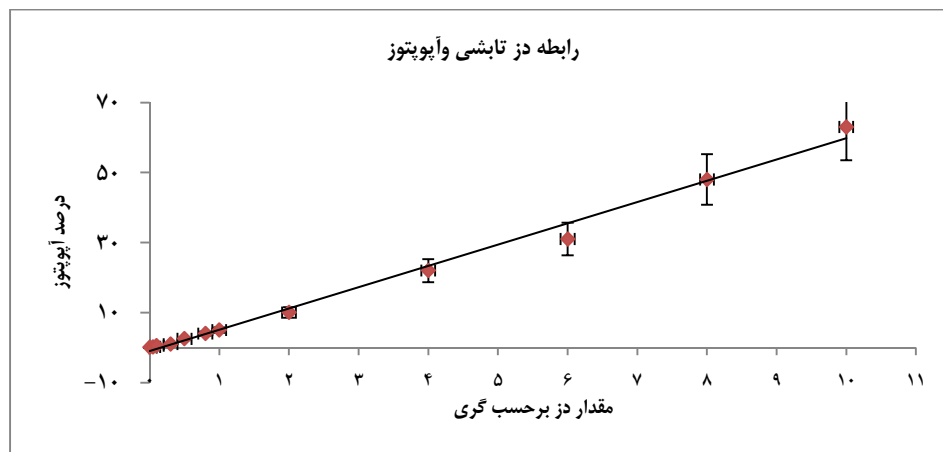
بحث

منحنی تغییرات مقادیر آپوتیک برای دزهای انتخاب شده برای همه‌ی نمونه‌های انتخاب شده، تفاوت معنی‌داری داشت و در سطح اطمینان ۹۵ درصد تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$).

صورت $y = mx + b$ بر روی داده‌ها فیت شد. m برابر $6/1$ و b برابر $0/01$ به دست آمد. ضریب همبستگی نیز برابر $0/99$ بود. در 2 Gy شیب خط دز بر حسب درصد آپوتوز برای لئوسیت $6/1$ درصد بود. برای پردازش داده‌ها و محاسبات آماری از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

در دزهای زیر 1 Gy سطح آپوتوز ایجاد شده تا ۵ روز بعد از تابش افزایش یافت. زمان بهینه برای مشاهده‌ی آپوتوز و تشخیص آن ۴ روز بعد از تابش بود که در آن منحنی پاسخ دز در 2 Gy خطی با شیب $6 \pm 0/5$ درصد بود.

بر خلاف سلول‌های طبیعی، سلول‌های آپوتوتیک رنگ‌های زیستایی مانند تریپان بلو را قبول می‌کنند و مشخص می‌شود که این سلول‌ها مرده هستند و غشای آن‌ها گذردهی دارد (۴). آزمایش‌هایی با



شکل ۶: نمودار پاسخ لئوسیت‌های T به دز تابش ۳ روز بعد از تابش

جدول ۱. مقادیر دز اعمال شده به سلول‌ها و مقادیر آپوتوز مربوط

دز بر حسب Gy	۰	۰/۰۵	۰/۱	۰/۳	۰/۵	۰/۸	۱	۲	۴	۶	۸	۱۰
میانگین	۰/۰۶	۰/۲۹	۰/۶۱	۲/۳۳	۳/۵۷	۴/۲۸	۶/۴۷	۱۳/۰۰	۲۵/۴۰	۳۶/۵۳	۵۱/۲۷	۶۵/۲۷
انحراف معیار	۰/۰۳	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۷۰	۰/۵۴	۰/۵۴	۰/۷۲	۱/۶۳	۲/۰۹	۳/۴۶	۱/۵۸	۱/۶۵
حداقل	۰/۰۲	۰/۲۰	۰/۵۰	۱/۰۰	۲/۵۰	۴/۰۰	۵/۰۰	۱۰/۰۰	۲۲/۰۰	۳۱/۰۰	۴۸/۰۰	۶۳/۰۰
حداکثر	۰/۱۰	۰/۴۰	۰/۷۰	۴/۰۰	۴/۰۰	۵/۵۰	۸/۰۰	۱۶/۰۰	۳۰/۰۰	۴۲/۰۰	۵۳/۰۰	۶۸/۰۰

پرتوی، بر اساس وسعت مراقبت‌های پزشکی و بهداشتی که باید به مصدوم داده شود، باید تصمیم‌گیری شود. در محل یک حادثه، دزیمتری فیزیکی همیشه امکان‌پذیر نیست و اگر هم این امکان وجود داشته باشد، دزیمتری بیولوژیک برای تأیید مقادیر دز دریافت شده لازم است.

در آزمایش‌های *In vitro* فرم سلولی و حالت کروماتین متراکم سلول‌های آپوتوتیک حداقل تا ۱۰ روز باقی می‌ماند، اما شواهد میکروسکوپی وجود دارد که این سلول‌ها با ماکروفاژها فاگوسیتوز می‌شوند؛ اما این که آیا در بدن نیز همین اتفاق می‌افتد، تحقیق نشده است.

با توجه به این که این آزمایش‌ها به صورت *In vitro* انجام می‌شود، این سؤال به وجود می‌آید که «آیا در یک سناریوی واقعی که تابش به صورت *In vivo* است، نتایج متفاوت نخواهد بود؟». پاسخ به این سؤال پس از روشن شدن مجهولات زیادی مثل رابطه‌ی زمانی کاهش غلظت لنفوسیت‌های آپوتوتیک در خون به دلیل حذف یا تولد دوباره‌ی آن‌ها و حذف سلول‌ها توسط سیستم آندوتلیال در بدن روشن می‌شود. این وقایع در طی هفته‌ها، ماه‌ها و یا حتی سال‌ها اتفاق می‌افتد و در هر روش دزیمتری که در آن از لنفوسیت‌های خون محیطی استفاده می‌شود، مانند اندازه‌گیری و شمارش ابراهی‌های پایدار کروموزومی و ایجاد ریز هسته‌ها نیز این مسایل وجود دارد و باید در نظر گرفته شود. بنابراین، بدیهی است که اگر بین حالت *In vitro* و *In vivo* تفاوتی وجود داشته باشد و لنفوسیت‌های آپوتوتیک در بدن با گذشت زمان ناپدید شوند، ضروری است که گرفتن نمونه‌ی خون برای دزیمتری در اولین فرصت بعد از

منحنی‌های پاسخ دز بر حسب آپوتوز اندازه‌گیری شده در دزهای بالاتر از ۰/۵ Gy تابع خطی از دز بود. در فواصل زمانی طولانی به دلیل تغییرات کیفی در آماده‌سازی خون، جداسازی سلول‌های آپوتوتیک از سلول‌های طبیعی در حین آزمایش بسیار مشکل است؛ اما اگر یک زمان انکوباسیون در محدوده‌ی ۵ روز انتخاب شود، آپوتوز سلولی ایجاد شده در بیشترین سطح است. دزهای تابش ۵۰ mGy و بالاتر را می‌توان با دقت کافی اندازه‌گیری کرد. هنگامی که

دز ۴ یا ۵ روز بعد از تابش اندازه‌گیری شود، میانگین پاسخ دز $0/5 \pm 6$ درصد در ۲ Gy است. این مقادیر، شبیه به حساسیت روش‌های دیگر مثل شمارش ابراهی‌های کروموزومی است (۱۶).

فراوانی آپوتوز با افزایش زمان انکوباسیون افزایش می‌یابد. این وابستگی زمانی ممکن است تفاوت‌ها در سن و ساختار ژنتیکی را منعکس کند (۱۶-۱۵).

دلیل افزایش آپوتوز لحظه‌ای با زمان بعد از تابش، ممکن است پیر شدن سلول‌ها، افزایش طول عمر طبیعی و مرگ لنفوسیت‌ها باشد؛ اما فراوانی آپوتوز شاید بر اثر شرایط متفاوت محیط کشت مصنوعی با شرایط واقعی باشد. وابستگی آپوتوز به دز تابش در سطوح بالا خطی است و از تغییرات حساسیت در بین اهدا کنندگان تأثیر نمی‌پذیرد (۴).

محدوده‌ی دز ۵۰-۵۰۰ mGy، از حدود دز در حفاظت پرتوی بسیار بالاتر و از محدوده‌ی دزهای مربوط به آثار کلینیکی حاد که نیاز به مراقبت کلینیکی دارند، پایین‌تر است. این حدود برای اندازه‌گیری دز در حوادث پرتوی مهم است. در وضعیت حوادث

برای اندازه‌گیری آپوتوز به عنوان دزیتری نام برد. اما از جانب دیگر، اندازه‌گیری آپوتوز برای تعداد زیاد نمونه مثل حالتی که در حوادث پرتوی پیش می‌آید، با این روش سریع و آسان است. به هر حال، نتایج به پروتکل‌ها بستگی دارد و تنها با تعریف یک روش استاندارد برای انجام عملیات، می‌توان از کوچک بودن واریانس و تکرار پذیری نتایج مطمئن بود. به طور کلی، به نظر می‌رسد در حوادث پرتوی بتوان بلافاصله بعد از آن، از اندازه‌گیری آپوتوز برای دزیتری بیولوژیک قربانیان استفاده کرد. اما برای اندازه‌گیری‌های دقیق با فاصله‌ی زمانی بعد از حادثه، می‌توان از روش‌های استاندارد مانند شمارش دی‌ستریک‌ها در گسترش کروموزومی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری خوب ریاست و کارکنان سازمان انتقال خون ایران، مرکز اصفهان و بخش پرتو درمانی بیمارستان سیدالشهدای (ع) اصفهان و آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تقدیر و تشکر می‌گردد.

پرتوگیری با تابش انجام شود. برای رسیدن به پاسخ دقیق این سؤالات، می‌توان از دزیتری بیولوژیک بیماران هنگام رادیوتراپی و بعد از آن استفاده کرد؛ اما در رادیوتراپی‌های متداول نیز ممکن است مسأله‌ی حجمی از بدن که پرتو گرفته و تأثیر آن بر نتیجه به وجود آید؛ زیرا سلول‌های پرتو دیده و پرتو ندیده در خون حرکت می‌کنند و در بدن مخلوط می‌شوند.

با مطالعه‌ی بیمارانی که پیوند مغز استخوان می‌شوند و تابش تمام بدن را دریافت می‌کنند و یا بیمارانی با Computed tomography بررسی می‌شوند و دزهای حدود 0.1 Gy را در حجم‌های بزرگ بدن می‌گیرند، می‌توان این مسأله را دقیق‌تر بررسی کرد (۱۴-۱۲).

با وجود تفاوت ۵ برابری بین محتویات DNA سلول‌های طبیعی و لنفوسیت‌های آپوتوتیک، آن‌ها بین ۱ تا ۱۰ روز پایدار می‌مانند. اما تحقیقات نشان داده است که مقدار آپوتوز اندازه‌گیری شده، بعد از تابش به زمان بستگی دارد و زمان بهینه برای برآورد آپوتوز بین ۴ تا ۵ روز بعد از تابش است. این وابستگی به زمان را می‌توان مهم‌ترین نقطه‌ی ضعف

References

1. Bille J, Scharfenberg H, Männer R. Biological dosimetry by chromosome aberration scoring with parallel image processing with the Heidelberg polyp polyprocessor system. *Comput Biol Med* 1983; 13(1): 49-59.
2. Lindholm C, Wojcik A, Jaworska A. Biological dosimetry following exposure to neutrons in a criticality accident [Online] 2010 Dec 31. [cited 2011 Jan]; Available from: URL: <http://www.risoe.dtu.dk/rispubl/NKS/NKS-233.pdf>
3. Coskun M, Top A, Orta T. Biological dosimetry following X-ray Irradiation. *Turk J Med Sci*. 2000; 30: 563-9.
4. Montoro A, Rodriguez P, Almonacid M, Villaescusa JI, Verdu G, Caballin MR, et al. Biological dosimetry in a group of radiologists by the analysis of dicentrics and translocations. *Radiat Res* 2005; 164(5): 612-7.
5. Cucinotta FA, Kim MHY, Willingham V, George KA. Physical and biological organ dosimetry analysis for international space station astronauts. *Radiation Research* 2008; 170(1): 127-138.
6. Montoro A, Almonacid M, Barquinero J, Barrios L, Verdú G, Pérez J, et al. Biological dosimetry in interentional radiology exposed to ionizing radiations. *Proceedings of the 11th ed International Congress of the International Radiation Protection Association*; 2004 May 23-28; Madrid, Spain.
7. Dolphin G. Biological dosimetry with particular reference to chromosome aberration analysis. A

- review of methods. In: Handling of radiation accidents. Vienna, Austria: International Atomic Energy Agency; 1969.
8. Menz R, Andres R, Larsson B, Ozsahin M, Trott K, Crompton NE. Biological dosimetry: the potential use of radiation-induced apoptosis in human T-lymphocytes. *Radiat Environ Biophys* 1997; 36(3): 175-81.
 9. Andreassi MG. The biological effects of diagnostic cardiac imaging on chronically exposed physicians: the importance of being non-ionizing. *Cardiovasc Ultrasound* 2004; 2: 25.
 10. Zwicker F, Swartman B, Sterzing F, Major G, Weber KJ, Huber PE, et al. Biological in-vivo measurement of dose distribution in patients' lymphocytes by gamma-H2AX immunofluorescence staining: 3D conformal-vs. step-and-shoot IMRT of the prostate gland. *Radiat Oncol* 2011; 6: 62.
 11. Jani AB, Hand CM, Pelizzari CA, Roeske JC, Krauz L, Vijayakumar S. Biological-effective versus conventional dose volume histograms correlated with late genitourinary and gastrointestinal toxicity after external beam radiotherapy for prostate cancer: a matched pair analysis. *BMC Cancer* 2003; 3: 16.
 12. Chaudhry MA. Biomarkers for human radiation exposure. *J Biomed Sci* 2008; 15(5): 557-63.
 13. Zhang HM, Nie JS, Li X, Niu Q. Characteristic analysis of peripheral blood mononuclear cell apoptosis in coke oven workers. *J Occup Health* 2012; 54(1): 44-50.
 14. Huber R, Braselmann H, Geinitz H, Jaehnert I, Baumgartner A, Thamm R, et al. Chromosomal radiosensitivity and acute radiation side effects after radiotherapy in tumour patients--a follow-up study. *Radiat Oncol* 2011; 6: 32.
 15. Sreedevi B, Rao BS, Nagaraj H, Pal NK. Chromosome aberration analysis in radiotherapy patients and simulated partial body exposures: biological dosimetry for non-uniform exposures. *Radiat Prot Dosimetry* 2001; 94(4): 317-22.
 16. International Atomic Energy Agency. Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment. technical report series No. 405. Vienna, Austria: International Atomic Energy Agency; 2001.
 17. Darroudi F. Cytogenetic biological dosimetry past, present and future perspectives. Proceedings of the 6th ed International Conference on Environment Matation in Human Population; 2012 Mar 26-29; Doha, Qatar.
 18. Vershenya S, Biko J, Lorenz R, Reiners C, Stopper H, Grawe J, et al. T-cell receptor assay and reticulocyte-micronuclei assay as biological dosimeters for ionizing radiation in humans. *Acta Medica Nagasakiensia* 2005; 50(Suppl 1): 15-21.
 19. Sun LP, Li DZ, Liu ZM, Yang LJ, Liu JY, Cao J. Analysis of micronuclei in the transferrin-receptor positive reticulocytes from peripheral blood of nasopharyngeal cancer patients undergoing radiotherapy by a single-laser flow cytometer. *J Radiat Res* 2005; 46(1): 25-35.
 20. Avlasevich S, Bryce S, De BM, Elhajouji A, Van GF, Lynch A, et al. Flow cytometric analysis of micronuclei in mammalian cell cultures: past, present and future. *Mutagenesis* 2011; 26(1): 147-52.
 21. Smolewski P, Ruan Q, Vellon L, Darzynkiewicz Z. Micronuclei assay by laser scanning cytometry. *Cytometry* 2001; 45(1): 19-26.
 22. Ishihara S, Inuma H, Fukushima Y, Akahane T, Horiuchi A, Shimada R, et al. Radiation-induced apoptosis of peripheral blood lymphocytes is correlated with histological regression of rectal cancer in response to preoperative chemoradiotherapy. *Ann Surg Oncol* 2012; 19(4): 1192-8.
 23. Pinar B, Henriquez-Hernandez LA, Lara PC, Bordon E, Rodriguez-Gallego C, Lloret M, et al. Radiation induced apoptosis and initial DNA damage are inversely related in locally advanced breast cancer patients. *Radiat Oncol* 2010; 5: 85.
 24. Prieto A, Diaz D, Barcenilla H, Garcia-Suarez J, Reyes E, Monserrat J, et al. Apoptotic rate: a new indicator for the quantification of the incidence of apoptosis in cell cultures. *Cytometry* 2002; 48(4): 185-93.
 25. Bordon E, Henriquez-Hernandez LA, Lara PC, Ruiz A, Pinar B, Rodriguez-Gallego C, et al. Prediction of clinical toxicity in locally advanced head and neck cancer patients by radio-induced apoptosis in peripheral blood lymphocytes (PBLs). *Radiat Oncol* 2010; 5: 4.
 26. Hodge S, Hodge G, Holmes M, Reynolds PN. Increased peripheral blood T-cell apoptosis and decreased Bcl-2 in chronic obstructive pulmonary disease. *Immunol Cell Biol* 2005; 83(2): 160-6.
 27. Hooker DJ, Mobarok M, Anderson JL, Rajasuriar R, Gray LR, Ellett AM, et al. A new way of measuring apoptosis by absolute quantitation of inter-nucleosomally fragmented genomic DNA. *Nucleic Acids Res* 2012; 40(15): e113.
 28. Schnarr K, Boreham D, Sathya J, Julian J, Dayes IS. Radiation-induced lymphocyte apoptosis to predict radiation therapy late toxicity in prostate cancer patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 74(5): 1424-30.
 29. Zhang G, Gurtu V, Kain SR, Yan G. Early detection of apoptosis using a fluorescent conjugate of annexin V. *Biotechniques* 1997; 23(3): 525-31.

Evaluation of Measuring Radiation-Induced Apoptosis in Human T-Lymphocytes by Flow Cytometry as a Biological Dosimetry System

Mohammad Bagher Tavakkoli PhD¹, Majid Kheirollahi PhD², Ali Kiani MSc³,
Mohammad Kazemi MSc⁴, Leili Mohebat MSc⁵,
Shagayegh Haghjooy-Javanmard MD, PhD⁶, Mahnaz Roayaei MD⁷

Original Article

Abstract

Background: In events such as a nuclear explosion or leakage of radioactive material from nuclear power dungeons or other events in nuclear medicine departments in hospitals, many people accidentally receive an unspecified amount of ionizing radiation. First step to treat is evaluation of radiation dose received by the victims. In such situation and in radiotherapy program, dosimetry is used for evaluation of treatment planning. Some measurable biological indexes used for evaluation of dose of radiation. Some measurable biological indexes can be used in biological dosimetry to measure the radiation dose and estimate the radiation effect.

Methods: In this study, the test for biological dosimetry based on apoptosis induced by gamma radiation in peripheral blood T-lymphocytes was performed in 16 volunteers. The blood lymphocytes were isolated and cultured in RPMI (Roswell Park Memorial Institute) 1640 medium and then, were placed in 5% CO₂ atmosphere at 37°C. Then, the samples were prepared from the culture medium and radiated with different doses of gamma radiation. Sample transferred to incubator again to measure their apoptosis. Radiation-induced apoptosis in the cell population was measured by flow cytometry using Annexin V + fluorescein isothiocyanate (FITC) and propidium iodide (PI) stains.

Findings: Radiation induced apoptosis was measureable with enough precision. But measured apoptosis depended on delay time after irradiation and protocole of flow cytometry.

Conclusion: The results of this study show that it is possible to use radiation for measuring apoptosis as a biological dosimeter in a short time after radiation exposure in the events such as a nuclear explosion or leakage of radioactive material.

Keywords: Apoptosis, Flowcytometry, T-cells, Lymphocyte, Biological dosimetry, Radiation

Citation: Tavakkoli MB, Kheirollahi M, Kiani A, Kazemi M, Mohebat L, Haghjoo Javanmard Sh, et al. **Evaluation of Measuring Radiation-Induced Apoptosis in Human T-Lymphocytes by Flow Cytometry as a Biological Dosimetry System.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(284): 610-20

1- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan Iran

2- Assistant Professor, Pediatric Inherited Diseases Research Center AND Department of Genetics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- PhD Student, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences AND Lecturer, Department of Physics, School of Sciences, Malek-Ashtar University of Technology, Isfahan, Iran

4- PhD Student, Department of Genetics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- Central Research Lab, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

6- Associate Professor, Physiology Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

7- Assistant Professor, Department of Oncology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Ali Kiani MSc, Email: kiani2231@gmail.com

مقایسه‌ی نشانگرهای سطحی CD۱۴ و CD۴۴ در سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (ADSCs) و سلول‌های کندروسیت تمایز یافته طی فرایند کندروژنز

روناک زارعی^۱، دکتر بتول هاشمی بنی^۲، دکتر ابراهیم اسفندیاری^۳، دکتر علی والیانی^۴، فریبرز کیانپور^۴، مریم علی اکبری^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: امروزه به صورت گسترده‌ای از سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (ADSCs یا Adipose tissue-derived stem cells) جهت مهندسی بافت غضروف استفاده می‌شود. بیشتر مطالعاتی که تاکنون در این زمینه انجام شده است، پیرامون داربست‌ها، عوامل رشد و روش‌های تحریک مکانیکی بوده است و مطالعات کمی در زمینه‌ی تغییرات نشانگرهای سطحی طی کندروژنز انجام شده است. بر این اساس، هدف تحقیق حاضر بررسی تغییرات نشانگرهای سطحی CD۱۴ و CD۴۴ طی فرایند کندروژنز است.

روش‌ها: بافت چربی زیر جلدی انسانی ۳ نفر تحت تأثیر آنزیم کلاژناز تجزیه و سلول‌های بنیادی کشت داده شدند. سلول‌های پاساژ دوم جهت بررسی نشانگرهای سطحی CD۱۴ و CD۴۴ به وسیله‌ی فلوسیتومتری مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین این سلول‌ها در داربست آلژینات و تحت تأثیر مدیوم کندروژنیک کشت داده شدند و سلول‌های تمایز یافته در روزهای ۷ و ۱۴ جهت بررسی نشانگرهای سطحی CD۱۴ و CD۴۴ مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها: بیان نشانگر CD۴۴ در ۹۶/۸ درصد از ADSCs مشخص گردید؛ اما CD۱۴ در ۹۸/۶ درصد از این سلول‌ها بیان نشد. نشانگر CD۴۴ در سلول‌های بنیادی تمایز یافته در داربست آلژینات در روز ۷ در ۹۶/۳ درصد بیان شد؛ اما در روز ۱۴ کاهش پیدا کرد و به ۵۲/۸ درصد رسید. بیان نشانگر CD۱۴ در این سلول‌ها در روز ۷ و ۱۴ به ترتیب ۹۹/۷ و ۹۹/۹ درصد بود.

نتیجه‌گیری: نشانگر CD۴۴ در سلول‌های بنیادی و سلول‌های تمایز یافته در روز ۷ با درصد بالا بیان می‌شود، اما در روز ۱۴ کاهش پیدا می‌کند. نشانگر CD۱۴ در سلول‌های بنیادی بیان نمی‌شود، اما در سلول‌های تمایز یافته، با درصد بالا بیان می‌شود. بنابراین پیشنهاد می‌شود با توجه به تغییرات نشانگرهای پیش‌گفته طی کندروژنز، می‌توان از این نشانگرها جهت تشخیص کندروژنز و مقایسه‌ی سلول‌های تمایز یافته با کندروسیت‌های طبیعی استفاده کرد.

واژگان کلیدی: سلول‌های بنیادی مشتق از چربی، کندروژنز، مهندسی بافت، نشانگر سطحی CD۴۴، نشانگر سطحی CD۱۴

ارجاع: زارعی روناک، هاشمی بنی بتول، اسفندیاری ابراهیم، والیانی علی، کیانپور فریبرز، علی اکبری مریم. مقایسه‌ی نشانگرهای سطحی CD۱۴ و CD۴۴ در سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (ADSCs) و سلول‌های کندروسیت تمایز یافته طی فرایند کندروژنز. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۴): ۶۳۰-۶۲۱

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد در دانشکده علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- کارشناس، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: hashemibeni@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر بتول هاشمی بنی

مقدمه

غضروف مفصلی، یک بافت همبند اختصاصی است که شامل کندروسیت‌ها و ماتریکس خارج سلولی است و ممکن است به دلایل مختلف از جمله استئوآرتریت دچار آسیب شود. با توجه به این که غضروف مفصلی فاقد عروق خونی و اعصاب است و تغذیه‌ی سلول‌های آن فقط از طریق انتشار صورت می‌گیرد و همچنین تراکم سلولی آن پایین است، توانایی غضروف مفصلی در ترمیم آسیب‌ها ضعیف است. از این رو، امروزه کاربرد مهندسی بافت جهت جایگزین کردن بافت‌های آسیب دیده از جمله غضروف مفصلی مورد توجه قرار گرفته است (۱-۳). چندین سال است که از سلول‌های بنیادی با منشأهای مختلف جهت مهندسی بافت از جمله مهندسی بافت غضروف استفاده می‌شود. سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs یا Mesenchymal stromal cells)، سلول‌های Multipotent و Nonhematopoietic هستند (۴). این سلول‌ها از منابع مختلف از جمله مغز استخوان، بافت چربی، عضله، سینوویوم، پری کندروم، پریوست، پالپ دندان و ... استخراج می‌شوند (۵-۸).

امروزه جمعیت‌های سلولی که دارای ویژگی‌های زیر باشند، تحت عنوان MSC شناخته می‌شوند: توانایی چسبندگی به پلاستیک را داشته و از لحاظ مورفولوژی شبه فیروبلاست باشند. از لحاظ عملکردی توانایی بازسازی خود را داشته باشند و در شرایط کشت مناسب، توانایی تمایز به رده‌های مزانشیمی (استئوسیت، کندروسیت و آدیپوسیت)، اندودرمی (هپاتوسیت) و اکتودرمی (نورون) را داشته باشند. از لحاظ فنوتیپی گروهی از نشانگرهای

سطحی را در سطح خود بیان کنند و گروهی دیگر را بیان نکنند (۹-۱۰).

مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی مشتق از مغز استخوان (BMSCs یا Bone marrow stromal cells)، نشانگرهای سطحی CD۷۳، CD۱۰۵، CD۹۰، CD۱۶۴ و STRO۱ را در سطح خود بیان می‌کنند و فاقد نشانگرهای سطحی CD۳۴ و CD۴۵ هستند (۱۱-۱۲).

مطالعاتی نیز که در زمینه‌ی نشانگرهای سطحی سلول‌های بنیادی مشتق از سینوویوم انجام شده‌اند، نشان داده‌اند که تفاوت مشهودی بین نشانگرهای سطحی این سلول‌ها و BMSCs وجود ندارد (۱۳).

سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (ADSCs یا Adipose tissue-derived stem cells) دسته‌های شاخصی از نشانگرهای پروتئینی سطحی را بیان می‌کنند که شامل مولکول‌های چسبندگی مثل CD۲۹ و CD۴۹e، مولکول‌های گیرنده مثل هیالورونات (CD۴۴)، کاده‌رین (CD۱۴۴)، آنزیم‌های سطحی (CD۷۳)، پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی (CD۹۰، CD۱۰۵)، مولکول‌های چسبندگی داخل سلولی (CD۵۴)، مولکول‌های چسبندگی عروقی (CD۱۰۶)، پروتئین‌های تنظیمی کمپلمان و آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی است (۱۴-۱۵، ۵)؛ اما این سلول‌ها فاقد نشانگرهای خون‌ساز از قبیل CD۴۵، CD۳۱، CD۳۳، CD۳۴، CD۱۴ یا CD۱۱b، CD۷۹a، CD۱۹ یا HLA-DR هستند (۱۶).

مطالعه‌ای که در زمینه‌ی نشانگرهای سطحی سلول‌های بنیادی مشتق از پالپ دندان (SHED یا Stem cells from human exfoliated deciduous teeth) انجام شده است، نشان داده است که

بنیادی نشان داده است که تنظیم فرایندهای تکثیر، آپوپتوز و تمایز تحت تأثیر مولکول‌های سطحی غشای پلاسمایی است و از طریق بیان مولکول‌های سطحی زیر مجموعه‌های سلولی و وضعیت‌های تمایزی مختلف توصیف می‌شود (۲۸). همان‌طور که گفته شد، مطالعات زیادی در رابطه با نشانگرهای سطحی سلول‌های بنیادی با منشأهای مختلف انجام شده است (۱۷-۱۴)؛ اما اطلاعات کمی در رابطه با بیان نشانگرهای سطح بعد از تمایز کندروژنیک وجود دارد. در مطالعه‌ی Lee و همکاران نشانگرهای سطحی BMSCs بعد از تمایز کندروژنیک مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه مشخص شد بیان نشانگرهای سطحی CD۴۴، CD۵۸، CD۹۰، CD۱۰۵ و CD۱۶۶ در داربست آلژینات کاهش پیدا می‌کند و بیان نشانگرهای سطحی CD۱۴، CD۲۶، CD۵۴ و CD۱۰۶ در سطوح پایین حفظ می‌شود (۲۱). با این حال، در رابطه با بیان نشانگرهای سطحی بعد از تمایز کندروژنیک در ADSCs مطالعه‌ای یافت نشد. در این مطالعه به منظور افزایش اطلاعات در ارتباط با تغییرات فنوتیپی که بعد از فرایند تمایز صورت می‌گیرد، نشانگر CD۴۴ که در ADSCs مثبت است و همچنین نشانگر CD۱۴ که در این سلول‌ها منفی است، قبل و بعد از تمایز کندروژنیک مورد بررسی قرار گرفتند.

روش‌ها

جداسازی و کشت اولیه‌ی سلول‌های بنیادی از بافت چربی

بافت چربی از چربی زیر جلدی ناحیه‌ی شکم سه نفر با کسب رضایت شخصی به دست آمد و پس از

نشانگرهای سطحی این سلول، مشابه ADSCs است؛ با این تفاوت که این سلول‌ها CD۵۶ و CD۱۴۶ را نیز در سطح خود بیان می‌کنند (۱۷). با این حال، بیان این نشانگرهای سطحی، بسته به چگونگی کشت و روش‌های تحریک، دارای تغییراتی نیز هست.

مدت‌های مدیدی سلول‌های بنیادی مشتق از مغز استخوان (BMSCs) به عنوان اصلی‌ترین منشأ سلول‌های بنیادی برای مهندسی بافت محسوب می‌شدند (۱۵)، اما امروزه به دلیل فراوانی و استخراج آسان سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (ADSCs)، این سلول‌ها به عنوان یکی از منابع اصلی جهت مهندسی بافت غضروف به صورت گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۸). این سلول‌ها می‌توانند به صورت *In vitro* کشت داده شوند و به صورت مطمئن و سریع رشد کنند (۱۹). به علاوه، مشخص شده است که ADSCs پتانسیل کندروژنیک بیشتری نسبت به BMSCs دارند (۲۰) و می‌توانند به رده‌های مختلف کندروژنیک تمایز یابند؛ در حالی که طی پاساژهای مختلف فنوتیپ آن‌ها حفظ می‌شود (۲۱).

بیشتر مطالعاتی که تاکنون پیرامون کندروژنز انجام شده است، روی آگاهی از وضعیت کندروژنیک مؤثر از قبیل داربست‌های سه بعدی، عوامل رشد و روش‌های تحریک مکانیکی تمرکز داشته است (۲۲-۲۵). ارزیابی تمایز کندروژنیک بر اساس بیان فنوتیپ‌های کندروسیتی از قبیل SOX۹، کلاژن نوع II و پروتئوگلیکان‌ها است؛ اما اطلاعات کمی درباره‌ی مکانیسم‌های مولکولی، تغییرات ویژه‌ی الگوی بیان ژن‌ها و تغییرات نشانگرهای سطحی وجود دارد (۲۶-۲۷).

مطالعات انجام شده در زمینه‌ی انواع سلول‌های

آلبومین سرم گاوی (Bovine serum albumin) (Sigma) BSA ۳ μ l شستشو داده شد. سپس ۳ μ l آنتی‌بادی علیه نشانگرهای سطحی CD۴۴ (IQ Products) و CD۱۴ (Becton/Dickinson) به هر لوله به طور مجزا اضافه شد. این دو آنتی‌بادی با ماده‌ی فلورسنت فیکواریترین نشان‌دار شدند. سلول‌ها در آنتی‌بادی به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای آزمایشگاه انکوبه شدند. سپس با PBS شستشو داده شدند و پس از سانتریفیوژ به رسوب سلولی ۵۰۰ μ l PBS اضافه شد و سلول‌های نشان‌دار توسط دستگاه فلوسیتومتر (Becton/Dickinson, San Jose, CA) بررسی شد.

کشت در داربست آلزینات و القای تمایز کندروژنیک

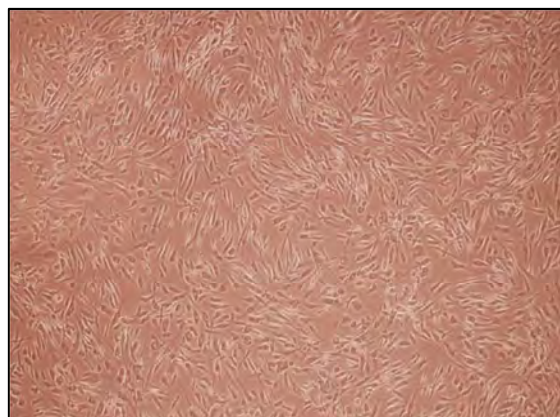
برای کشت در داربست آلزینات و القای تمایز کندروژنیک فلاسک‌های حاوی سلول‌های بنیادی پاساژ سوم با PBS شستشو داده و تریپسینه شدند. پس از جدا شدن سلول‌ها سوسپانسیون سلولی سانتریفیوژ شد و شمارش سلولی انجام گردید و رسوب سلولی به دست آمده با آلزینات ۱/۵ درصد مخلوط شد. به این صورت که به ازای هر ۵ میلیون سلول، ۱ ml آلزینات استفاده شد. سپس مخلوط آلزینات - سلول با استفاده از سرنگ Gage ۲۲ به صورت قطره قطره به محلول کلرید کلسیم ۱۰۵ mM (Merck) موجود در چاهک پلیت ۱۲ خانه (۲/۵ ml) در هر چاهک) اضافه گردید و قطرات (Beads) ژل ماندی حاوی سلول شکل گرفتند. سپس کلرید کلسیم تخلیه شد و به بیدهای آلزینات محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد (۲/۵ ml در هر چاهک) اضافه شد و پس از ۱۰ دقیقه تخلیه گردید و این عمل دوباره

انتقال به آزمایشگاه کشت سلول، تحت شرایط استریل و در زیر هود به قطعات چند میلی‌متری بریده شد و با فسفات بافر سالین (PBS یا Phosphate buffered saline) (Sigma) شستشو داده شد و بافت همبند و عروق خونی آن جدا شد. سپس بافت چربی در محلول کلاژناز نوع IA (Sigma) به میزان ۱ mg به ازای هر گرم بافت چربی قرار داده شد و در دمای ۳۷ C^o به مدت ۶۰ دقیقه انکوبه شد. پس از اطمینان از تجزیه شدن کامل برای خنثی کردن آنزیم هم حجم آنزیم به کار رفته‌ی محیط کشت (Dulbecco's modified Eagle's medium) DMEM (Sigma) حاوی ۱۰ درصد FBS (Fetal bovine serum) (Gibco) و ۱ درصد Penicillin/streptomycin (Gibco) اضافه شد.

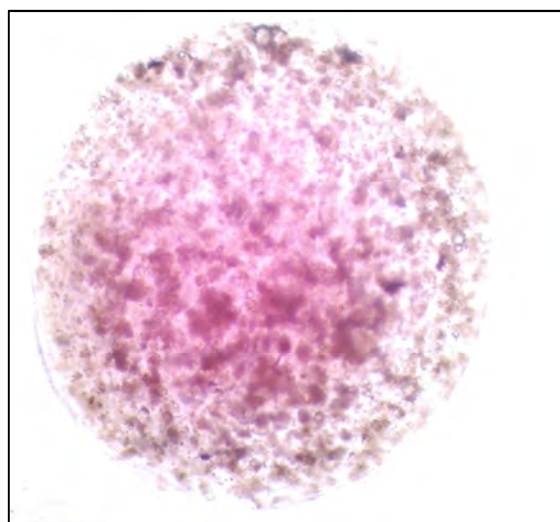
محلول بافتی به دست آمده، سانتریفیوژ شد و رسوب سلولی به دست آمد. به رسوب سلولی به دست آمده، محیط کشت DMEM (Sigma) حاوی ۱۰ درصد FBS (Gibco) اضافه شد و در فلاسک‌های T۲۵ گسترده و در انکوباتور ۳۷ C^o، CO₂ ۵ درصد و رطوبت نسبی قرار داده شد. جهت تخلیه‌ی سلول‌های اضافی، بعد از ۲۴ ساعت تعویض مدیوم انجام شد. پس از آن هر ۳-۴ روز یک بار تعویض مدیوم انجام شد. بعد از پر شدن کف فلاسک‌ها، سلول‌ها به چند فلاسک جدید انتقال پیدا کردند و سلول‌های پاساژ دوم جهت فلوسیتومتری و بررسی نشانگرهای سطحی CD۴۴ و CD۱۴ مورد استفاده قرار گرفتند.

تکنیک فلوسیتومتری

تعداد 1×10^5 سلول در لوله‌های فلوسیتومتری ریخته شد و توسط PBS (Sigma) حاوی ۰/۵ درصد



شکل ۱. تصویر سلول‌های بنیادی مشتق از چربی پاساژ دوم در کشت تک لایه‌ای $\times 4$



شکل ۲. سلول‌های بنیادی کشت داده شده در داربست آلژینات در مدیوم کندروژنیک

این مطالعه با استفاده از استخراج سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی سه نفر انجام شد و نتایج به دست آمده از هر سه یکسان بود. بر اساس نتایج به دست آمده از فلوسیتومتری ADSCs، نشانگر سطحی CD۴۴ را در سطوح بالایی بیان می‌کنند و میانگین بروز این نشانگر در این سلول‌ها، ۹۶/۸ درصد به دست آمده است. این نشانگر همچنین در سلول‌های بنیادی تمایز یافته در داربست آلژینات

تکرار شد. بعد از آن هم ۱/۵ ml محیط کشت DMEM-high glucose (Sigma) خالص به هر چاهک اضافه و تخلیه شد. در نهایت، به هر چاهک که حاوی بیدهای آلژینات بود، ۲ ml مدیوم کندروژنیک حاوی DMEM highglucose، (Sigma) TGF- $\beta 3$ (۱۰ ng/ml)، (Sigma) ITS (transferrin-sodium) ۱ درصد (Gibco)، (Sigma) ASP (۵۰ μ g/ml) BSA، ۱ درصد (Gibco)، Penicillin/streptomycin ۱ درصد (Gibco)، (Sigma) Dexamethasone 10^{-7} M و (Sigma) Linoleic acid اضافه شد و در انکوباتور 37°C و ۵ درصد CO_2 نگهداری و هر ۴ روز، مدیوم آن تعویض گردید.

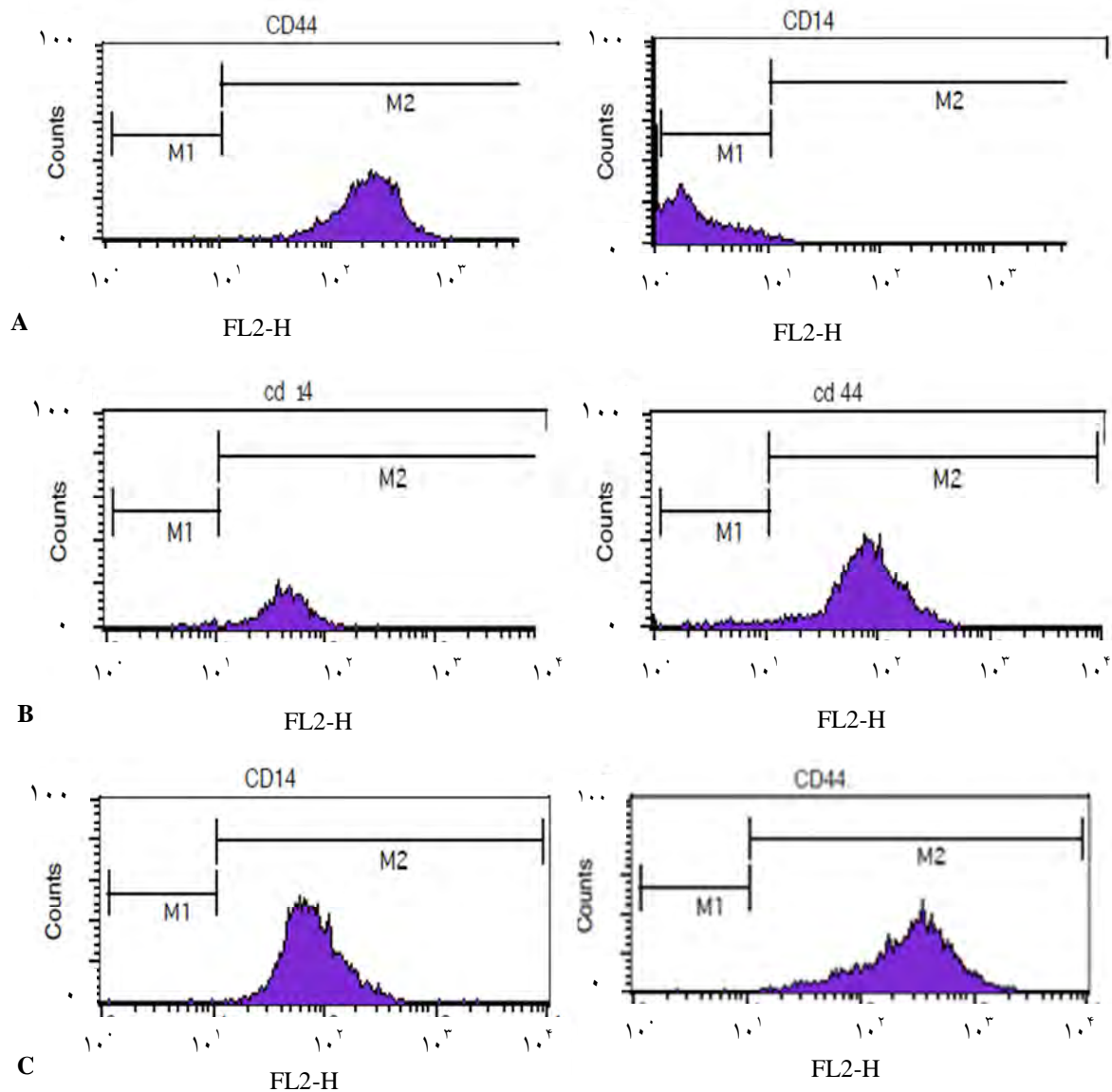
یک گروه از این سلول‌ها پس از ۷ روز و گروه دیگر پس از ۱۴ روز با استفاده از سدیم سیترات از آلژینات خارج گردید؛ به این صورت که ابتدا مدیوم رویی تخلیه و سپس ۲ بار با PBS شستشو داده شد و به هر چاهک ۱/۵ ml سدیم سیترات اضافه شد. پس از کمی پیپت کردن، بیدها تجزیه و سلول‌ها شناور شدند و سانتیفریوژ و شمارش سلولی انجام شد و از این سلول‌ها جهت بررسی نشانگرهای CD۴۴ و CD۱۴ از طریق فلوسیتومتری (Becton Dickinson, San Jose, CA) استفاده شد.

یافته‌ها

در بررسی سلول‌های بنیادی مشتق از چربی با استفاده از میکروسکوپ اینورت سلول‌ای پاساژ دوم در کشت تک لایه‌ای، دوکی شکل، دارای زواید سیتوپلاسمی و به صورت یکنواخت قابل مشاهده بودند (شکل ۱).

نشانگر در سلول‌های بنیادی تمایز یافته در داربست آلژینات بیان شد و میانگین بروز آن در روز ۷ و روز ۱۴ بررسی شد که به ترتیب ۹۹/۷ و ۹۹/۹ درصد بود (شکل ۳).

(شکل ۲) در روز ۷ و روز ۱۴ بررسی شد که میانگین بروز آن به ترتیب ۹۶/۳ و ۵۲/۸ درصد بود. نشانگر سطحی CD۱۴ نیز در ADSCs بررسی شد و در ۹۸/۶ درصد از این سلول‌ها بیان گردید، اما این



شکل ۳. A) در ADSCs (Adipose tissue-derived stem cells) نشانگر سطحی CD۴۴ در ۹۶/۸ درصد از سلول‌ها بیان شد، اما CD۱۴ در ۹۸/۶ درصد از این سلول‌ها بیان نشد. B) در کندروسیت‌های تمایز یافته در داربست آلژینات در روز ۷ نشانگر سطحی CD۴۴ در ۹۶/۳ درصد از سلول‌ها بیان شد و نشانگر سطحی CD۱۴ در ۹۹/۷ درصد از سلول‌ها بیان شد. C) در کندروسیت‌های تمایز یافته در داربست آلژینات در روز ۱۴، نشانگر سطحی CD۴۴ در ۵۲/۸ درصد از سلول‌ها بیان شد و نشانگر سطحی CD۱۴ در ۹۹/۹ درصد از سلول‌ها بیان شد.

بحث

یکی از ویژگی‌های اساسی که برای سلول‌های بنیادی مطرح می‌شود، بیان نشانگرهای سطحی خاص در سطح این سلول‌ها است (۲۹-۳۰). مطالعات زیادی در این باره انجام شده و مشخص گردیده است که گروهی از این نشانگرهای سطحی در سطح این سلول‌ها بیان می‌شوند و گروهی دیگر بیان نمی‌شوند (۳۱-۳۳، ۱۴-۱۵). یکی از این نشانگرهای سطحی مثبت در سلول‌های بنیادی، CD۴۴ است (۱۴). CD۴۴ رسپتور هیالورونان است و نقش مهمی در تکامل ماتریکس خارج سلولی دارد و به عنوان یک رابط ضروری در حفظ تراکم هیالورونان-پروتئوگلیکان دارد (۱۵).

این نشانگر در مراحل اولیه کندروژنز در هنگام متراکم شدن (Condensation) سلول‌های بنیادی بیان می‌شود و نقش مهمی در کندروژنز دارد (۳۴). همچنین جمعیت‌های سلولی دارای CD۴۴، GAG (Glycosaminoglycan) و کلاژن II بیشتری تولید می‌کنند (۹). در این مطالعه، CD۴۴ در ADSCs در سطح بالایی بیان شد و با مطالعات قبلی مطابقت دارد. در مطالعه‌ای که هاشمی بنی و همکاران روی ADSCs انجام دادند، این نشانگر در ۸۷/۱۴ درصد سلول‌ها بیان شد (۳۵). همچنین در مطالعه‌ای علی‌پور و همکاران CD۴۴ هم در ADSCs و هم SHED در سطوح بالایی بیان شد (۱۷). در مطالعه‌ای که Jo و همکاران روی سلول‌های بنیادی مشتق از سینوویوم انجام دادند، CD۴۴ در ۹۰/۵۳ درصد سلول‌ها بیان شد (۳۶).

در مطالعه‌ای حاضر CD۴۴ در سلول‌های بنیادی تمایز یافته در داربست آلژینات در روز ۷ در سطوح بالایی بیان شد، اما بیان آن در روز ۱۴ کاهش پیدا

کرد که با نتایج Lee و همکاران موافق بود (۲۱). در مطالعه‌ی آن‌ها نشانگر CD۴۴ در سلول‌های بنیادی مشتق از مغز استخوان (BMSCs) در پاساژ سوم در ۹۸/۵۲ درصد سلول‌ها بیان شد و میزان بیان آن در سلول‌های بنیادی کشت داده شده در داربست آلژینات، پس از ۲ هفته ۴۲/۷۱ درصد بود که مشابه با نتایج مطالعه‌ی حاضر در روز ۱۴ بود.

در مطالعه‌ی Diaz-Romero و همکاران مشخص شد که CD۴۴ در سطح کندروسیت‌های طبیعی انسان (HAC یا Human articular chondrocytes) بیان می‌شود و بیان آن ۲۴ ساعت پس از جدا شدن، ۹۷/۶۱ درصد گزارش شده است (۳۷). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که CD۴۴ نشانگر سطحی سلول‌های بنیادی است؛ به علاوه، این نشانگر در کندروسیت‌های طبیعی نیز بیان می‌شود، اما بیان آن طی تمایز کندروژنیک ADSC کاهش می‌یابد. این امر می‌تواند نشانگر این باشد که محیط کشتی که در آزمایشگاه به صورت مصنوعی جهت کندروژنز فراهم می‌شود، به طور کامل مشابه حالت طبیعی آن در موجود زنده نیست و این موضوع نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

CD۱۴ رسپتور لیپوپلی ساکارید است و در ماکروفاژها و مونوسیت‌ها بیان می‌شود، اما این نشانگر در ADSCs بیان نمی‌گردد (۳۸). در مطالعه‌ی Diaz-Romero و همکاران مشخص شد که این نشانگر در کندروسیت‌های طبیعی انسان (HAC) که ۲۴ ساعت از جدا شدن آن‌ها می‌گذرد، بیان می‌شود؛ اما بیان آن بعد از ۲ هفته به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد که به علت تمایزدایی (Dedifferentiation) سلول‌ها طی کشت است (۳۷).

CD۱۴ و همکاران مشخص شد که CD۱۴ نشانگری است که در کندروسیت‌های طبیعی بیان می‌شود. بنابراین می‌توان از این نشانگر برای تشخیص کندروسیت‌های تمایز یافته در کنار روش‌های دیگر استفاده کرد (۳۷).

با توجه به این که تعداد زیادی از نشانگرهای سطحی در سطح ADSCs و HAC بیان می‌شود، برای مشخص کردن تغییرات تمام این نشانگرها طی فرایند کندروژنز نیاز به مطالعات بیشتری است.

بنابراین انتظار می‌رود طی تمایز کندروژنیک ADSCs و القای کندروژنز، این نشانگر در سطح کندروسیت‌های تمایز یافته بیان شود. در مطالعه‌ی حاضر CD۱۴ در ADSCs در ۹۸/۶ درصد از سلول‌ها بیان نشد که با مطالعات Jo و همکاران (۳۶)، هاشمی بنی و همکاران (۳۵) و علی پور و همکاران (۱۷) موافق بود؛ اما این نشانگر در سلول‌های تمایز یافته در داربست آلزینات در روز ۷ و ۱۴ در سطوح بالایی بیان شد و همان‌طور که گفته شد، در مطالعات

References

- Hardingham T, Tew S, Murdoch A. Tissue engineering: chondrocytes and cartilage. *Arthritis Res* 2002; 4(Suppl 3): S63-S68.
- Mansour JM, Mow VC. The permeability of articular cartilage under compressive strain and at high pressures. *J Bone Joint Surg Am* 1976; 58(4): 509-16.
- Campbell DD, Pei M. Surface markers for chondrogenic determination: a highlight of synovium-derived stem cells. *Cells* 2012; 1(4): 1107-20.
- Josh F, Kobe K, Tobita M, Tanaka R, Suzuki K, Ono K, et al. Accelerated and safe proliferation of human adipose-derived stem cells in medium supplemented with human serum. *J Nippon Med Sch* 2012; 79(6): 444-52.
- Al-Nbaheen M, Vishnubalaji R, Ali D, Bouslimi A, Al-Jassir F, Megges M, et al. Human stromal (mesenchymal) stem cells from bone marrow, adipose tissue and skin exhibit differences in molecular phenotype and differentiation potential. *Stem Cell Rev* 2013; 9(1): 32-43.
- Hutmacher DW, Sittering M. Periosteal cells in bone tissue engineering. *Tissue Eng* 2003; 9(Suppl 1): S45-S64.
- Cao B, Zheng B, Jankowski RJ, Kimura S, Ikezawa M, Deasy B, et al. Muscle stem cells differentiate into haematopoietic lineages but retain myogenic potential. *Nat Cell Biol* 2003; 5(7): 640-6.
- De Bari C, Dell'Accio F, Tylzanowski P, Luyten FP. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis Rheum* 2001; 44(8): 1928-42.
- Chen Y, Shao JZ, Xiang LX, Dong XJ, Zhang GR. Mesenchymal stem cells: a promising candidate in regenerative medicine. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40(5): 815-20.
- Crop M, Baan C, Weimar W, Hoogduijn M. Potential of mesenchymal stem cells as immune therapy in solid-organ transplantation. *Transpl Int* 2009; 22(4): 365-76.
- Jones E, McGonagle D. Human bone marrow mesenchymal stem cells in vivo. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47(2): 126-31.
- Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair--current views. *Stem Cells* 2007; 25(11): 2896-902.
- Djouad F, Bony C, Haupl T, Uze G, Lahlou N, Louis-Plence P, et al. Transcriptional profiles discriminate bone marrow-derived and synovium-derived mesenchymal stem cells. *Arthritis Res Ther* 2005; 7(6): R1304-R1315.
- Gimble J, Guilak F. Adipose-derived adult stem cells: isolation, characterization, and differentiation potential. *Cytotherapy* 2003; 5(5): 362-9.
- Strem BM, Hicok KC, Zhu M, Wulur I, Alfonso Z, Schreiber RE, et al. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med* 2005; 54(3): 132-41.
- Dominici M, Le BK, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8(4): 315-7.
- Alipour R, Sadeghi F, Hashemi-Beni B, Zarkesh-Esfahani SH, Heydari F, Mousavi SB, et al. Phenotypic characterizations and

- comparison of adult dental stem cells with adipose-derived stem cells. *Int J Prev Med* 2010; 1(3): 164-71.
18. da Silva ML, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci* 2006; 119(Pt 11): 2204-13.
19. Lin TM, Tsai JL, Lin SD, Lai CS, Chang CC. Accelerated growth and prolonged lifespan of adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells in a medium using reduced calcium and antioxidants. *Stem Cells Dev* 2005; 14(1): 92-102.
20. De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, Alfonso Z, Zuk PA, Zhu M, et al. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs* 2003; 174(3): 101-9.
21. Lee HJ, Choi BH, Min BH, Park SR. Changes in surface markers of human mesenchymal stem cells during the chondrogenic differentiation and dedifferentiation processes in vitro. *Arthritis Rheum* 2009; 60(8): 2325-32.
22. Angele P, Yoo JU, Smith C, Mansour J, Jepsen KJ, Nerlich M, et al. Cyclic hydrostatic pressure enhances the chondrogenic phenotype of human mesenchymal progenitor cells differentiated in vitro. *J Orthop Res* 2003; 21(3): 451-7.
23. Indrawattana N, Chen G, Tadokoro M, Shann LH, Ohgushi H, Tateishi T, et al. Growth factor combination for chondrogenic induction from human mesenchymal stem cell. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 320(3): 914-9.
24. Lee HJ, Choi BH, Min BH, Son YS, Park SR. Low-intensity ultrasound stimulation enhances chondrogenic differentiation in alginate culture of mesenchymal stem cells. *Artif Organs* 2006; 30(9): 707-15.
25. Goldring MB, Tsuchimochi K, Ijiri K. The control of chondrogenesis. *J Cell Biochem* 2006; 97(1): 33-44.
26. Sekiya I, Vuoristo JT, Larson BL, Prockop DJ. In vitro cartilage formation by human adult stem cells from bone marrow stroma defines the sequence of cellular and molecular events during chondrogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(7): 4397-402.
27. Ylostalo J, Smith JR, Pochampally RR, Matz R, Sekiya I, Larson BL, et al. Use of differentiating adult stem cells (marrow stromal cells) to identify new downstream target genes for transcription factors. *Stem Cells* 2006; 24(3): 642-52.
28. Diaz-Romero J, Gaillard JP, Grogan SP, Nestic D, Trub T, Mainil-Varlet P. Immunophenotypic analysis of human articular chondrocytes: changes in surface markers associated with cell expansion in monolayer culture. *J Cell Physiol* 2005; 202(3): 731-42.
29. Tapp H, Hanley EN, Jr., Patt JC, Gruber HE. Adipose-derived stem cells: characterization and current application in orthopaedic tissue repair. *Exp Biol Med (Maywood)* 2009; 234(1): 1-9.
30. Pilz GA, Braun J, Ulrich C, Felka T, Warstat K, Ruh M, et al. Human mesenchymal stromal cells express CD14 cross-reactive epitopes. *Cytometry A* 2011; 79(8): 635-45.
31. Varma MJ, Breuls RG, Schouten TE, Jurgens WJ, Bontkes HJ, Schuurhuis GJ, et al. Phenotypical and functional characterization of freshly isolated adipose tissue-derived stem cells. *Stem Cells Dev* 2007; 16(1): 91-104.
32. Kolf CM, Cho E, Tuan RS. Mesenchymal stromal cells. Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. *Arthritis Res Ther* 2007; 9(1): 204.
33. Mitchell JB, McIntosh K, Zvonic S, Garrett S, Floyd ZE, Kloster A, et al. Immunophenotype of human adipose-derived cells: temporal changes in stromal-associated and stem cell-associated markers. *Stem Cells* 2006; 24(2): 376-85.
34. Knudson CB, Knudson W. Hyaluronan and CD44: modulators of chondrocyte metabolism. *Clin Orthop Relat Res* 2004; (427 Suppl): S152-S162.
35. Hashemibeni B, Razavi Sh, Esfandiary E, Salehi M, Karbasi S, Mardani M, et al. The effect of BMP-6 growth factor on differentiation of adipose-derived stem cells into chondrocyte in pellet culture system. *J Isfahan Med Sch* 2009; 27(100): 618-31. [In Persian].
36. Jo CH, Ahn HJ, Kim HJ, Seong SC, Lee MC. Surface characterization and chondrogenic differentiation of mesenchymal stromal cells derived from synovium. *Cytotherapy* 2007; 9(4): 316-27.
37. Diaz-Romero J, Nestic D, Grogan SP, Heini P, Mainil-Varlet P. Immunophenotypic changes of human articular chondrocytes during monolayer culture reflect bona fide dedifferentiation rather than amplification of progenitor cells. *J Cell Physiol* 2008; 214(1): 75-83.
38. Ziegler-Heitbrock HW, Ulevitch RJ. CD14: cell surface receptor and differentiation marker. *Immunol Today* 1993; 14(3): 121-5.

Comparison of CD44 and CD14 Surface Markers in Adipose-Derived Stem Cells and Differentiated Chondrocytes during Chondrogenesis

Ronak Zarei¹, Batoul Hashemibeni PhD², Ebrahim Esfandiary MD, PhD³, Ali Valiani PhD², Fariborz Kianpuor MSc⁴, Maryam Aliakbri⁵

Original Article

Abstract

Background: Nowadays, adipose-derived stem cells (ADSCs) are widely used for cartilage tissue engineering. However, most studies are in the field of scaffolds, growth factors and mechanical stimulation methods. But, few studies have been conducted regarding changes in surface markers during chondrogenesis. Accordingly, this study aimed to assess the changes in surface markers CD14 and CD44 during chondrogenesis.

Methods: Human subcutaneous adipose tissue were isolated and cultured from 3 persons influenced by collagenase enzyme and stem cells. The cells of second passage were used for flow cytometry analysis of CD14 and CD44 surface markers. Second passage cells were cultured in alginate scaffolds under the influence of chondrogenic medium. Differentiated cells at the days 7 and 14 were used to evaluate CD14 and CD44 surface markers.

Findings: The mean expression of CD44 in ADSCs was 96.8% but CD14 did not expressed in 98.6% of the cells. In stem cells, the mean expression of CD44 differentiated in alginate scaffolds on the day 7 was 96.3%; but on the day 14, it fell to 52.8%. The mean expression of CD14 at the days 7 and 14 was 99.7% and 99.9%, respectively.

Conclusion: Our investigation revealed that the stem cells and differentiated cells at the day 7 express CD44 at high level, but at day 14, the expression of CD44 in differentiated cells is reduced. CD14 is not expressed on stem cells but in differentiated cells is expressed in high level. Due to these changes in surface markers during chondrogenesis, using them can be offered to determine chondrogenesis and to compare differentiated and normal chondrocytes.

Keywords: Adipose-derived stem cells, Chondrogenesis, Tissue engineering, CD44, CD14

Citation: Zarei R, Hashemibeni B, Esfandiary E, Valiani A, Kianpuor F, Aliakbri M. **Comparison of CD44 and CD14 Surface Markers in Adipose-Derived Stem Cells and Differentiated Chondrocytes during Chondrogenesis.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(284): 621-30

* This paper is derived from a MSc thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

1- MSc Student, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

4- Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Batoul Hashemibeni PhD, Email: hashemibeni@med.mui.ac.ir

شناسایی و طبقه‌بندی خودکار نواحی خونریزی مغزی با استفاده از ماشین بردار پشتیبان چند کلاسه در تصاویر سی تی اسکن

بهاره شاهنگیان^۱، دکتر حسین پورقاسم^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: خونریزی مغزی ناشی از ضربه به سر، یکی از عوامل شایع مرگ و میر می‌باشد. تشخیص به موقع محل و نوع خونریزی از اهمیت زیادی برخوردار است؛ به طوری که نجات جان این بیماران به طور کامل به تشخیص زودهنگام محل و نوع خونریزی بستگی دارد. در این مقاله یک روش خودکار شناسایی و طبقه‌بندی نواحی خونریزی مغزی به منظور ارتقای دقت و سرعت تصمیم‌گیری پزشک معرفی شده است.

روش‌ها: ابتدا از یک روش ناحیه‌بندی برای شناسایی و جداسازی خونریزی از سایر قسمت‌های مغز استفاده شد. پس از آن به استخراج ویژگی‌های گوناگون از هر ناحیه‌ی خونریزی پرداخته شد و سپس با کمک الگوریتم ژنتیک، بهترین آن‌ها جهت تحویل به یک طبقه‌بند انتخاب گردیدند. تصاویر مورد استفاده در این تحقیق، از دستگاه سی تی اسکن بیمارستان کاشانی جمع‌آوری شدند و مربوط به ۷۰ بیمار زن و مرد بین گروه سنی ۶۰-۱۵ سال بودند. این افراد، مشکوک به خونریزی‌های ای‌دورال، ساب‌دورال، اینتراسربرال، داخل بطنی و یا بدون خونریزی (سالیم) بودند.

یافته‌ها: با استفاده از روش شناسایی و طبقه‌بندی پیشنهادی، صحت شناسایی انواع خونریزی (Extradural haematoma) EDH، (Intracerebral hemorrhage) SDH، (Subdural haemorrhage) SDH) به ترتیب مقادیر ۹۶/۸۷، ۹۶/۱۰ و ۹۲/۱۵ درصد به دست آمد. همچنین خونریزی (Intraventricular hemorrhage) IVH با صحت ۹۱/۸۲ شناسایی و از بقیه‌ی انواع خونریزی جدا شد. در مرحله‌ی طبقه‌بندی، صحت طبقه‌بندی و تشخیص نوع هر یک از انواع خونریزی ۹۴/۱۳ درصد به دست آمد.

نتیجه‌گیری: در این مقاله، یک روش مستقل و خودکار شناسایی و طبقه‌بندی خونریزی مغزی ارائه شده است. روش ارائه شده تلاشی در جهت ارتقای دقت تشخیص پزشکان و تسریع تصمیم‌گیری آن‌ها به منظور نجات جان بیماران است. با استفاده از روش ارائه شده، ۴ نوع خطرناک خونریزی در تصاویر سی تی اسکن تشخیص داده و انواع آن‌ها طبقه‌بندی شدند که از این طریق، فرایند درمان بیماران مبتلا به ضربه‌ی مغزی تسریع می‌گردد.

واژگان کلیدی: خونریزی مغزی، بخش‌بندی، الگوریتم ژنتیک، طبقه‌بند k-nearest neighbors، طبقه‌بند Support vector machines

ارجاع: شاهنگیان بهاره، پورقاسم حسین. شناسایی و طبقه‌بندی خودکار نواحی خونریزی مغزی با استفاده از ماشین بردار پشتیبان

چند کلاسه در تصاویر سی تی اسکن. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۴): ۶۴۶-۶۳۱

خونریزی از اهمیت زیادی برخوردار است؛ به طوری که نجات جان بیماران دچار ضربه‌ی مغزی، به طور کامل به آشکارسازی و تشخیص زودهنگام محل و نوع خونریزی بستگی دارد. به طور کلی، انواع

مقدمه

خونریزی مغزی یکی از عوامل شایع مرگ و میر به خصوص در گروه سنی ۳۰-۱۵ سال می‌باشد. در خونریزی مغزی تشخیص به موقع محل و نوع

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مخابرات، دانشکده‌ی مهندسی برق، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف‌آباد، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه مخابرات، دانشکده‌ی مهندسی برق، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف‌آباد، اصفهان، ایران

Email: h_pourghasem@iaun.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: دکتر حسین پورقاسم

(۱۲). در این روش، تنها خونریزی نوع EDH مورد بررسی قرار گرفته است.

در شناسایی و طبقه‌بندی خونریزی مغزی از تصاویر سی تی اسکن، مشکلاتی وجود دارد، از جمله وجود نویز (سیگنال ناخواسته) و قسمت‌های اضافه‌ای مانند جمجمه، بطن‌های مغز و تورم بافت نرم (Soft tissue edema)؛ موقعیت نامعلوم خونریزی مغزی در بعضی از انواع آن و شباهت شکل و بافت موجود بین بعضی انواع خونریزی که منجر به استخراج ویژگی‌های تکراری و در نتیجه کاهش صحت طبقه‌بندی می‌شود.

در این مقاله به منظور غلبه بر مشکلات ذکر شده و همچنین مشکلات روش‌های قبلی ارائه شده در زمینه‌ی شناسایی خونریزی مغزی، یک روش خودکار شناسایی و طبقه‌بندی نواحی خونریزی مغزی معرفی می‌گردد.

روش‌ها

بلوک دباگرام روش پیشنهادی در شکل ۱ نمایش داده شده است. در این روش، ابتدا در مرحله‌ی پیش پردازش قسمت‌هایی که ممکن است باعث کاهش صحت بخش‌بندی شوند، از جمله جمجمه، بطن‌های مغز، تورم بافت نرم و نویز (سیگنال ناخواسته) حذف می‌شوند (از آن جا که خونریزی نوع IVH در بطن‌های مغز رخ می‌دهد، با حذف بطن‌ها این نوع خونریزی حذف می‌شود). در مرحله‌ی بعد، نواحی خونریزی (در صورت وجود) با استفاده از الگوریتم بهبود یافته تابع تنظیم فاصله‌ی مجموعه‌ی سطح Modified distance regularized level (MDRLSE) (set evolution technique) شناسایی و بخش‌بندی می‌شوند. چنانچه در این مرحله هیچ ناحیه‌ی

خونریزی‌های مغزی عبارت از اپی‌دورال (EDH) یا Extradural haematoma)، ساب‌دورال (SDH) یا Subdural haemorrhage)، اینتراسربرال (ICH) یا Intracerebral hemorrhage)، داخل بطنی (IVH) یا Intraventricular hemorrhage) و ساب‌آراکنوئید (Subarachnoid hemorrhage یا SAH) می‌باشند.

در این مطالعه چهار نوع خونریزی EDH، ICH، SDH و IVH مورد بررسی قرار گرفتند؛ زیرا این خونریزی‌ها به دلیل حجم بالا یا موقعیت خطرناک خونریزی، شایع‌ترین علت مرگ بیماران دچار خونریزی مغزی ناشی از ضربه به سر می‌باشند. تا به حال مقالات محدودی در زمینه‌ی بخش‌بندی و طبقه‌بندی خونریزی مغزی ارائه شده است. رایج‌ترین روش‌های استفاده شده در این زمینه را می‌توان به دو دسته تقسیم کرد:

- روش‌های بخش‌بندی و شناسایی خونریزی مغزی، از جمله آستانه‌گذاری (۳-۱)، رشد ناحیه (۴-۵)، کانتورهای فعال (۶-۵) و خوشه‌بندی (۷)، - روش‌های طبقه‌بندی خونریزی مغزی، از جمله K- نزدیک‌ترین همسایه (۸)، ماشین بردار پشتیبان (۹)، شبکه‌ی عصبی (۱۰) و درخت تصمیم‌گیری (۱۱).

Lauric از روش‌های Fuzzy c-means و طبقه‌بند بیزین (Bayesian classifier) به منظور بخش‌بندی و طبقه‌بندی نواحی خونریزی مغزی استفاده کرد (۲). اگر چه این روش توانست نواحی خونریزی مغزی را از بافت مغز جدا کند، اما به دلیل عدم حذف جمجمه و بطن‌های مغز، روش آن‌ها قادر به تفکیک خونریزی از این قسمت‌ها نبود. در پژوهشی از روش Thresholding و خوشه‌بندی K-means به منظور شناسایی نواحی خونریزی مغزی استفاده شده است

خونریزی یافت نشود، خونریزی متعلق به کلاس IVH یا طبیعی می‌باشد که با بررسی تصویر اصلی، کلاس خونریزی مشخص می‌شود. اما چنانچه در مرحله‌ی بخش‌بندی ناحیه‌ی خونریزی یافت شود، از هر ناحیه‌ی خونریزی پیدا شده، تعدادی ویژگی در ارتباط با شکل، اندازه، موقعیت و بافت خونریزی استخراج می‌شود. پس از آن، به منظور ارتقای صحت طبقه‌بندی، بهترین ویژگی‌ها انتخاب و در مرحله‌ی بعد، انواع خونریزی‌ها طبقه‌بندی شده است. جزئیات روش پیشنهادی در ادامه آمده است.

پیش پردازش

بعضی از خصوصیات تصاویر سی تی اسکن مغز باعث بروز مشکلاتی در بخش‌بندی و طبقه‌بندی این تصاویر می‌شوند. این خصوصیات عبارت از نویز (سیگنال ناخواسته) بالای تصاویر و وجود قسمت‌هایی از جمله جمجمه، بطن‌های مغز و تورم بافت نرم هستند. در مرحله‌ی پیش پردازش، تلاش می‌شود با حذف نویز و قسمت‌های اضافی پیش‌گفته، کیفیت این تصاویر و در نتیجه صحت روش پیشنهادی ارتقا یابد.

حذف جمجمه و بطن‌های مغز

همان‌طور که در شکل ۲.ب مشخص است، در

تصاویر سی تی اسکن وجود دارد. از آن جا که بطن‌های مغز و جمجمه به ترتیب سیاه و سفید رنگ می‌باشند؛ بنابراین اولین پیک، P_1 ، متعلق به بطن‌های مغز و سومین پیک، P_3 ، متعلق به جمجمه است. با در نظر گرفتن این نکته می‌توان جمجمه و بطن‌های مغز را از طریق صفر کردن پیکسل‌های کوچک‌تر از α_1 و بزرگ‌تر از α_2 حذف کرد (شکل ۲.ج و شکل ۲.د). تعیین مقادیر صحیح α_1 و α_2 نقش بسیار مهمی در حذف جمجمه و بطن‌های مغز ایفا می‌کند. این حدود باید طوری تعریف شوند تا ضمن تغییر خودکار به ازای تصاویر مختلف، در محدوده‌ای باقی بمانند که فقط قسمت‌های مورد نظر (جمجمه و بطن‌های مغز) حذف بشوند. با توجه به این نکات α_1 و α_2 توسط روابط زیر تعریف می‌شوند:

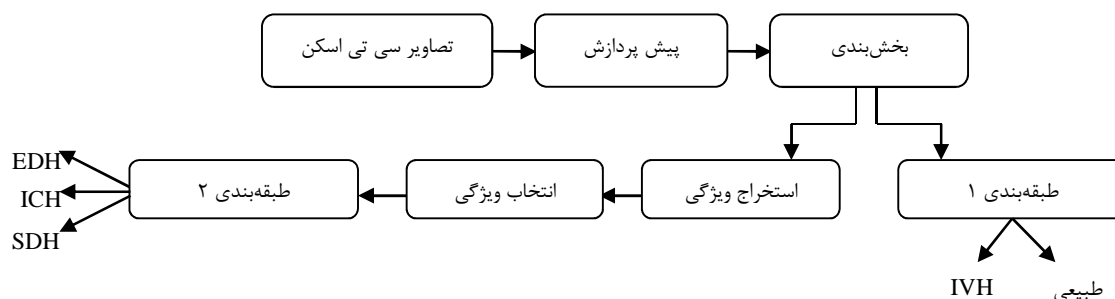
$$\alpha_1 = \beta \times m_1 \quad (1)$$

$$\alpha_2 = m_1 - m_2 \quad (2)$$

که β یک عدد ثابت و m_1 حداکثر سطح خاکستری تصویر است. m_2 از رابطه‌ی زیر به دست می‌آید:

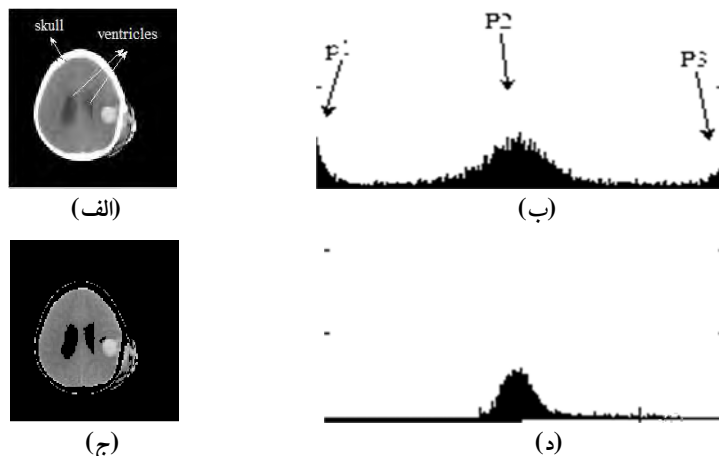
$$m_2 = \text{Med-Mean} \quad (3)$$

که Mean و Med به ترتیب بیانگر میانه و میانگین تصویر می‌باشند.



EDH: Extradural haematoma; ICH: Intracerebral hemorrhage; SDH: Subdural haemorrhage; IVH: Intraventricular hemorrhage

شکل ۱. بلوک دیاگرام روش پیشنهادی



شکل ۲. الف) تصویر اصلی، ب) هیستوگرام تصویر اصلی، ج) تصویر بعد از حذف جمجمه و بطن‌های مغز، د) هیستوگرام تصویر پس از حذف جمجمه و بطن‌های مغز

حذف تورم بافت نرم بر اساس آنالیز حباب

(Blob analysis)

در بعضی از موارد به دلیل شدت ضربه‌ی وارده به سر، قسمت اضافی‌ای به نام تورم بافت نرم (Soft tissue edema) در خارج از جمجمه به وجود می‌آید. به دلیل شباهت سطوح خاکستری برآمدگی بافت نرم و خونریزی مغز، ممکن است این قسمت‌ها به اشتباه، خونریزی تشخیص داده شوند و باعث خطا در شناسایی خونریزی مغزی گردند (شکل ۴.الف). برای حذف این قسمت‌های اضافه، از آنالیز حباب استفاده می‌شود. با استفاده از آنالیز حباب قسمتی از تصویر که بزرگ‌ترین مساحت را دارد پیدا کردیم (شکل ۴.ب) و سپس با ضرب این قسمت به عنوان ماسک در تصویر به دست آمده از مرحله‌ی قبل، قسمت‌های اضافی پیش‌گفته حذف شدند (شکل ۴.ج).

(۴)

$$m(i, j) = \begin{cases} 1 & \text{for every } (i, j) \text{ in region } P \\ 0 & \text{Otherwise} \end{cases}$$

که در آن

حذف نویز و تنظیم شدت نور

همان‌طور که در شکل ۳.الف مشخص است، پس از حذف جمجمه و بطن‌های مغز، در این مرحله با دو مشکل وجود نویز در تصاویر سی‌تی اسکن و خطوط به جا مانده پس از حذف جمجمه مواجهیم. با اعمال فیلتر مدین و تنظیم شدت نور تصویر، به رفع این دو مشکل پرداختیم (شکل ۳.ب). به دلیل وجود نویز فرکانس بالا در تصاویر خونریزی مغزی از فیلتر مدین برای حذف نویز این تصاویر استفاده می‌شود. این فیلتر پایین‌گذر، ضمن حفظ لبه‌ها به حذف نویز تصویر می‌پردازد (۱۳).



(الف)

(ب)

شکل ۳. الف) تصویر پس از حذف جمجمه و بطن‌های مغز ب) تصویر پس از حذف نویز و تنظیم شدت نور

(۵)

$$R(x,y) = m(i,j) \times i(m,n) \\ = \begin{cases} i(m,n) & \text{for every } (i,j) \text{ in region } p \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases}$$

که در آن، $m(i,j)$ ماسک تصویر، $i(m,n)$ تصویر به دست آمده از مرحله قبل، P قسمتی از تصویر که بزرگ‌ترین مساحت را دارد و $R(x,y)$ تصویر به دست آمده پس از حذف تورم بافت نرم است.

شناسایی و بخش بندی ناحیه خونریزی

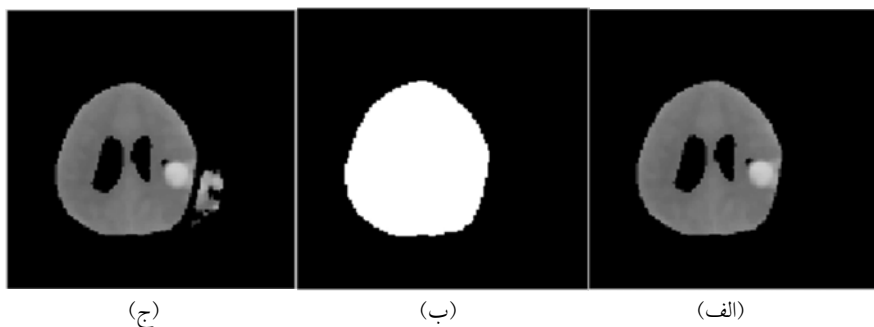
پس از طی مراحل قبل و انجام پیش پردازش‌های لازم، اکنون سعی می‌شود با استفاده از الگوریتم بهبود یافته‌ی تابع تنظیم فاصله‌ی مجموعه‌ی سطح، ناحیه‌ی خونریزی از سایر قسمت‌های مغز جدا شود.

الگوریتم بهبود یافته‌ی تابع تنظیم فاصله‌ی مجموعه‌ی سطح (MDRLSE)

روش تنظیم فاصله‌ی مجموعه‌ی سطح (DRLSE) یک روش پیاده‌سازی کانتورهای فعال می‌باشد (۱۴). هدف اصلی این روش، نمایش یک کانتور به عنوان سطح صفر (کانتور اولیه) یک تابع سه بعدی بدون نیاز به بازآغازی است. در این روش، کانتور اولیه به صورت یک تابع باینری و به فرم مستطیل در نظر گرفته می‌شود، این امر منجر به تعداد تکرارهای زیاد، دقت پایین و زمان طولانی برای شناسایی ناحیه‌ی مطلوب می‌گردد. از آن جا که زمان و دقت دو عامل

مهم در زمینه‌ی خونریزی مغزی می‌باشند، در این مقاله یک روش ابتکاری به منظور رفع این معایب و شناسایی نواحی خونریزی مغزی ارائه شده است. در روش ارائه شده که بهبود یافته‌ی روش تنظیم فاصله‌ی مجموعه‌ی سطح است، برای هر تصویر کانتور اولیه‌ی متناسب با نوع خونریزی آن تصویر به طور خودکار در نظر گرفته می‌شود که این امر، باعث می‌شود به ازای تعداد تکرارهای کمتر و زمان سریع‌تر، حتی کوچک‌ترین نواحی خونریزی نیز یافت شوند.

ساختار الگوریتم پیشنهادی به این صورت می‌باشد که ابتدا از روش آستانه‌گذاری و فقی (Adaptive thresholding) جهت شناسایی و جداسازی تقریبی خونریزی مغزی از بافت مغز استفاده می‌شود. از نتیجه‌ی به دست آمده جهت ایجاد یک کانتور اولیه ϕ_0 استفاده می‌شود. در مرحله‌ی بعد، به منظور تحول سریع و دقیق تابع مجموعه‌ی سطح به تخمین بهینه‌ی پارامترهای کنترلی پرداخته می‌شود. به عبارت دیگر در ساختار پیشنهادی، کانتور اولیه‌ی تعریف شده بر روی مرزهای شکل حرکت می‌کند و آن قدر تغییر شکل می‌دهد تا بر اساس پارامترهای کنترلی تنظیم شود و توقف کند و در حد قابل قبولی بر مرزهای ناحیه‌ی خونریزی منطبق گردد.



شکل ۴. الف) تصویر پس از حذف نویز، ب) ماسک تصویر، ج) تصویر پس از حذف تورم بافت نرم

تعریف کانتور اولیه

تابع مجموعه‌ی سطح اولیه (کانتور اولیه) به صورت یک تابع باینری به فرم رابطه‌ی ۶ تعریف می‌شود.

(۶)

$$\varphi_0(x) = \begin{cases} -C_0 & \text{if } x \in R_0 \\ C_0 & \text{Otherwise} \end{cases}$$

در تعریف تابع مجموعه‌ی سطح اولیه توسط این رابطه، تعیین مقدار C_0 و تعریف یک ناحیه به عنوان R_0 از اهمیت زیادی در شناسایی صحیح نواحی خونریزی مغزی برخوردار است. در این مقاله، ناحیه‌ی R_0 به جای مستطیل، به یک شکل بهینه شبیه به ناحیه‌ی خونریزی در نظر گرفته می‌شود. برای رسیدن به این هدف، با استفاده از آستانه‌گذاری افقی یک ناحیه‌ی تقریبی از ناحیه‌ی خونریزی یافته، این ناحیه به عنوان R_0 در نظر گرفته می‌شود. آستانه‌ی تعریف شده در این مقاله به صورت رابطه‌ی ۷ می‌باشد.

$$T = \lambda m \quad (7)$$

که در آن، λ یک عدد ثابت و m میانگین تصویر است.

تخمین پارامترهای کنترلی

پس از انتخاب کانتور اولیه، اکنون نوبت به تخمین پارامترهای کنترلی مربوط به تابع مجموعه‌ی سطح می‌رسد. انتخاب این پارامترهای کنترلی به خصوص در مسایل شناسایی و بخش‌بندی پزشکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. لازم به ذکر است این پارامترها از یک تصویر به تصویر دیگر متفاوت است. از این رو باید این تفاوت‌ها را جهت دقت در بخش‌بندی خود وارد کرد.

استخراج ویژگی

هدف اصلی از استخراج ویژگی، کاهش مجموعه‌ی اطلاعات با استفاده از ویژگی‌های اصلی و متمایز

کننده‌ی الگوهای ورودی است (۱۵). پزشکان به منظور شناسایی و طبقه‌بندی انواع خونریزی‌های مغزی از موقعیت، شکل، اندازه و بافت نواحی خونریزی استفاده می‌کنند (۸). بنابراین برای شناسایی و طبقه‌بندی انواع خونریزی مغزی به ویژگی‌های بیان کننده‌ی این خصوصیات نیاز داریم. از آن جا که تصاویر سی تی اسکن به صورت سیاه و سفید (Gray scale) هستند، ویژگی رنگ نمی‌تواند ویژگی مناسبی باشد. همچنین به دلیل تفاوت ناچیز بافت سه نوع خونریزی مورد بحث در این مقاله، ویژگی بافت نیز نمی‌تواند به تنهایی ویژگی مؤثری باشد. در مقابل، ویژگی شکل یک ویژگی مفید و مؤثر در تصاویر سی تی اسکن مغزی است. در این بخش، ویژگی‌های شکل مورد استفاده در این مقاله معرفی می‌گردد.

ویژگی‌های شکل

از هر ناحیه‌ی خونریزی ویژگی‌های زیر در ارتباط با شکل، موقعیت و اندازه‌ی آن استخراج می‌شود (۱۶):

۱. مساحت خونریزی: تعداد پیکسل‌های هر ناحیه‌ی خونریزی.
۲. محیط ناحیه‌ی خونریزی: مجموع تعداد پیکسل‌های موجود روی مرز ناحیه‌ی خونریزی.
۳. طول محور اصلی: اندازه‌ی محور اصلی بیضی محیط شده بر ناحیه‌ی خونریزی.
۴. طول محور فرعی: اندازه‌ی محور فرعی بیضی محیط شده بر ناحیه‌ی خونریزی.
۵. مجموع محورها: مجموع طول محور اصلی و طول محور فرعی ناحیه‌ی خونریزی.
۶. تقسیم محورها: حاصل تقسیم طول محور اصلی بر طول محور فرعی بیضی محیط شده بر ناحیه‌ی خونریزی.

۱۲. تغییرات مرز خونریزی: این ویژگی با بررسی تغییرات مرز خونریزی میزان شباهت آن را به دایره بیان می‌کند و عبارت از نسبت حداکثر فاصله‌ی نقاط مرز تا مرکز خونریزی به حداقل آن است. این ویژگی به صورت رابطه‌ی ۱۲ تعریف می‌شود.

$$ER1 = \frac{r_1}{r_1} \quad (12)$$

که در آن،

$$r_1 = \min(D_1) \quad (13)$$

$$r_2 = \max(D_1) \quad (14)$$

که در آن،

$$(15)$$

$$D_1(x, y) = \sqrt{(G_x - x)^2 + (G_y - y)^2}$$

که در آن، (G_x, G_y) و (x, y) به ترتیب مختصات مرکز خونریزی و مرز خونریزی می‌باشند. هر چه مقدار این ویژگی به ۱ نزدیک‌تر باشد، شکل خونریزی به دایره نزدیک‌تر است. این ویژگی برای خونریزی‌های ICH و EDH به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را دارد.

۱۳. موقعیت خونریزی: این ویژگی بیان کننده‌ی موقعیت ناحیه‌ی خونریزی نسبت به مرکز مغز است و مطابق رابطه‌ی زیر تعریف می‌شود:

$$\delta = 2M + 1 \quad (16)$$

$$M = \text{mean}(D(x, y)) \quad (17)$$

$$(18)$$

$$D(x, y) = \sqrt{(x - g_x)^2 + (y - g_y)^2}$$

که در آن، (g_x, g_y) مختصات مرکز مغز و (x, y) مختصات نقاط مرز خونریزی می‌باشند.

انتخاب ویژگی با استفاده از الگوریتم ژنتیک

در این مرحله سعی می‌شود به منظور ارتقای صحت

۷. ضریب سختی (Solidity): این ضریب بیانگر چگالی یا تراکم ناحیه‌ی خونریزی می‌باشد و به صورت رابطه‌ی زیر تعریف می‌شود:

$$\text{solidity} = \frac{A}{C} \quad (8)$$

که در آن A مساحت ناحیه‌ی خونریزی و C مساحت ناحیه‌ی محدب خونریزی می‌باشد.

۸. ضریب کشیدگی (Extent): این ضریب نشان دهنده‌ی میزان کشیدگی یا درازای شکل است. رابطه‌ی ۹ بیان کننده‌ی ضریب کشیدگی هر ناحیه‌ی خونریزی می‌باشد.

$$\text{extent} = \frac{A}{B} \quad (9)$$

که در آن A مساحت ناحیه‌ی خونریزی و B مساحت مستطیل محیط شده بر ناحیه‌ی خونریزی می‌باشد.

۹. ضریب تحدب (Convexity): ضریب تحدب دور شدگی شکل از حالت تحدب را نشان می‌دهد. این ضریب به صورت رابطه‌ی زیر تعریف می‌شود:

$$\text{convexity} = \frac{CP}{P} \quad (10)$$

که در آن، CP محیط ناحیه‌ی محدب خونریزی و P محیط ناحیه‌ی خونریزی است.

۱۰. نسبت خونریزی به کل تصویر: عبارت از نسبت مساحت خونریزی به مساحت کل تصویر است.

۱۱. نسبت مساحت به محیط: این ویژگی بیان کننده‌ی نسبت مساحت خونریزی به محیط آن می‌باشد و به صورت زیر تعریف می‌شود:

$$E = \frac{4\pi A}{(p)^2} \quad (11)$$

که در آن، A و P به ترتیب مساحت و محیط خونریزی می‌باشند.

بطن‌های مغز مورد بررسی قرار می‌دهیم. چنانچه داخل بطن‌های مغز خونریزی اتفاق افتاده باشد، خونریزی متعلق به نوع IVH است. در غیر این صورت، هیچ خونریزی در مغز رخ نداده و متعلق به کلاس طبیعی است. برای رسیدن به این هدف، تلاش می‌شود پیکسل‌هایی پیدا شوند که دارای دو خصوصیت زیر باشند: داخل بطن‌های مغز باشند و شدت نور آن‌ها بیشتر از مقدار α_2 باشد. روش ذکر شده به صورت رابطه تعریف شده است.

(۲۲)

$$\text{if } \left\{ \begin{array}{l} \{g(i, j) \geq \alpha_2\} \\ \{d(i, j) \leq r_1\} \end{array} \rightarrow \text{IVH خونریزی} \right. \\ \left. \text{Otherwise} \rightarrow \text{نرمال (بدون خونریزی)} \right\}$$

که در آن، $g(i, j)$ سطح خاکستری هر پیکسل تصویر است.

$$(i, j) = \sqrt{(i - G_x)^2 + (j - G_y)^2} \quad (23)$$

$$r_1 = \max(d(m_x, m_y)) \quad (24)$$

(۲۵)

$$d(m_x, m_y) = \sqrt{(m_x - G_x)^2 + (m_y - G_y)^2}$$

که در آن، $d(i, j)$ فاصله‌ی هر پیکسل ناحیه‌ی خونریزی از مرکز خونریزی است و r_1 حداکثر فاصله‌ی نقاط مرز بطن‌های مغز از مرکز خونریزی است.

طبقه‌بندی ۲

در این مرحله، تصاویر ورودی بر اساس ویژگی‌های انتخاب شده به کلاس‌های مختلف EDH، ICH و SDH طبقه‌بندی می‌شوند. در این قسمت، از طبقه‌بند ماشین بردار پشتیبان (Multi-class SVM) استفاده می‌شود. این طبقه‌بند، یکی از روش‌های یادگیری با نظارت با قدرت تعمیم‌دهی بالا می‌باشد (۱۸). از ویژگی‌های بسیار مهم طبقه‌بندی داده‌ها بر اساس

طبقه‌بندی، بهترین ویژگی‌ها با کمک الگوریتم ژنتیک انتخاب شوند.

الگوریتم ژنتیک (GA یا Genetic algorithm)

الگوریتم ژنتیک یکی از الگوریتم‌های تکاملی است که از اصول انتخاب طبیعی داروین برای یافتن فرمول بهینه جهت پیش‌بینی یا تطبیق الگو استفاده می‌کند (۹). به طور کلی، الگوریتم ژنتیک از چندین جزء اصلی تشکیل شده است، از جمله جمعیت افراد که هر فرد یا کروموزوم، یک راه حل برای حل مسأله‌ی مورد نظر است. تابع برازندگی که با محاسبه‌ی میزان برازندگی هر کروموزوم مشخص می‌کند که آیا کروموزوم مناسب است یا نه و عملگرهای ژنتیکی مانند جهش (Mutation) و آمیزش (Crossover) که نسل بعدی را تولید می‌کنند. در این مقاله، طبقه‌بند k -نزدیک‌ترین همسایه برای طبقه‌بندی داده‌های آموزشی به کار گرفته می‌شود و خطای این طبقه‌بند به عنوان تابع برازندگی الگوریتم ژنتیک در نظر گرفته می‌شود. در این مطالعه، هر کروموزوم الگوریتم ژنتیک شامل ۱۶ ژن (به ازای هر ویژگی یک ژن) بود و نرخ Crossover و Mutation به ترتیب $0/80$ و $0/01$ بود (۱۷).

طبقه‌بندی

در این مرحله تصاویر ورودی بر اساس ویژگی‌های انتخاب شده به کلاس‌های مختلف خونریزی طبقه‌بندی می‌شوند.

طبقه‌بندی ۱

چنانچه در مرحله‌ی شناسایی و بخش‌بندی، هیچ ناحیه‌ی خونریزی یافت نشود، در این صورت خونریزی متعلق به یکی از کلاس‌های خونریزی IVH یا طبیعی است. به منظور مشخص نمودن نوع خونریزی در این حالت، تصاویر را قبل از حذف

که در شکل ۵.ب و ۵.د مشخص است، تعیین مقدار نامناسب برای این پارامتر، باعث حذف اشتباه یا ناقص بطن‌های مغز می‌شود و در نتیجه منجر به بخش‌بندی و شناسایی اشتباه یا ضعیف خونریزی مغز می‌گردد. در این مطالعه، پس از بررسی تصاویر کلاس‌های مختلف، به طور تجربی بهترین مقدار برای این پارامتر $0/4$ به دست آمد (شکل ۵.ج). شکل ۵ تأثیر β را بر حذف بطن‌های مغز و در نتیجه بخش‌بندی و شناسایی تصاویر خونریزی مغزی را نشان می‌دهد.

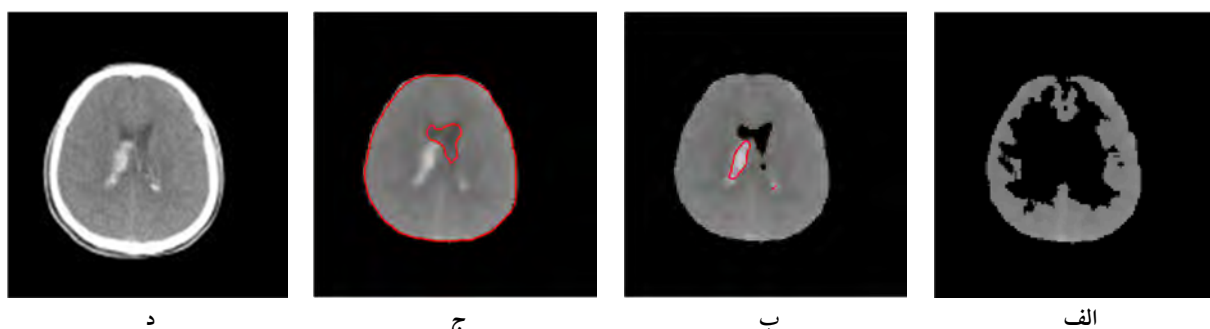
حذف صحیح برآمدگی بافت نرم، تأثیر زیادی بر صحت بخش‌بندی و شناسایی نواحی خونریزی مغزی دارد. همان‌طور که در قسمت پیش پردازش بیان شد، این قسمت‌ها در اثر شدت ضربه‌ی وارده به سر ایجاد می‌شوند و چنانچه در مرحله‌ی پیش پردازش از تصاویر حذف نشوند، ممکن است به اشتباه خونریزی تشخیص داده شوند که این امر منجر به ایجاد خطا در تعیین موقعیت دقیق خونریزی می‌شود (شکل ۶.ب). شکل ۶ تأثیر حذف صحیح و حذف نادرست برآمدگی بافت نرم را بر روی شناسایی و بخش‌بندی نواحی خونریزی مغز نشان می‌دهد.

ماشین بردار پشتیبان، حداقل‌سازی خطای داده‌های مجموعه‌ی آزمون می‌باشد. در صورتی که در سایر طبقه‌بندها همچون شبکه‌های عصبی، عملکرد بر اساس حداقل‌سازی خطای داده‌های مجموعه‌ی آموزشی می‌باشد. این طبقه‌بند، ابتدا داده‌ها را به صورت غیر خطی به یک فضای با بعد بالا نگاشت می‌کند. سپس سعی می‌کند ابرصفحه‌ای پیدا کند که داده‌ها را با بیشترین حاشیه نسبت به این ابرصفحه از هم جدا کند. ماشین بردار پشتیبان در شکل کلی خود برای مسایل دو کلاسه استفاده می‌شود؛ اما این قابلیت را دارد که با استراتژی یکی مقابل دیگری یا یکی مقابل همه، برای مسایل چند کلاسه نیز استفاده شود. در این مطالعه، از استراتژی یکی مقابل همه برای دسته‌بندی هر جفت کلاس و کلاس باقی‌مانده استفاده شد.

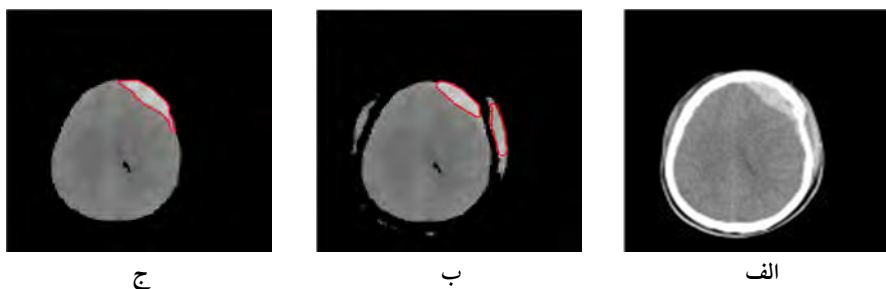
یافته‌ها

نتایج پیش پردازش و شناسایی خونریزی مغزی

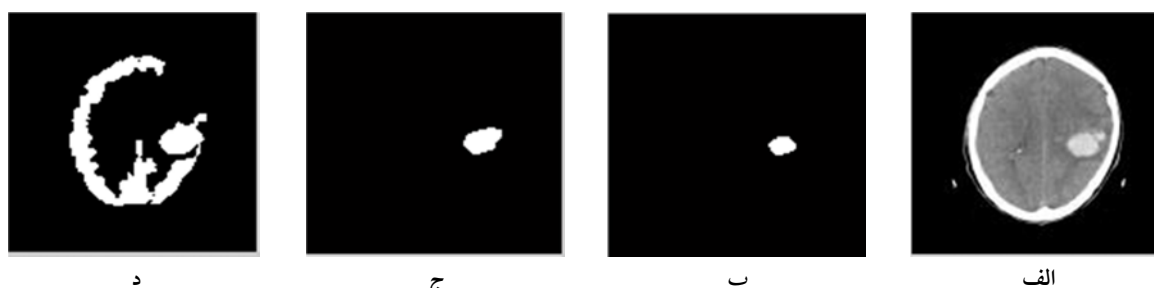
همان‌طور که در مرحله‌ی پیش پردازش بیان شد، برای حذف حجمه و بطن‌های مغز از روابط ۱ و ۲ استفاده شد. در این روابط، تعیین مقدار β نقش مؤثری در حذف بطن‌های مغز ایفا می‌کند. همان‌طور



شکل ۵. الف) تصویر اصلی، ب) نتایج بخش‌بندی به ازای $\beta < 0/4$ ، ج) $\beta = 0/4$ ، د) $\beta > 0/4$



شکل ۶. الف) تصویر اصلی، ب) نتایج بخش‌بندی بدون حذف برآمدگی بافت نرم، ج) نتایج بخش‌بندی پس از حذف تورم بافت نرم

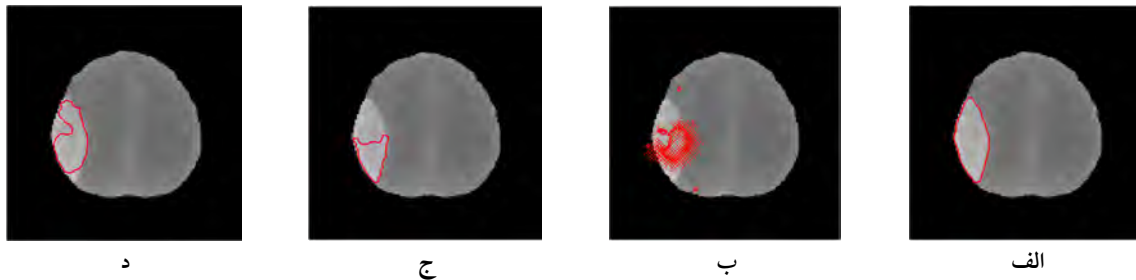


شکل ۷. الف) تصویر اصلی، ب) نتایج بخش‌بندی به ازای $\lambda > 0.02$ (ج $\lambda = 0.02$ ، د $\lambda < 0.02$)

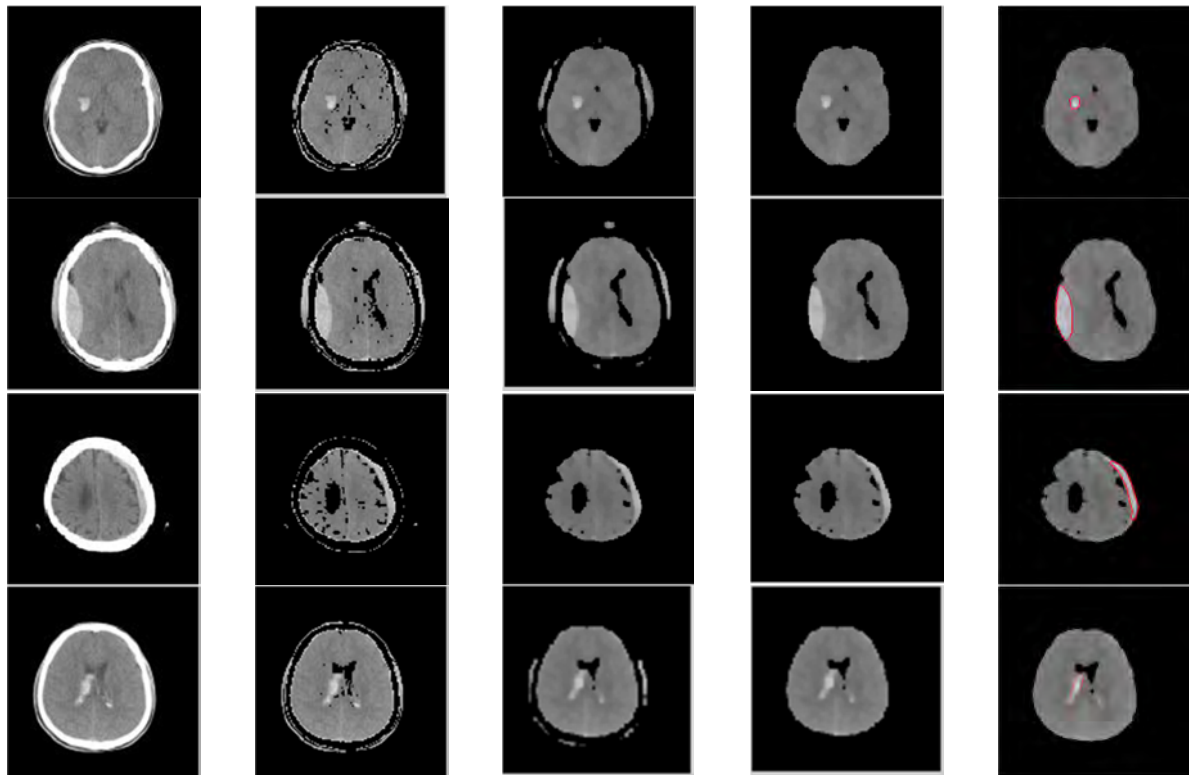
کنترلی پس از آزمایش بر روی تصاویر مختلف به صورت $\alpha = 0.9$ ، $\Delta t = 10$ ، $\mu = \frac{\beta}{\Delta t}$ ، $\beta = 0.09$ و $\lambda = 10$ به دست آمد. مقادیر دیگری غیر از این مقادیر باعث ایجاد خطا در بخش‌بندی نواحی خونریزی می‌شوند. در شکل ۸ تأثیر پارامترهای کنترلی نامناسب بر روی بخش‌بندی نواحی خونریزی نمایش داده شده است. شکل ۸ ب، نشان می‌دهد که مقادیر بزرگ β ($\beta \geq 0.25$) منجر به تحول ناپایدار تابع مجموعه‌ی سطح می‌شود. همان‌طور که در شکل ۸ ج و ۸ د مشخص است، مقادیر بزرگ α و Δt باعث تحول سریع تابع مجموعه‌ی سطح می‌شوند، اما در مقابل منجر به نقص و کمبود در مرزهای ناحیه‌ی خونریزی می‌شوند.

در شکل ۹، مراحل روش ارائه شده‌ی شناسایی خودکار نواحی خونریزی مغزی برای چهار کلاس مختلف خونریزی نمایش داده شده است.

در این مقاله به منظور تعریف تابع مجموعه‌ی سطح اولیه، پس از بررسی تصاویر کلاس‌های مختلف، به طور تجربی بهترین مقدار برای پارامتر G_0 ، ۳ به دست آمد. بقیه‌ی مقادیر G_0 منجر به بخش‌بندی ناقص یا اشتباه خونریزی مغزی می‌شوند. همان‌طور که در قسمت شناسایی بیان شد، برای تعیین ناحیه‌ی R_0 از روش آستانه‌گذاری وفقی استفاده می‌شود. آستانه‌ی تعریف شده در این مقاله، به صورت $T = \lambda m$ می‌باشد. در این رابطه، تعیین مقدار مناسب λ نقش مهمی در آستانه‌ی تصویر و در نتیجه شناسایی صحیح و تعیین موقعیت دقیق نواحی خونریزی ایفا می‌کند. مقدار λ پس از آزمایش بر روی تصاویر مختلف و به روش سعی و خطا 0.02 به دست آمد. شکل ۷ تأثیر λ را بر بخش‌بندی نواحی خونریزی مغزی نشان می‌دهد. در این مقاله بهترین مقادیر برای پارامترهای



شکل ۸. نتایج بخش‌بندی به ازای الف) پارامترهای کنترلی پیشنهادی، ب) $\beta = 0/5$ ، ج) $\alpha = 5$ ، د) $\Delta t = 30$



شکل ۹. مراحل الگوریتم پیشنهادی شناسایی خونریزی مغزی. ستون اول) تصاویر اصلی. ستون دوم) تصاویر پس از حذف حجمه و بطن‌های مغز. ستون سوم) تصاویر پس از حذف نویز. ستون چهارم) تصاویر پس از حذف تورم بافت نرم. ستون پنجم) نواحی خونریزی یافت شده.

$$\text{accuracy} = \frac{TP+TN}{TP+TN+FP+FN} \times 100 \quad (32)$$

$$\text{BR} = \frac{A(\text{XOR})S}{s} \times 100 \quad (33)$$

که در آن، TP بیان‌کننده‌ی تعداد پیکسل‌های خونریزی پیدا شده توسط هر دو روش ارائه شده و دستی می‌باشد. FP بیان‌کننده‌ی آن دسته از پیکسل‌های خونریزی است که فقط توسط روش ارائه شده پیدا شده است نه روش دستی. FN معرف

به منظور ارزیابی روش ارائه شده، نتایج این روش با تشخیص پزشک (روش دستی) مقایسه می‌شوند. در این مقایسه از عوامل زیر استفاده می‌شود:

$$\text{sensitivity} = \frac{TP}{TP+FN} \times 100 \quad (29)$$

$$\text{specificity} = \frac{TN}{TN+FP} \times 100 \quad (30)$$

$$\text{similarity} = \frac{2TP}{2TP+FN+FP} \times 100 \quad (31)$$

بافت مغز سخت و با خطا همراه است. خونریزی نوع EDH از خون خالص تشکیل شده است و فضای کمی برای گسترش در اختیار دارد (بین Dura و جمجمه) در نتیجه مرز قابل توجهی دارد و ناحیه‌ی این نوع خونریزی واضح‌تر از بقیه‌ی انواع خونریزی است. به همین دلیل، همان‌طور که در جدول ۱ مشخص است، بیشترین صحت بخش‌بندی مربوط به خونریزی نوع EDH است.

نتایج انتخاب ویژگی

در جدول ۲ وزن‌های به دست آمده توسط الگوریتم ژنتیک برای هر ویژگی پس از ۵۰ نسل آمده است. همان‌طور که در جدول ۲ مشخص است، از بین ویژگی‌های شکل، ویژگی‌های تغییرات مرز خونریزی و موقعیت خونریزی بیشترین وزن‌ها را دارند.

نتایج طبقه‌بندی

نتایج طبقه‌بندی ۱

به منظور ارزیابی روش پیشنهادی در مرحله‌ی طبقه‌بندی ۱ از ماتریس ردی (Confusion matrix) استفاده می‌شود. در این ماتریس عناصر قطری نشان دهنده‌ی نمونه‌هایی است که درست طبقه‌بندی شده‌اند. همان‌طور که از جدول ۳ مشخص است، با استفاده از روش ارایه شده خونریزی IVH با صحت ۹۱/۸ درصد از بقیه‌ی انواع خونریزی شناسایی گردید.

آن دسته از پیکسل‌های خونریزی است که فقط توسط روش دستی پیدا شده است و TN بیان‌کننده‌ی تعداد پیکسل‌های غیر خونریزی پیدا شده توسط هر دو روش ارایه شده و دستی می‌باشد. BR (Brain hemorrhage detection error) نیز بیانگر میزان خطای بخش‌بندی و شناسایی خونریزی است. که در آن، A مساحت ناحیه‌ی خونریزی یافت شده و S مساحت ناحیه‌ی خونریزی مشخص شده توسط پزشک است.

نتایج به دست آمده نشان می‌دهند که بیشترین خطا و کمترین صحت بخش‌بندی مربوط به خونریزی نوع SDH است. محل وقوع این نوع خونریزی (بین Dura و Arachnoid) به گونه‌ای است که خونریزی پس از گسترش در این فضا شکلی شبیه به جمجمه پیدا می‌کند که این امر منجر به افزایش خطای بخش‌بندی می‌شود. موقعیت خونریزی نوع ICH بهتر از نوع SDH است (احتمال گسترش خونریزی کمتر است)، اما این نوع خونریزی بر خلاف بقیه‌ی انواع آن فقط از خون خالص تشکیل نشده و متشکل از بافت‌های مختلف مانند بافت مغز، بافت آسیب دیده مغز، جمجمه و خون است. در نتیجه، این نوع خونریزی مرز واضحی ندارد و حتی در بعضی از موارد نواحی خونریزی در مغز پراکنده شده‌اند. به همین دلیل، شناسایی این نوع خونریزی از

جدول ۱. نتایج بخش‌بندی

نوع خونریزی	(%) BR	(%) Accuracy	(%) Similarity	(%) Specificity	(%) Sensitivity
EDH	۴۴/۸۳	۹۶/۸۷	۹۴/۷۹	۹۷/۸۸	۹۴/۲۳
ICH	۵۱/۰۵	۹۶/۱۰	۹۱/۸۵	۹۸/۴۵	۹۰/۳۲
SDH	۵۰/۱۲	۹۲/۱۵	۶۷/۴۵	۹۳/۸۶	۷۵/۱۱

BR: Brain hemorrhage detection error; EDH: Extradural haematoma; ICH: Intracerebral hemorrhage
SDH: Subdural haemorrhage

نتایج طبقه‌بندی ۲

در این مرحله به منظور مشاهده تأثیر انتخاب ویژگی بر نتیجه‌ی طبقه‌بندی، صحت طبقه‌بندی قبل و بعد از انتخاب ویژگی در جدول ۴ آمده است. پس از آن ماتریس ردی طبقه‌بند ماشین بردار پشتیبان در جدول ۵ آمده است.

جدول ۴ نشان می‌دهد که صحت طبقه‌بند ماشین بردار پشتیبان ۹۴/۱۳ درصد می‌باشد. به عبارت دیگر، با استفاده از این طبقه‌بند، تنها ۵/۸ درصد از تصاویر اشتباه طبقه‌بندی می‌شوند.

جدول ۲. وزن‌های به دست آمده توسط الگوریتم ژنتیک

ویژگی‌ها	وزن‌های الگوریتم ژنتیک
مساحت خونریزی	۰/۸۷۸۵
محیط خونریزی	۰/۴۳۹۴
طول محور اصلی	۰/۵۸۱۰
طول محور فرعی	۰/۳۷۰۲
مجموع محورها	۰/۲۳۴۰
تقسیم محورها	۰/۱۸۱۰
ضریب سختی	۰/۵۶۸۹
ضریب کشیدگی	۰/۵۰۳۰
ضریب تحدب	۰/۸۳۵۸
نسبت خونریزی به کل تصویر	۰/۶۴۲۴
نسبت مساحت به محیط خونریزی	۰/۲۷۹۱
تغییرات مرز خونریزی	۰/۹۸۷۹
موقعیت خونریزی	۰/۹۴۴۲

جدول ۳. نتایج طبقه‌بندی ۱

IVH	طبیعی	سایر کلاس‌ها	صحت طبقه‌بندی	
۱۱۸	۵	۶	۹۱/۷۴ (درصد)	IVH
۵	۱۱۴	۴	۸۸/۳۷ (درصد)	طبیعی
۲	۶	۱۱۵	۹۳/۴۹ (درصد)	سایر کلاس‌ها
	۹۴/۴۰ (درصد)	۹۲/۰۰ (درصد)	۹۱/۸۲ (درصد)	صحت طبقه‌بندی

IVH: Intraventricular hemorrhage

جدول ۴. صحت طبقه‌بندی قبل و بعد از انتخاب ویژگی

طبقه‌بندی	صحت طبقه‌بندی بعد از انتخاب ویژگی (درصد)	صحت طبقه‌بندی قبل از انتخاب ویژگی (درصد)
kNN	۵۴/۴۱	۴۱/۵۹
SVM	۹۴/۱۳	۷۹/۹۳

kNN: k-nearest neighbors; SVM: Support vector machines

جدول ۵. ماتریس ردی طبقه‌بند ماشین بردار پشتیبان

نوع خونریزی	Accuracy	ICH	EDH	SDH
SDH	۹۳/۶۵ (درصد)	۲	۶	۱۱۸
EDH	۹۲/۸ (درصد)	۴	۱۱۶	۵
ICH	۹۵/۹۶ (درصد)	۱۱۹	۳	۲
Accuracy	۹۴/۱۳ (درصد)	۹۵/۲ (درصد)	۹۲/۸ (درصد)	۹۴/۴ (درصد)

EDH: Extradural haematoma; ICH: Intracerebral hemorrhage; SDH: Subdural haemorrhage

بحث

در این مقاله یک روش مستقل و خودکار شناسایی و طبقه‌بندی خونریزی مغزی ارائه شد. روش ارائه شده تلاشی در جهت ارتقای دقت تشخیص پزشکان و تسریع تصمیم‌گیری آن‌ها به منظور نجات جان بیماران است. برای رسیدن به این هدف، ابتدا در مرحله‌ی بخش‌بندی، یک روش شناسایی خودکار نواحی خونریزی ارائه شد. با استفاده از این روش، انواع نواحی خونریزی با صحت بالای ۹۰ درصد (۹۶/۸۷)، ۹۶/۱۰، ۹۲/۱۵ و ۹۱/۸۰ درصد شناسایی شد؛ به طوری که حتی کوچک‌ترین نواحی خونریزی نیز شناسایی شدند. در مرحله‌ی بعد، پس از استخراج ویژگی از هر ناحیه و انتخاب بهترین آن‌ها، انواع

نواحی خونریزی طبقه‌بندی شدند. در مرحله‌ی طبقه‌بندی با استفاده از طبقه‌بند ماشین بردار پشتیبان، با صحت ۹۴/۱۳ درصد انواع خونریزی طبقه‌بندی شدند. در نتیجه، با استفاده از روش ارائه شده ۴ نوع خطرناک خونریزی در تصاویر سی تی اسکن تشخیص داده شد و طبقه‌بندی گردید که از این طریق، فرایند درمان بیماران دچار ضربه‌ی مغزی تسریع می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از دکتر محمد صالح جعفر پیشه، رادیولوژیست بیمارستان کاشانی، به دلیل کمک‌های ایشان در زمینه‌ی خونریزی مغزی و همچنین جمع‌آوری پایگاه داده‌ی این تحقیق سپاسگزاری می‌گردد.

References

- Hu Q, Qian G, Aziz A, Nowinski W. Segmentation of brain from computed tomography head images. Proceedings of the 27th Annual International Conference of the IEEE-MBS Engineering in Medicine and Biology; 2006 Jan 17-18; Shanghai, China. p. 3375-8.
- Lauric A. Soft image segmentation of CT brain data [Thesis]. Medford, MA: Tufts University 2007.
- Loncaric S, Cosic D, Dhawan AP. Hierarchical segmentation of CT head images. Proceedings of the 18th Annual International Conference of the IEEE-MBS Engineering in Medicine and Biology; 1996 31 Oct-3 Nov; Amsterdam, Netherlands. p. 736-7.
- Majcencic Z, Loncaric S. CT image labeling using simulated annealing algorithm [Online]. [cited 1998]. Available from: URL: <https://bib.irb.hr/datoteka/49284.eus98st.pdf>. p. 2513-6.
- Maksimovic R, Stankovic S, Milovanovic D. Computed tomography image analyzer: 3D reconstruction and segmentation applying active contour models--'snakes'. Int J Med Inform 2000; 58-59: 29-37.
- Mancas M, Gosselin B. Towards an automatic tumor segmentation using iterative watersheds. Proceedings of the SPIE 2004; 5370: 1598-608.
- Zaki MD, Fauzi FA, Besar R. Abnormalities detection in serial computed tomography brain images using multi-level segmentation approach. Multimedia Tools and Applications 2011; 54(2): 231-40.
- Ramteke R, Khachane MY. Automatic medical image classification and abnormality detection using K-Nearest Neighbour. International Journal of Advanced Computer Research 2012; 2(6): 190.
- Kharrat A, Gasmi K, Ben Messaoud M, Benamrane N, Abid M. A hybrid approach for automatic classification of brain MRI using genetic algorithm and support vector machine. Leonardo Journal of Sciences 2010; (17): 71-82.
- Chowdhury DR, Chatterjee M, Samanta RK. An artificial neural network model for neonatal disease diagnosis. Journal of Artificial Intelligence and Expert Systems 2011; 2(3): 96-106.
- Gong T, Liu R, Tan CL, Farzad N, Lee CK, Pang BC, et al. Classification of CT brain images of head trauma. Proceedings of the 2nd IAPR International Conference on Pattern Recognition in Bioinformatics; 2007 Oct 1; Berlin, Germany. p. 401-8.
- Sharma B, Venugopalan K. Automatic segmentation of brain CT scan image to identify

- hemorrhages. *International Journal of Computer Applications* 2010; 40(10): 1-4.
13. Osher S, Sethian JA. Fronts propagating with curvature-dependent speed: Algorithms based on Hamilton-Jacobi formulations. *Journal of Computational Physics* 1988; 79(1): 12-49.
14. Li C, Xu C, Member S, Gui C, Fox MD. Distance Regularized Level Set Evolution and Its Application to Image Segmentation. *IEEE Transactions on Image Processing* 2010; 19(12): 3243-54.
15. Maduskar P, Acharyya M. Automatic identification of intracranial hemorrhage in non-contrast CT with large slice thickness for trauma cases. *Proceedings of SPIE* 2009; 7260.
16. Yang M, Kpalma K, Ronsin J. A survey of shape feature extraction techniques [Online]. [cited 2008 Jul 15]; Available from: URL: <http://hal.archives-ouvertes.fr/docs/00/44/60/37/PDF/ARS-Journal-SurveyPatternRecognition.pdf>. p. 43-90.
17. Shahangian B, Pourghassem H. Automatic brain hemorrhage segmentation and classification in CT scan images. *Proceedings of the 8th Conference on Machine Vision and Image*; 2013 Sep 10-12; Zanjan, Iran.
18. Hsu CW, Lin C. A comparison of methods for multiclass support vector machines. *IEEE Computational Intelligence Society* 2002; 13(2): 415-25.

Automatic Segmentation and Classification of Brain Hemorrhage Regions Using Multi-class Support Vector Machine in Computed Tomography (CT-Scan) Images

Bahareh Shahangian¹, Hossein Pourghassem PhD²

Original Article

Abstract

Background: Brain hemorrhage due to head trauma is one of the most common causes of death. Early diagnosis of location and type of brain hemorrhage is crucial. For saving the patients completely, it is necessary to detect the correct location and type of the hemorrhage in an early stage. In this study, we introduced an automatic brain hemorrhage detection and classification algorithm to improve and accelerate the process of physicians' decision-making.

Methods: To achieve the purpose, at first a segmentation algorithm was used to detect and separate the hemorrhage regions from other parts of the brain. Then, a number of appropriate features from each detected hemorrhage region were extracted and then by using genetic algorithm, the most convenient features were selected. The utilized computed tomography (CT-scan) images in this research were collected from Kashani hospital CT-scan center (Isfahan, Iran) and were of 70 men and women between the ages of 15-60 years.

Findings: Using the proposed segmentation and classification algorithm, the segmentation accuracy for different types of hemorrhages [epidural (EDH), intracerebral (ICH) and subdural (SDH)] were obtained as 96.87%, 96.10%, 92.15%, respectively. Also, intraventricular hemorrhage (IVH) was detected and separated from other types of hemorrhage with the accuracy rate of 91.82% and classified with accuracy rate of 94.13%.

Conclusion: In this research, an independent and automatic brain hemorrhage detection and classification algorithm was assessed. Our proposed algorithm is an attempt to improve and accelerate the process of physicians' decision-making to save the patients' lives. By using the proposed algorithm, we were able to detect and classify four kinds of dangerous hemorrhages in CT-scan images and accelerate the process of the victim's treatment.

Keywords: Brain hemorrhage, Segmentation, Genetic algorithm, k-nearest neighbors (kNN) classifier, Support vector machines (SVM) classifier

Citation: Shahangian B, Pourghassem H. Automatic Segmentation and Classification of Brain Hemorrhage Regions Using Multi-class Support Vector Machine in Computed Tomography (CT-Scan) Images. J Isfahan Med Sch 2014; 32(284): 631-46

1- MSc Student, Department of Telecommunications, School of Electrical Engineering, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Telecommunications, School of Electrical Engineering, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Hossein Pourghassem PhD, Email: h_pourghassem@iaun.ac.ir

آسیب‌های عروقی در نفریت لوپوسی: نیازی برای توجه بیشتر به واسکولوپاتی در این بیماران

دکتر آذر برادران^۱، دکتر مریم ستاری^۲

نامه به سردبیر

سردبیر محترم مجله دانشکده پزشکی اصفهان

آسیب‌های عروقی از مهم‌ترین عوامل در پاتوژنز و پیشرفت بسیاری از بیماری‌های اولیه و ثانویه کلیه به ویژه گلومرولوپاتی‌ها می‌باشند (۱-۲). در واقع، بسیاری از بیماری‌های کلیوی از ضایعات اولیه‌ی عروقی ناشی می‌شوند، اما در اکثریت موارد، در بیماری‌هایی که به طور اولیه اجزای گلومرول‌ها یا توبولوایت‌رستیشیال را تحت تأثیر قرار می‌دهند، ساختارهای عروقی به طور ثانویه درگیر می‌شوند. نفریت لوپوسی و IgA nephropathy (یا Immunoglobulin nephropathy) از بهترین مثال‌های بیماری‌هایی هستند که بر روی بخش‌های مختلف بافت کلیه شامل گلومرول‌ها، رگ‌ها، بافت بینابینی و توبول‌ها اثر می‌گذارند (۳-۵). در این بیماری‌ها، علاوه بر ضایعات پارانشیم کلیه، آسیب‌های متعدد عروق کلیه که با مکانیسم‌های متفاوتی ایجاد شده‌اند، دیده می‌شود. تشخیص و طبقه‌بندی دقیق آسیب‌های عروقی، نقشی مهم در کنترل ایده‌آل این بیماری‌ها ایفا می‌کند (۶-۵).

در سال‌های اخیر، در یک مطالعه‌ی بزرگ در چین بر روی ۳۴۱ بیمار مبتلا به نفریت لوپوسی، الگوی ضایعات عروقی این بیماران بررسی شد. آن‌ها دریافتند که ۲۷۹ نفر (۸۱/۱ درصد) از بیماران دارای آسیب عروق کلیه بودند، ۲۵۳ نفر (۷۴/۲ درصد) دارای رسوب ایمنی در دیواره‌ی رگ بودند، ۸۲ نفر (۲۴/۰ درصد) دارای آترواسکلروز عروق کلیه، ۶۰ نفر (۱۷/۶ درصد) دارای میکروآنژیوپاتی ترمبوتیک، ۱۳ نفر (۳/۸ درصد) دارای واسکولوپاتی نکروزان غیر التهابی و ۲ نفر (۰/۶ درصد) از بیماران نیز دارای واسکولیت عروقی بودند (۷).

نویسندگان این مقاله به این نتیجه رسیدند که آسیب‌های عروق کلیه در بیماران نفریت لوپوسی شایع می‌باشد و تا حد زیادی با فعال بودن بیماری از لحاظ کلینیکی و سرانجام آن رابطه دارد. آن‌ها همچنین پیشنهاد نمودند که آسیب‌های عروقی نیز در سیستم طبقه‌بندی نفریت لوپوسی وارد گردد تا ارزش پیش‌گویی کننده‌ی این طبقه‌بندی برای سرانجام کلیه‌ی این بیماران تقویت گردد. در حقیقت، این مطالعه بر روی نیاز به یک تفسیر

۱- دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دستیار، گروه بیمارهای داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نمایند (۸-۱۱). این موضوع که اکثر ضایعات عروقی که در گذشته به عنوان واسکولوپاتی لوپوس شناخته می‌شد، به دلیل سندرم آنتی فسفولیپید می‌باشد، هم اکنون امری بدیهی به شمار می‌آید (۹-۱۵).

به طور کلی در جریان لوپوس سیستمیک، آنتی‌بادی‌ها در دیواره‌ی رگ‌ها رسوب می‌کنند؛ اما این که این رسوب در تشدید نفروپاتی هم مؤثر باشد، تحت بررسی است. به نظر می‌رسد در شرایط حاضر، باید روی نفروپاتی ناشی از سندرم آنتی فسفولیپید که همراهی آن با لوپوس شایع است، تمرکز شود (۹-۱۵).

دقیق از بیوپسی کلیه‌ی بیماران نفریت لوپوسی، جهت بررسی این بیماری و اجتناب از کم توجهی به پاتولوژی عروق کلیه تأکید نموده است (۷).

امروزه توجه زیادی به سمت بررسی مورفولوژی ضایعات کلیوی سندرم آنتی فسفولیپید که همراهی آن با لوپوس هم زیاد دیده می‌شود، جلب شده است و پاتولوژیست‌های کلیه، باید نسبت به ویژگی‌های مورفولوژیک سندرم آنتی فسفولیپید در بیوپسی بیماران لوپوسی به خصوص هنگامی که آنتی‌بادی‌های آنتی فسفولیپید در آن‌ها مثبت شده است، توجه بیشتری

ارجاع: برادران آذر، ستاری مریم. آسیب‌های عروقی در نفریت لوپوسی: نیازی برای توجه بیشتر به واسکولوپاتی در این

بیماران. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۱ (۲۸۴): ۶۴۹-۶۴۷

References

- Mubarak M, Nasri H. What nephrologists need to know about antiphospholipid syndrome-associated nephropathy: Is it time for formulating a classification for renal morphologic lesions? *J Nephrothol* 2014; 3(1): 4-8.
- Nasri H. Hypertension and renal failure with right arm pulse weakness in a 65 years old man. *J Nephrothol* 2012; 1(3): 130-3.
- Baradaran A. Antiphospholipid syndrome-associated nephropathy; a nephropathy needs classification. *J Nephrothol* 2012; 1(1): 7-9.
- Nasri H. Antiphospholipid syndrome-associated nephropathy: Current concepts. *J Renal Inj Prev* 2013; 2(1): 1-2.
- Mardani S, Nasri H. Catastrophic antiphospholipid syndrome presenting with sudden renal failure and past history of long-lasting psychosis and hypertension in a woman. *J Nephrothol* 2013; 2(2): 110-3.
- Baradaran A, Behradmanesh S, Nasri H. Association of body mass index and serum vitamin D level in healthy Iranian adolescents. *Endokrynol Pol* 2012; 63(1): 29-33.
- Wu LH, Yu F, Tan Y, Qu Z, Chen MH, Wang SX, et al. Inclusion of renal vascular lesions in the 2003 ISN/RPS system for classifying lupus nephritis improves renal outcome predictions. *Kidney Int* 2013; 83(4): 715-23.
- Serrano F. Antiphospholipid Syndrome: A complex disease. *J Nephrothol* 2013; 2(1): 73-4.
- Daugas E, Nochy D, Huong DL, Duhaut P, Beaufrils H, Caudwell V, et al. Antiphospholipid syndrome nephropathy in systemic lupus erythematosus. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(1): 42-52.
- Anis S, Ahmed E, Muzaffar R. Prevalence of anti- beta2GPI antibodies and their isotypes in patients with renal diseases and clinical suspicion of antiphospholipid syndrome. *J Nephrothol* 2013; 2(3): 181-9.
- Mubarak M. Hidden face of lupus nephritis exposed: Isolated tubulointerstitial lupus nephritis. *J Nephrothol* 2013; 2(1): 71-2.
- Nasri H. Linkage of elevated CaxPO4 product with inflammation in maintenance hemodialysis patients. *Minerva Urol Nefrol* 2006; 58(4): 339-45.
- Hajivandi A, Amiri M. World Kidney Day 2014: Kidney disease and elderly. *J Parathy Dis* 2014; 2(1):3-4.
- Nasri H1, Baradaran A. The influence of serum 25-hydroxy vitamin D levels on Helicobacter Pylori Infections in patients with end-stage renal failure on regular hemodialysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2007; 18(2): 215-9.
- Nasri H, Ardalan MR, Rafieian-Kopaei R. On the occasion of world hypertension day 2014. *J Parathy Dis* 2014; 2(1):19-20.

Vascular Lesions in Lupus Nephropathy

Azar Baradaran MD², Maryam Sattari MD¹

Letter to Editor

Abstract

Vascular lesions are of significant importance in the progression of various kidney diseases. Indeed, various kidney diseases result from primary lesions to the vascular component; however in some cases, vascular compartment is involved secondarily in the disease process affecting primarily either the glomeruli or the tubulointerstitial components. Recently, much attention was made toward vasculopathy in patients with lupus nephropathy. Most of these morphologic lesions belong to antiphospholipid antibody syndrome nephropathy. In this regard, it is necessary to precisely define vascular lesions in patients with lupus nephropathy.

Citation: Sattari M, Baradaran A. **Vascular Lesions in Lupus Nephropathy.** J Isfahan Med Sch 2014; 31(284): 647-9

1- Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Resident, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Azar Baradaran_MD, Email: azarbaradaran@med.mui.ac.ir

errors author should verify references against the original documents. The Reference should provide the following information as stated in the presented models as follows:

- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer.* New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.
 - c. **Book:** Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology.* 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.
14. **Proof Reading:** A computer prints out is sent to the corresponding author for proof reading before publication in order to avoid any mistakes. Corrections should be marked clearly and sent immediately to the Journal office.
 15. **Abbreviations and symbols:** Use only standard abbreviations. **Avoid using them in the title and abstract.** The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.
 16. The **corresponding author:** Will be supplied with 1 free issue.
 17. **Ethical guidelines:** Ethical considerations must be addressed in the Materials and Methods. Please state that **informed consent** was obtained from all human adult participants and from the parents or legal guardians of minors. Include the name of the appropriate institutional review board that approved the project. Indicate in the text that the maintenance and care of experimental animals complies with National Institutes of Health guidelines for the humane use of laboratory animals, or those of your Institute or agency.
 18. **Conflicts of interest:** Authors must acknowledge and declare any sources of funding and potential conflicting interest, such as receiving funds or fees by, or holding stocks and shares in, an organization that may profit or lose through publication of your paper. Declaring a competing interest will not lead to automatic rejection of the paper, but we would like to be made aware of it.
 19. **Page charges:** There are no charges for publication in this Journal.
 20. **Copyright:** The entire contents of the Journal of Isfahan Medical School are protected under international copyrights. This Journal is for your personal noncommercial use. You may not modify copy, distribute, transmit, display, or publish any materials contained on the Journal without the prior written permission of it or the appropriate copyright owner.
 21. **Peer review process:** All manuscripts are considered to be confidential. They are peer-reviewed by at least 3 anonymous reviewers selected by the Editorial Board. The corresponding author is notified as soon as possible of the editor decision to accept, reject, or require modifications. If the manuscript is completely acceptable according to the criteria set forth in these instructions, it is scheduled for the next available issue.
 22. Journal has entire right for accept or reject any of received manuscripts.
 23. The editors, editorial board, sponsoring organization, and publisher do not accept responsibility for the statements expressed by authors in their contributions.
 24. **Communicating with the Editorial Office:** We encourage you to communicate with the JIMS Editorial Office and to check on the status of a manuscript via journal site: (<http://journals.mui.ac.ir/jims>) only. For more in formations you can contact with JIMS office via E-mail address (jims@med.mui.ac.ir).

INSTRUCTION TO AUTHORS

1. **Aims and Scope:** The Journal of Isfahan Medical School is the official scientific **weekly** publication of the Faculty of Medicine in Isfahan Medical Sciences University.
This Journal accepts Original Papers, Review Articles, Case Reports, Short Communications, Educational Medical Video Clips and Letters to the Editor on all aspects of medicine.
2. Manuscript **Submission is acceptable only via Journal URL: <http://journals.mui.ac.ir/jims>**
Manuscript must be accompanied by a covering letter to the Editor-in-Chief, including title and author(s) name and undertaking that it has not been published or submitted elsewhere. In case the manuscript was earlier submitted to some other Journal and was rejected, the authors must provide full information for proper analysis. Manuscript should be typed in double space of the A-4 size paper with clear margins on both sides. The text should be submitted in Microsoft Word format only. Tables as well as illustrations should be typed and drawn on a separate pages. Do not submit tables as photographs.
The figures should be sent in a format of JPEG or GIF which will produce high quality images in the online edition of the journal. Authors must declare that it is being exclusively contributed to the Journal of Isfahan Medical School.
3. The manuscript should include: **Title page**, the **Abstract** (in both Farsi and English), **Introduction, Materials & Methods, Results, Discussion, Acknowledgement and References**.
4. **The title page:** The complete title of the manuscript, the name of all the authors with their highest qualifications, the department or institution to which they are attached, address for correspondence with telephone numbers, e-mail, and Fax number.
5. The **Abstract:** All original articles must accompany a structured abstract up to 250 words. It should be structured as **Background, Methods, Results and Conclusion** followed by **3 to 5 Keywords**. Keywords will assist indexers in cross indexing the article as they are published with abstract. Use terms from the Medical Subject Headings (MeSH) list of index medicus (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>). Authors need to be careful that the abstract reflects the content of the article accurately.
6. **Introduction:** This should summarize the purpose and the rationale for the study. It should neither review the subject extensively nor should it have data or conclusions of the study.
7. **Materials & Methods:** This should include exact method or observation or experiment. If an apparatus is used, its manufacturer's name and address should be given in parenthesis. If the method is established, give reference but if the method is new, give enough information so that another author is able to perform it. If a drug is used, its generic name, dose and route of administration must be given. For patients, age, sex with mean age \pm standard deviation must be given. Statistical method must be mentioned and specify any general computer program used.
8. **Results:** It must be presented in the form of text, tables and illustrations. The contents of the tables should not be all repeated in the text. Instead, a reference to the table number may be given. Long articles may need sub-headings within some sections (especially the Results and Discussion parts) to clarify their contents.
9. **Discussion:** This should emphasize the present findings and the variations or similarities with other work done in the field by other workers. The detailed data should not be repeated in the discussion again. Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that follow from them. It must be mentioned whether the hypothesis mentioned in the article is true, false or no conclusions can be derived.
10. **Acknowledgement:** All contributors who do not meet the criteria for authorship should be covered in the acknowledgement section. It should include persons who provided technical help, writing assistance and departmental head who only provided general support. Financial and material support should also be acknowledged.
11. **Tables:** In limited numbers should be submitted with the **captions placed above**. Do not submit tables as photograph. Place explanatory matters in footnotes, not in the heading.
12. **Figures:** Should be in limited numbers, with high quality art work and mounted on separate pages. The captions **should be placed below**. The same data should not be presented in tables, figures and text, simultaneously.
13. **References:** Should be as **Vancouver style**. All manuscripts should be accompanied by relevant references. The author should ensure reference to locally published studies by doing proper literature search. It may not be possible for the editor and reviewers to check the accuracy of all reference citations. To minimize such

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Mojtaba Abtahi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
3. **Mohammad Esmail Akbari** MD, Professor of Thoracic Surgery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6. **Saeid Andalib Jortani** MD, Professor of Pathology, Lewis Weil University, USA
7. **Gholam Reza Askari** MD, PhD of Nutrition, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Assistant Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Majid Berekatain** MD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
10. **Ken Bassett** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
11. **Ahmad Chitsaz** MD, Associate Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12. **Afsoon Emami** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
13. **Ali Reza Emami** MD, Associate Professor of Infectious Diseases, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
14. **Shahin Emami** Biochemistry and Endocrinology, Saint Antoine Hospital, France
15. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
16. **Faramarz Esmail beigi** MD, Professor of Internal Medicine, School of Medicine, USA
17. **Ziba Farajzadegan** MD, Associate Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
18. **Hamid Fesharaki** Associate Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Marjane Foladi** PhD of Nursing, University of Florida, USA
20. **Aziz Gahari** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
21. **Ali Gheisari** MD, Professor of Cardiovascular Surgery, California, USA
22. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. **Ali Mohammad Hanjani** MD, Professor of Cardiology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
24. **Mina Hasanrezaei** MD, NeuroImmunology, School of Pharmacy, USA
25. **Saied Morteza Heidari** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. **Mansour karamooz** MD, Professor of Urology, California, USA
27. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics & Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
29. **Majid Khazaei** MD, PhD, Associate Professor of Medical Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
30. **Parvin Mahzooni** MD, Associate Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
31. **Majid Maleki** MD, Professor of Cardiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
32. **Mohammad Mardani** MD, Associate Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
33. **Atiye Moghisi** MD, Professor of Endocrinology, Endocrine and Metabolism Research Center, USA
34. **Mehdi Modares** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
35. **Hoshang Moein** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. **Fereydoun Nouhi** MD, Professor of Cardiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
37. **Mohammadreza Nourbakhsh** Associate Professor of Physiotherapy, USA
38. **Farzin Pourfarzad** Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands
39. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. **Hassan Razmju** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. **Mohammad Reza Safavi** MD, Assistant Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
42. **Reza Rouzbahani** MD, MPH, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
43. **Mansour Sholevar** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
44. **Masoud Soheilian**. MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 284, 1st week, July 2014

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

Associate Editor: **Reza Rouzbahani MD, MPH**

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:

P.O. Box 81744-176, Isfahan, I.R. IRAN

Telefax: +98 311 7922291

E-mail: jims@med.mui.ac.ir

Website: <http://www.journals.mui.ac.ir/jims>

Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

P.O. Box 81465-1798, Isfahan, I.R. IRAN

Telefax: +98 311 6686302

E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

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.