



### مقاله های پژوهشی

- ۲۱۲۴ ..... ارزیابی شکست DNA اسپرم در بیماران با گلبوزوسپرمیای نسبی .....  
 فرشته رسولی، دکتر مرجان صباغیان، دکتر محمد علی صدیقی گیلانی، دکتر رامش منجمی
- ۲۱۳۴ ..... اثر پانسمان هیدروژل پلی وینیل پیرولیدون بر بهبود زخم باز در موش صحرائی .....  
 رضا فاضلی ورزنده، دکتر سید جمال مشتاقیان، دکتر اردشیر طالبی، دکتر فریدون عابدینی
- ۲۱۴۹ ..... بررسی انواع استراییسم در ۱۰۰ کودک بیمار مراجعه کننده به بیمارستان فیض اصفهان در سال ۱۳۹۰ .....  
 دکتر حسن رزمجو، یحیی حاج یحیی، ابراهیم جعویک، دکتر سید محمد علی ابطی، علی مهربانی کوشکی
- مقایسه ای اثر پالس نور شدید همراه با محلول موضعی اریتروماکسین ۲ درصد در برابر محلول موضعی اریتروماکسین  
 ۲۱۵۷ ..... ۲ درصد تنها در درمان ماکول های مزمن قرمز آکنه صورت .....  
 دکتر گیتا فقیهی، دکتر امین خرازی های اصفهانی، دکتر سید محسن حسینی، دکتر محمد رضا رادان، دکتر محمد علی نیلفروش زاده

### مقاله مروری

- ۲۱۶۵ ..... سلول های جنینی در خون مادر: جنبه های بالینی و تکنیکی .....  
 میثم مصلاهی، دکتر رسول صالحی

### Original Articles

- Assessment of Sperm DNA Fragmentation in Patients with Partial Globozoospermia ..... 2133  
 Fereshteh Rasouli, Marjan Sabbaghian PhD, Mohammad Ali Sadighi-Gilani MD, Ramesh Monajemi PhD
- The Effects of Polyvinyl Pyrrolidone Hydrogel Dressing on Open-Wound Healing in Rats ..... 2148  
 Reza Fazeli Varzaneh, Seied Jamal Moshtaghian Phd, Ardeshir Talebi MD, Fereidoon Abedini MD
- Study of 100 Children with Strabismus Admitted to Feyz Hospital, Isfahan, Iran, in 2012-2013 ..... 2156  
 Hassan Razmjoo MD, Yahya Haj-Yahya, Ebrahim Javic, Seyyed Mohammadali Abtahi MD, Ali Mehrabi-Koushki MSc
- Efficacy of Intense Pulsed Light Combined with Topical Erythromycin Solution 2% versus Topical Erythromycin Solution 2% Alone in the Treatment of Persistent Facial Erythematous Acne Macules ..... 2164  
 Gita Faghihi MD, Amin Kharaziha-Isfahani MD, Seyed Mohsen Hosseini PhD, Mohammad Reza Radan MD, Mohammad Ali Nilforoushzadeh MD

### Review Article

- Fetal Cells in Maternal Blood: Technical and Clinical Aspects ..... 2173  
 Meysam Mosallayi MSc, Rasoul Salehi PhD



## مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۳۱۳)، بهمن دوم 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

**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

**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  
**تلفن:** ۰۳۱۱-۶۶۹۴۷۳۷  
**دورنگار:** ۰۳۱۱-۷۹۲۲۲۹۱  
E-mail: jims@med.mui.ac.ir  
**وب سایت مجله:** http://www.journals.mui.ac.ir/jims

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 گهری	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 مغیثی	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 دست‌نوشته‌ها 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 دست‌نوشته باید یک نامه تایپ شده (Covering letter) به سردبیر، شامل عنوان و اسامی نویسنده یا نویسندگان و اعلام این که این دست‌نوشته 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- دست‌نوشته 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): Inzer 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؛ ناشر؛ سال انتشار. p. شماره صفحات (نام نویسندگان با علامت کاما از هم جدا شود). مثال:

(EN): Romenes GJ. Cunningham's manual. 15<sup>th</sup> 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. 2<sup>nd</sup> 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. 6<sup>th</sup> 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 عبارتهای 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

- ۲۱۲۴..... ارزیابی شکست DNA اسپرم در بیماران با گلبوزوسپرمیای نسبی.....  
فرشته رسولی، دکتر مرجان صباغیان، دکتر محمد علی صدیقی گیلانی، دکتر رامش منجمی
- ۲۱۳۴..... اثر پانسمان هیدروژل پلی‌وینیل پیرولیدون بر بهبود زخم باز در موش صحرائی.....  
رضا فاضلی ورزنده، دکتر سید جمال مشتاقیان، دکتر اردشیر طالبی، دکتر فریدون عابدینی
- ۲۱۴۹..... بررسی انواع استرابیسم در ۱۰۰ کودک بیمار مراجعه کننده به بیمارستان فیض اصفهان در سال ۱۳۹۰.....  
دکتر حسن رزمجو، یحیی حاج یحیی، ابراهیم جعویک، دکتر سید محمد علی ابطحی، علی مهربانی کوشکی
- مقایسه‌ی اثر پالس نور شدید همراه با محلول موضعی اریترومایسین ۲ درصد در برابر محلول موضعی اریترومایسین ۲ درصد تنها در درمان ماکول‌های مزمن قرمز آکنه صورت.....  
۲۱۵۷..... دکتر امین خرازی‌های اصفهانی، دکتر سید محسن حسینی، دکتر محمد رضا رادان، دکتر محمد علی نیلفروش زاده

### مقاله مروری

- ۲۱۶۵..... سلول‌های جنینی در خون مادر: جنبه‌های بالینی و تکنیکی.....  
میثم مصلاهی، دکتر رسول صالحی

## ارزیابی شکست DNA اسپرم در بیماران با گلبوزوسپرمیای نسبی

فرشته رسولی<sup>۱</sup>، دکتر مرجان صباغیان<sup>۲</sup>، دکتر محمد علی صدیقی گیلانی<sup>۳</sup>، دکتر رامش منجمی<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** ناباروری یکی از مشکلاتی است که حدود ۱۵ درصد از زوجها با آن مواجه می‌باشند. مطالعات نشان داده است که اسپرم مردان نابارور دارای نقص‌های عملکردی و ساختاری متفاوتی می‌باشد. گلبوزوسپرمیا یک نوع نادر ولی شدید از اختلالات اسپرم با شیوع کمتر از ۰/۱ درصد است که باعث ناباروری مردان می‌گردد و اسپرم‌هایی با سر گرد و فاقد آکروزوم از جمله ویژگی‌های مورفولوژیک آن محسوب می‌گردد. در گلبوزوسپرمیای کامل، تمام اسپرم‌ها و در گلبوزوسپرمیای نسبی، درصدی از اسپرم‌ها فاقد آکروزوم بوده، دارای سر گرد هستند. در مطالعات قبلی مشخص شده است که میزان شکست DNA اسپرم با اختلالات مورفولوژی اسپرم در ارتباط می‌باشد. در نتیجه، ممکن است که اسپرم‌های سرگرد، دارای اختلال در ساختار کروماتین و یا شکست DNA باشند. هدف از این مطالعه، ارزیابی شکست DNA اسپرم در بیماران مبتلا به گلبوزوسپرمیای نسبی بود.

**روش‌ها:** این مطالعه بر روی ۳۳ فرد مبتلا به بیماری گلبوزوسپرمیای نسبی و ۴۴ مرد با اسپرموگرام طبیعی بر طبق معیارهای سازمان جهانی بهداشت، مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری پژوهشگاه رویان صورت گرفت. شکست DNA اسپرم با استفاده از دو روش TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) و SCSA (Sperm chromatin structure assay) برای هر فرد مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** شکست DNA در گروه بیمار و شاهد با روش TUNEL به ترتیب  $18/68 \pm 24/81$  و  $4/22 \pm 11/50$  درصد و با روش SCSA به ترتیب  $16/69 \pm 26/57$  و  $9/24 \pm 14/75$  درصد بود. میزان درصد شکست DNA در بیماران گلبوزوسپرمیای نسبی تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد در هر دو روش TUNEL و SCSA نشان داد. در گروه شاهد و بیمار بین نتایج روش TUNEL و SCSA رابطه‌ی معنی‌دار مثبت وجود داشت ( $P < 0/001$ ;  $r = 0/484$ ). همچنین، با هر دو روش، رابطه‌ی معنی‌داری بین شکست DNA و پارامترهای اسپرمی نظیر سر گرد مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** تا زمان انجام این پژوهش، چندین مطالعه در زمینه‌ی یافتن ارتباط بین میزان شکست DNA و ویژگی‌های اسپرم انجام شده بود و این مطالعه بزرگ‌ترین مطالعه‌ی بود که درباره‌ی رابطه‌ی بین DFI (DNA Fragmentation Index) و اسپرم‌های با سر گرد با استفاده از روش‌های TUNEL و SCSA در بیماران گلبوزوسپرمیای نسبی انجام شد. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که در اسپرم‌هایی که شکل سر آن‌ها غیرطبیعی است، ساختار DNA نیز دچار نقص بوده، در برابر آسیب حساس‌تر می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** گلبوزوسپرمیای نسبی، شکست DNA، روش Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling، روش (TUNEL)، روش Sperm chromatin structure assay (SCSA)، ناباروری مردان

**ارجاع:** رسولی فرشته، صباغیان مرجان، صدیقی گیلانی محمد علی، منجمی رامش. ارزیابی شکست DNA اسپرم در بیماران با

گلبوزوسپرمیای نسبی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۳): ۲۱۲۴-۲۱۳۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه آندروولوژی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، پژوهشکده‌ی زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل، جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران

۳- دانشیار، گروه آندروولوژی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، پژوهشکده‌ی زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل، جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران

۴- استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران



## مقدمه

با توجه به افزایش روزافزون تعداد زوج‌های نابارور، درک بهتر هر نوع ناباروری می‌تواند کمک بزرگی جهت یافتن راه‌های درمانی بهتر و کارآمدتر باشد. در جوامع کنونی، حدود ۱۵ درصد از زوجین با مشکلات ناباروری مواجه‌اند که در نیمی از این موارد، ناباروری زوجین به علت ناتوانی مرد در تولید اسپرم‌های طبیعی می‌باشد (۱).

از میان ناباروری‌ها با علل مردانه، گلبوزوسپرمیا (Globozoospermia) نوع نادری از تراتوزوسپرمیا (Teratozoospermia) با شیوع کمتر از ۰/۱ درصد در میان مردان نابارور) است که در آن اسپرم‌ها دارای سری با شکل غیرطبیعی کروی می‌باشند. برای اولین بار در سال ۱۹۶۵، Meyhofer با استفاده از میکروسکوپ نوری موفق به مشاهده‌ی اسپرم‌هایی با سر کروی در مایع سمن مردان گردید (۲). اما مطالعه‌ی دقیق ساختار آن‌ها توسط Schirren و همکاران در سال ۱۹۷۱ با استفاده از میکروسکوپ الکترونی انجام گرفت. در مایع سمن مردان بارور، درصد کمی از اسپرم‌ها (به طور متوسط، ۶ درصد) به طور طبیعی دارای سری کروی هستند که مقدار اسپرماتوزوآی فاقد آکروزوم در مایع سمن، اثر منفی روی قدرت باروری مردان نخواهد گذاشت. اما در بیماران گلبوزوسپرمیای نسبی، بین ۲۰ تا ۱۰۰ درصد اسپرم‌ها سرگرد می‌باشند (۳).

بیماری گلبوزوسپرمیا به علت نقص در تشکیل آکروزوم در طول فرآیند اسپرمیوزن ایجاد می‌گردد. وجود این اندامک ترشحي برای بارور کردن تخمک ضروری است و اسپرماتوزوئیدهای فاقد آکروزوم، قادر به لقاح با تخمک نخواهند بود؛ چرا که به علت

فقدان آکروزوم و محتویات آن، نمی‌توانند از ناحیه‌ی شفاف عبور کنند. دو نوع گلبوزوسپرمیا تعریف شده است. در نوع یک یا گلبوزوسپرمیای کامل، ۱۰۰ درصد اسپرم‌ها فاقد آکروزوم بوده، دارای سری گرد می‌باشند و در نوع دو یا گلبوزوسپرمیای نسبی، ترکیبی از اسپرم‌های طبیعی و اسپرم‌های با سر کروی دیده می‌شود (۴).

در بررسی‌های انجام شده تا کنون، تغییرات چندین ژن در ارتباط با ایجاد بیماری گلبوزوسپرمیا مطرح شده است که از مهم‌ترین آن‌ها، حذف ژن DPYL2 می‌باشد (۵). در مطالعات قبلی مشخص شده است که میزان شکست DNA اسپرم با اختلالات مورفولوژی اسپرم در ارتباط است. طی فرآیند بلوغ، اسپرم دچار یک سری تغییرات مورفولوژیک و بیوشیمیایی می‌شود که برای کسب قدرت باروری فرد ضروری است. از جمله‌ی این تغییرات، می‌توان به بسته‌بندی و متراکم شدن کروماتین در هسته‌ی اسپرم طی مراحل اسپرمیوزن اشاره نمود (۶). عامل اصلی متراکم شدن کروماتین، جایگزینی پروتامین با هیستون می‌باشد. هر گونه نقص در فرآیند جایگزینی می‌تواند ژنوم پدر را در برابر عوامل آندوژن و اگزوژن آسیب‌پذیر کند. تحقیقات در این زمینه، نشان‌دهنده‌ی رابطه‌ی مستقیم بین میزان پروتامین و سلامت و یک پارچگی DNA است (۷-۸).

در دهه‌ی گذشته، مطالعات فراوانی درباره‌ی نقش DNA هسته در ناباروری مردان صورت پذیرفت. مطالعات متعدد نشان دادند که اسپرم افراد نابارور، دارای آسیب DNA بیشتری نسبت به افراد بارور می‌باشد. علاوه بر این، سطح بالای آسیب DNA

ممکن است با کیفیت پایین پارامترهای اسپرمی رابطه داشته باشد (۹، ۶).

روش‌های متعددی برای تشخیص میزان آسیب DNA اسپرم وجود دارد که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به Terminal deoxynucleotidyl transferase (TUNEL) dUTP nick end labeling، (SCD) Sperm chromatin dispersion، (SCSA) Sperm chromatin structure assay یا SCGE) Single cell gel electrophoresis (COMET) Acridine orange staining و (AOT) اشاره کرد. از میان این روش‌ها، روش TUNEL به عنوان یک روش دقیق جهت بررسی شکستگی‌های تک رشته‌ای و دو رشته‌ای DNA در بیشتر مقالات گزارش شده است (۱۰-۱۳).

تعیین ارتباط بین ناهنجاری‌های مورفولوژیک و میزان شکست DNA اسپرم اهمیت زیادی در پیش بینی نتایج روش‌های کمک‌باروری دارد. از آن جایی که تا زمان انجام این پژوهش، مطالعات محدودی در زمینه‌ی بررسی ارتباط ساختار کروماتین با مورفولوژی گلوبوزوسپرمیا صورت گرفته بود، در این تحقیق کروماتین اسپرم تعداد قابل توجهی از این بیماران مورد بررسی قرار گرفت.

### روش‌ها

این پژوهش یک مطالعه‌ی هم‌گروهی آینده‌نگر (Cohort) بود که بر روی ۳۳ فرد مبتلا به بیماری گلوبوزوسپرمیای نسبی و ۴۴ مرد با اسپرموگرام طبیعی بر طبق معیارهای سازمان جهانی بهداشت (WHO یا World Health Organization)، مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری پژوهشگاه رویان صورت گرفت.

نمونه‌ها از طریق Masturbation، بعد از حداقل ۳-۴ روز پرهیز از ارتباط جنسی جمع‌آوری شد. قسمتی از نمونه‌ی مایع سمن جهت بررسی پارامترهای اسپرمی (تعداد و تحرک) با نرم‌افزار CASA (Computer-aided sperm analysis) و مورفولوژی اسپرم با روش رنگ‌آمیزی پاپانیکولاو بر اساس معیار سازمان جهانی بهداشت انجام شد و باقی‌مانده‌ی نمونه جهت ارزیابی درصد شکستگی DNA با استفاده از دو روش TUNEL و SCSA، تا زمان انجام آزمایش در تانک نیتروژن نگهداری گردید.

از میان مراجعه کنندگان به پژوهشگاه رویان، گروه بیمار را مردانی تشکیل دادند که در بررسی مایع سمن آن‌ها بعد از رنگ‌آمیزی پاپانیکولاو، ۲۰-۹۰ درصد اسپرم‌ها دارای مورفولوژی سر کروی بودند. گروه شاهد را افرادی تشکیل دادند که دارای اسپرموگرام طبیعی (مورفولوژی بیش از ۷ درصد، مجموع حرکت بیش از ۴۰ درصد و تعداد اسپرم بیش از ۲۰ درصد) بودند.

پس از آنالیز مایع سمن، از باقی‌مانده‌ی آن جهت بررسی شکست DNA اسپرم با دو روش SCSA و TUNEL استفاده شد.

روش SCSA: در این روش، ابتدا نمونه‌های فریز به سرعت ذوب شدند. سپس ۲۰۰ ماکرولیت PBS (Phosphate-buffered saline) به ۱۰۰ ماکرولیت از مایع سمن اضافه و به مدت ۵ دقیقه در ۱۵۰۰ سانتریفوژ گردید. محلول رویی دور ریخته شد و به ۲۰۰ ماکرولیت از نمونه‌ی شسته شده، ۴۰۰ ماکرولیت محلول اسیدی (تری‌تون ۱۰۰×، سدیم کلرید، اسید هیدروکلریدریک) اضافه گردید و ۴۰ ثانیه در دمای اتاق قرار داده شد. به محلول تیمار شده با اسید، ۱/۲ میلی‌لیتر محلول رنگی سیتریک اسید، دی‌سدیم

اتصال می‌یابد. DNA Fluorescein-12-d UTP را نشان‌دار نموده، امکان مشاهده‌ی مستقیم آن را فراهم می‌نماید. رنگ فلورسنت مشاهده شده در هر اسپرم، نشان‌گر شکستگی در رشته یا رشته‌های DNA است. بر اساس حضور یا عدم حضور رنگ فلورسنت در ناحیه‌ی سر اسپرم، اسپرم‌ها به عنوان TUNEL مثبت (اسپرم دارای شکستگی DNA) یا منفی (اسپرم‌های دارای DNA سالم) در نظر گرفته می‌شود. در هر لام، حداقل ۱۰۰ اسپرم شمارش و درصدگیری می‌شود (۱۶). آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری ضریب همبستگی (Pearson Correlation test) و در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام گرفت و مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار محسوب شد.

### یافته‌ها

نتایج حاصل از ارزیابی پارامترهای اسپرمی در افراد دچار گلبوزوسپرمیای نسبی و مقایسه‌ی آن با پارامترهای اسپرمی افراد شاهد در جدول ۱ نشان داده شده است. پارامترهای اسپرمی بین دو گروه شاهد و بیمار به طور معنی‌داری متفاوت بود.

درجات آسیب DNA اسپرم با استفاده از هر دو روش به تفکیک گروه‌های شاهد و بیمار در جدول ۲ نشان داده شده است. ملاحظه می‌شود که میانگین DNA fragmentation index (DFI) با استفاده از هر دو روش در بیماران دچار گلبوزوسپرمیای نسبی افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0/05$ ).

در جدول ۳، ارتباط نتایج روش‌های TUNEL و SCSA با یکدیگر و همین‌طور، ارتباط آن با

هیدروژن فسفات، اتیلن دی‌آمین تتراستیک اسید، سدیم کلرید، آکریدین اورانژ افزوده و به سرعت توسط دستگاه فلوسایتومتری (شمارش ۱۰۰۰۰ اسپرم) بررسی شد. در نمونه‌ی شاهد نیز به جای اسید از PBS استفاده شد و سپس مرحله‌ی رنگ آمیزی انجام گردید. درصد جمعیت سلولی که رنگ قرمز از خود بروز دادند، نشان دهنده‌ی میزان شکست DNA به شمار رفت (۱۴-۱۵).

روش TUNEL: این روش از جمله‌ی تکنیک‌های بسیار حساس و اختصاصی در شناسایی اسپرم غیر طبیعی از اسپرم‌های سالم است. کیت TUNEL از شرکت پرومگای آمریکا تهیه شد. در این روش، ابتدا اسپرم‌ها با استفاده از محلول PBS بعد از ذوب نمونه شستشو شد، سپس بر روی لام، اسمیر تهیه گردید. بعد از خشک شدن لام، ۲۰۰ ماکرولیتر پارافرمالید ۴٪ اضافه و به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. سپس با محلول PBS شستشو انجام و به آن، محلول نفوذپذیر (۱/۱ درصد تریتون  $\times 100$  در ۱/۱ درصد سدیم سیترات) اضافه شد. بعد از ۱۰ دقیقه قرار گرفتن در دمای اتاق، دو بار با PBS شستشو انجام شد. سپس، اضافه کردن ۵۰ ماکرولیتر از ترکیب واکنش‌کننده‌ی فعال به هر لام در تاریکی و انکوباسیون لام‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام گرفت. در آخر، دو بار شستشو با PBS و اضافه کردن PI (Propidium Iodide) انجام شد.

بر اساس این تکنیک، رنگ فلورسنت Fluorescein-12-dUTP با استفاده از آنزیم (TdT) Terminal deoxynucleotidyl transferase به انتهای -OH از 3DNA (قطعات شکسته‌ی DNA)

پارامترهای اسپرم نشان داده شده است. از لحاظ آماری، رابطه‌ی معنی‌داری بین نتایج هر دو روش و همچنین، ارتباط معنی‌داری بین نتایج هر یک از این روش‌ها با درصد اسپرم سرگرد مشاهده شد. به نحوی که، با افزایش درصد سرگرد بودن، میزان آسیب DNA بیشتر شده بود ( $r = 0/484$ ;  $P < 0/001$ ).

### بحث

استفاده از روش‌های کمک‌باروری

(Assisted reproductive technology یا ART) بهترین گزینه برای رفع مشکلات زوج‌های نابارور است. میزان موفقیت این روش‌ها به عوامل متعددی نظیر سلامت کامل تخمک و اسپرم بستگی دارد. مطالعات نشان داده است که اسپرم مردان نابارور دارای نقص‌های عملکردی و ساختاری متفاوتی می‌باشد. امروزه، ارزیابی اولیه‌ی مایع سمن، جزء اولین اقدامات انجام گرفته در بررسی زوجین نابارور است؛ اما آنالیز مایع سمن به تنهایی نمی‌تواند

جدول ۱. نتایج آنالیز سمن افراد بیمار و شاهد

گروه	غلظت ( $10^6$ میلیون/میلی لیتر)	درصد تحرک اسپرم	درصد مورفولوژی طبیعی	درصد سرگرد
گلبوزوسپرمیای نسبی	میانگین $\pm$ انحراف استاندارد ۱۵/۰۱ $\pm$ ۲۰/۳۸	۱۲/۶۸ $\pm$ ۱۴/۵۲	۰/۳۶ $\pm$ ۰/۶۰	۴۸/۰۰ $\pm$ ۲۰/۸۲
	حداقل	۰/۰۰	۰/۰۰	۲۰
	حداکثر	۴۵	۲	۹۰
شاهد	میانگین $\pm$ انحراف استاندارد ۷۹/۸۶ $\pm$ ۲۹/۲۶	۶۶/۰۴ $\pm$ ۱۲/۵۲	۹/۲۰ $\pm$ ۲/۱۷	-
	حداقل	۴۸	۷	-
	حداکثر	۹۱	۱۶	-

جدول ۲. بررسی شکست DNA اسپرم با دو روش TUNEL و SCSA در دو گروه بیمار و شاهد

گروه	حداقل	حداکثر	میانگین $\pm$ انحراف استاندارد
میزان شکست DNA با روش TUNEL	۵	۸۰	۲۴/۸۱ $\pm$ ۱۸/۶۸
شاهد	۴	۲۰	۱۱/۵۰ $\pm$ ۴/۲۳
میزان شکست DNA با روش SCSA	۵	۶۵	۲۶/۵۷ $\pm$ ۱۶/۶۹
شاهد	۴	۴۲	۱۴/۷۵ $\pm$ ۹/۲۴

TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling; SCSA: Sperm chromatin structure assay

جدول ۳. رابطه‌ی بین نتایج روش‌های TUNEL و SCSA

درصد سرگرد	غلظت اسپرم	تحرک اسپرم	مورفولوژی اسپرم	SCSA	TUNEL	$r$ (P-value)	TUNEL
۰/۶۲۰ (< ۰/۰۰۱)	-۰/۳۸۸ (< ۰/۰۰۱)	-۰/۴۶۸ (< ۰/۰۰۱)	-۰/۴۳۲ (< ۰/۰۰۱)	۰/۴۸۴ (< ۰/۰۰۱)	۱	$r$ (P-value)	TUNEL
۳۸۳ (۰/۰۲۸)	-۰/۲۵۰ (۰/۰۲۸)	-۰/۳۵۵ (۰/۰۰۲)	-۰/۴۱۸ (< ۰/۰۰۱)	۱	۰/۴۸۴ (< ۰/۰۰۱)	$r$ (P-value)	SCSA
۱	۰/۱۴۲ (۰/۴۳۰)	-۰/۲۴۳ (۰/۱۷۲)	-۰/۳۹۶ (۰/۰۲۳)	۳۸۳ (۰/۰۲۸)	۰/۶۲۰ (< ۰/۰۰۱)	$r$ (P-value)	درصد سرگرد

TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling; SCSA: Sperm chromatin structure assay

بیان کننده‌ی تشخیص قطعی در ناباروری مردان باشد؛ چرا که، تنها وضعیت تعداد، مورفولوژی و تحرک اسپرم را تعیین می‌کند و بیان کننده‌ی ویژگی‌های اسپرم مانند سلامت DNA، که از اهمیت خاصی در قدرت باروری برخوردار است، نمی‌باشد (۱۷). بنابراین، برای اطمینان بیشتر از صحت قدرت باروری مرد، انجام تست‌های مربوط به عملکرد اسپرم لازم و ضروری است.

تا کنون، درصد DFI یا شاخص شکست DNA در تعداد کمی از بیماران گلبوزوسپرم مورد بررسی قرار گرفته است. به طور کلی، در یازده مطالعه، شانزده بیمار دچار گلبوزوسپرمیای کامل مورد بررسی قرار گرفته‌اند این شانزده بیمار در مطالعات جداگانه افزایش معنی‌داری در میزان درصد DFI نسبت به گروه شاهد نشان دادند (۱۸-۲۵). در بیشتر این مطالعات، ارزیابی شکست DNA با روش TUNEL صورت گرفته است. تنها در یک مطالعه، Larson و همکاران، جهت ارزیابی میزان شکست DNA از دو روش SCSSA و COMET استفاده کردند. در مطالعه آنان، عدم تفاوت در شکست DNA افراد بیمار در مقایسه با مردان گروه شاهد، افزایش شکست DNA اسپرم در افراد دچار گلبوزوسپرمیای را رد کرد (۱۹).

شیوع بسیار کم بیماری گلبوزوسپرمیای نسبی در میان بیماری‌های مربوط به ناباروری مردان و به دنبال آن، تعداد کم بیماران شناسایی شده در سراسر دنیا، سبب شده است تا مطالعات محدودی پیرامون جنبه‌های مختلف این بیماری انجام گیرد (۱۹، ۵). در این مطالعه، به بررسی میزان شکست DNA اسپرم، در مردان دچار گلبوزوسپرمیای نسبی مراجعه کننده به پژوهشگاه رویان پرداختیم. از دو روش SCSSA و

TUNEL جهت سنجش میزان آسیب DNA اسپرم (به دلیل حساسیت بالا و بررسی شکست DNA به طور مستقیم) در هر یک از افراد بیمار و شاهد استفاده کردیم.

همچنین، تمام مطالعات صورت گرفته در مورد ارزیابی میزان شکست DNA تا کنون، مردان دچار گلبوزوسپرمیای کامل را مورد هدف قرار داده و به صورت بررسی موردی انجام شده است؛ تا کنون، بررسی شکست DNA اسپرم در بیماران دچار گلبوزوسپرمیای نسبی به صورت گروهی انجام نشده است. تنها در دو مطالعه‌ی موردی، در کل دو بیمار دچار گلبوزوسپرمیای نسبی مورد بررسی قرار گرفته‌اند؛ ارزیابی شکست DNA در مطالعه دیمه و همکاران به وسیله‌ی روش SCD و CMA3 (۲۰) و در مطالعه‌ی Brahem و همکاران با استفاده از روش TUNEL انجام شده است. در هر دو مطالعه، افزایش معنی‌داری در میزان شکست DNA در این بیماران مشاهده شده است.

در این مطالعه، پس از انجام آزمایش و آنالیزهای آماری با استفاده از روش TUNEL، درصد شکست DNA اسپرم در بیماران دچار گلبوزوسپرمیای نسبی، نسبت به مردان گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. مطالعه‌ی Brahem و همکاران با استفاده از روش TUNEL نیز نشان داد که میزان شکست DNA در بیماران دچار تراتوزوسپرمیای نسبت به افراد شاهد به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۲۵). این نتایج مشابه گزارش‌های سال‌های اخیر است که نشان داده‌اند که در مایع سمن مردان نابارور با پارامتر غیرطبیعی، درصد اسپرم با DNA آسیب دیده بیشتر است (۱۸-۲۵). نتایج مطالعه‌ی حاضر، همچنین نشان

ارتباط DFI با پارامترهای اسپرم وجود دارد و اغلب، رابطه‌ای بین DFI با یک یا هر سه پارامتر اصلی اسپرم (تعداد، تحرک و شکل) در بیشتر آن‌ها دیده شده است (۲۲-۲۳).

در این تحقیق، یک ارتباط مستقیم بین نقص مورفولوژی سر اسپرم و شکست DNA دیده شد که مخالف نتایج Zini و همکاران می‌باشد. آن‌ها با استفاده از روش SCSA، بیماران مختلف را مورد ارزیابی قرار دادند و رابطه‌ی معنی‌داری بین DFI و مورفولوژی سر اسپرم مشاهده نکردند (۲۴). یافته‌های ما مشابه نتایج Brahem و همکاران است که ارتباط معنی‌داری بین مورفولوژی اسپرم افراد دچار تراتوزوسپرمیای و شکست DNA مشاهده کردند (۲۵). این همبستگی نشان می‌دهد که نقص سر اسپرم ممکن است به دلیل کاهش یک‌پارچگی DNA اسپرم باشد. این نتایج موافق دیگر مطالعات صورت گرفته است (۲۵-۲۶). بسیاری از محققان گزارش کرده‌اند که مورفولوژی سر اسپرم یک فاکتور مهم و پیش‌بینی کننده برای باروری است و یک رابطه‌ی مستقیم بین مورفولوژی غیرطبیعی سر اسپرم و میزان شکست DNA وجود دارد. در این مطالعات گزارش شده است که ارتباط بین توانایی رنگ‌پذیری DNA اسپرم و مورفولوژی سر، تا حدی نشان‌دهنده‌ی تراکم هسته است. فشردگی هسته یا تراکم غیرطبیعی می‌تواند به دلیل کمبود پروتامین یا پروتامین ناقص باشد (۲۷).

استفاده از سایر روش‌های بررسی DFI و انجام مطالعه روی جمعیت بزرگ‌تری از بیماران می‌تواند اطلاعات مفیدتری را در این زمینه در اختیار ما قرار دهد (۲۶). نتایج اخیر بیانگر ارتباط مستقیم بین مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم و آسیب DNA و در

دهنده‌ی افزایش شکست DNA اسپرم با استفاده از روش TUNEL در یک گروه از مبتلایان به نادرترین نوع تراتوزوسپرمیای (گلبوزوسپرمیای) است. بنابراین، احتمال می‌رود، تا حدودی شکل طبیعی یک اسپرم بتواند نشانه‌ای از سلامت ژنتیک آن باشد. از طرف دیگر، بررسی DFI با استفاده از روش SCSA، تفاوت معنی‌داری را بین گروه بیمار و شاهد نشان داد که برخلاف نتایج Larson و همکاران (۱۹) بود. آنان تنها یک بیمار گلبوزوسپرم را مورد بررسی قرار دادند، در صورتی که مطالعه‌ی حاضر روی جمعیت بزرگ‌تری از بیماران صورت گرفت.

Henkel و همکاران در دو مطالعه، با استفاده از دو روش TUNEL و SCSA، شکست DNA را در ۷۹ بیمار با مورفولوژی اسپرم بین ۱۴-۰ درصد مورد بررسی قرار دادند که نتایج حاکی از تفاوت معنی‌دار بین مورفولوژی غیرطبیعی (۴-۰) و شکست DNA با هر دو روش بود (۲۲-۲۳).

مشاهدات ما، به دلیل بیان ارتباط بین مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم با نقص بسته‌بندی کروماتین و افزایش شکست DNA اسپرم، دارای اهمیت ویژه‌ای است و تأیید کننده‌ی بیشتر مطالعات پیشین است. در بررسی ما، مشابه نتایج Henkel و همکاران (۲۲-۲۳)، ارتباط معنی‌داری بین نتایج دو روش SCSA و TUNEL دیده شد. همچنین، آنالیز همبستگی Pearson نشان داد که در گروه بیماران، این دو روش با دیگر پارامترهای اسپرم، از جمله تعداد، حرکت و شکل، رابطه‌ی معنی‌دار معکوس دارد. این ارتباط می‌واند بیانگر درجات متفاوت نقص اسپرماتوزن باشد. افراد با تعداد کم اسپرم با نقص بیشتر در آسیب DNA مواجه هستند. مطالعات متفاوتی درباره‌ی

نتیجه، کاهش باروری اسپرم است.

دچار گلبوزوسپرمیای نسبی می‌تواند یکی از عوامل تأثیرگذار در کاهش قدرت باروری طبیعی آن‌ها و شکست روش‌های کمک باروری در این بیماران باشد.

### نتیجه‌گیری

این مطالعه بزرگ‌ترین مطالعه‌ای است که تا کنون درباره‌ی رابطه‌ی بین DFI و اسپرم‌های سرگرد با استفاده از روش‌های TUNEL و SCSA در بیماران دچار گلبوزوسپرمیای نسبی انجام شده است و بیانگر آن است که در افراد دارای اسپرم‌های سرگرد نیز مشابه دیگر انواع تراتوزوسپرمیا، درصد شکست DNA نسبت به افراد سالم با اسپرموگرام طبیعی بالاتر می‌باشد. به علاوه، افزایش شکست DNA در بیماران

### تشکر و قدردانی

این مطالعه با همکاری پژوهشگاه رویان صورت گرفت. بدین وسیله از کارکنان آزمایشگاه آندرولوژی، که زمینه‌ی اجرای این تحقیق را فراهم آوردند، تقدیر و تشکر می‌نماییم. بودجه‌ی این پژوهش توسط پژوهشگاه رویان پرداخت گردید.

### References

- Cooper TG, Noonan E, von ES, Auger J, Baker HW, Behre HM, et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update* 2010; 16(3): 231-45.
- Niederberger C. Re: Molecular cytogenetic and genetic aspects of globozoospermia: a review. *J Urol* 2012; 188(6): 2320.
- Brahem S, Mehdi M, Elghezal H, Saad A. Analysis of sperm aneuploidies and DNA fragmentation in patients with globozoospermia or with abnormal acrosomes. *Urology* 2011; 77(6): 1343-8.
- Vicari E, Perdichizzi A, de Palma A, Burrello N, D'Agata R, Calogero AE. Globozoospermia is associated with chromatin structure abnormalities: case report. *Hum Reprod* 2002; 17(8): 2128-33.
- Elinati E, Kuentz P, Redin C, Jaber S, Vanden Meerschaut F, Makarian J, et al. Globozoospermia is mainly due to DPY19L2 deletion via non-allelic homologous recombination involving two recombination hotspots. *Hum Mol Genet* 2012; 21(16): 3695-702.
- Avendano C, Franchi A, Taylor S, Morshedi M, Bocca S, Oehninger S. Fragmentation of DNA in morphologically normal human spermatozoa. *Fertil Steril* 2009; 91(4): 1077-84.
- Tarozzi N, Bizzaro D, Flamigni C, Borini A. Clinical relevance of sperm DNA damage in assisted reproduction. *Reprod Biomed Online* 2007; 14(6): 746-57.
- Carrell DT, Emery BR, Hammoud S. Altered protamine expression and diminished spermatogenesis: what is the link? *Hum Reprod Update* 2007; 13(3): 313-27.
- Benchaib M, Braun V, Lornage J, Hadj S, Salle B, Lejeune H, et al. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. *Hum Reprod* 2003; 18(5): 1023-8.
- Evenson DP, Larson KL, Jost LK. Sperm chromatin structure assay: its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparisons with other techniques. *J Androl* 2002; 23(1): 25-43.
- Ribas-Maynou J, Garcia-Peiro A, Fernandez-Encinas A, Abad C, Amengual MJ, Prada E, et al. Comprehensive analysis of sperm DNA fragmentation by five different assays: TUNEL assay, SCSA, SCD test and alkaline and neutral Comet assay. *Andrology* 2013; 1(5): 715-22.
- Agarwal A, Tsarev I, Erenpreiss J, Sharma R. Sperm chromatin assessment. In: Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z, editors. *Textbook of assisted reproductive techniques*. London, UK: Taylor and Francis; 2004.
- Chohan KR, Griffin JT, Lafromboise M, de Jonge CJ, Carrell DT. Comparison of chromatin assays for DNA fragmentation evaluation in human sperm. *J Androl* 2006; 27(1): 53-9.
- Virro MR, Larson-Cook KL, Evenson DP. Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst

- development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril* 2004; 81(5): 1289-95.
15. Darzynkiewicz Z, Traganos F, Sharpless T, Melamed MR. Thermal denaturation of DNA in situ as studied by acridine orange staining and automated cytofluorometry. *Exp Cell Res* 1975; 90(2): 411-28.
  16. Gorczyca W, Traganos F, Jesionowska H, Darzynkiewicz Z. Presence of DNA strand breaks and increased sensitivity of DNA in situ to denaturation in abnormal human sperm cells: analogy to apoptosis of somatic cells. *Exp Cell Res* 1993; 207(1): 202-5.
  17. Bigelow PL, Jarrell J, Young MR, Keefe TJ, Love EJ. Association of semen quality and occupational factors: comparison of case-control analysis and analysis of continuous variables. *Fertil Steril* 1998; 69(1): 11-8.
  18. Perrin A, Coat C, Nguyen MH, Talagas M, Morel F, Amice J, et al. Molecular cytogenetic and genetic aspects of globozoospermia: a review. *Andrologia* 2013; 45(1): 1-9.
  19. Larson KL, Brannian JD, Singh NP, Burbach JA, Jost LK, Hansen KP, et al. Chromatin structure in globozoospermia: a case report. *J Androl* 2001; 22(3): 424-31.
  20. Deymeh MR, Tavalae M, Razavi S, Nasr-Esfahani M. Evaluation of protamine deficiency and DNA fragmentation in two globozoospermia patients undergoing ICSI. *Int J Fertil Steril* 2007; 1(2):85-8.
  21. Perrin A, Louanjli N, Ziane Y, Louanjli T, Le RC, Gueganic N, et al. Study of aneuploidy and DNA fragmentation in gametes of patients with severe teratozoospermia. *Reprod Biomed Online* 2011; 22(2): 148-54.
  22. Henkel R, Hoogendijk CF, Bouic PJ, Kruger TF. TUNEL assay and SCSA determine different aspects of sperm DNA damage. *Andrologia* 2010; 42(5): 305-13.
  23. Henkel R, Kierspel E, Hajimohammad M, Stalf T, Hoogendijk C, Mehnert C, et al. DNA fragmentation of spermatozoa and assisted reproduction technology. *Reprod Biomed Online* 2003; 7(4): 477-84.
  24. Zini A, Phillips S, Courchesne A, Boman JM, Baazeem A, Bissonnette F, et al. Sperm head morphology is related to high deoxyribonucleic acid stainability assessed by sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril* 2009; 91(6): 2495-500.
  25. Brahem S, Mehdi M, Elghezal H, Saad A. Detection of DNA fragmentation and meiotic segregation in human with isolated teratozoospermia. *J Assist Reprod Genet* 2011; 28(1): 41-8.
  26. Mehdi M, Khantouche L, Ajina M, Saad A. Detection of DNA fragmentation in human spermatozoa: correlation with semen parameters. *Andrologia* 2009; 41(6): 383-6.
  27. Cohen-Bacrie P, Belloc S, Menezo YJ, Clement P, Hamidi J, Benkhalifa M. Correlation between DNA damage and sperm parameters: a prospective study of 1,633 patients. *Fertil Steril* 2009; 91(5): 1801-5.



## Assessment of Sperm DNA Fragmentation in Patients with Partial Globozoospermia

Fereshteh Rasouli<sup>1</sup>, Marjan Sabbaghian PhD<sup>2</sup>, Mohammad Ali Sadighi-Gilani MD<sup>3</sup>, Ramesh Monajemi PhD<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Infertility is estimated to affect up to 15% of couples of reproductive age. Globozoospermia is a rare (incidence < 0.1%) but severe disorder in male infertility. It is characterized by the absence of acrosome in round-headed spermatozoa. Cases with partial globozoospermia are a group of patients whose semen samples show only a fraction with this typical head shape. It is possible that round-headed sperm may have an abnormal chromatin structure and/or DNA strand breaks. Moreover, sperm DNA fragmentation is shown to be associated with teratozoospermia. This study aimed to assess the sperm DNA fragmentation in the patients with partial globozoospermia.

**Methods:** In this prospective cohort study, 77 subjects including 33 infertile men with round-headed sperm (above 20%) and 44 normozoospermic men as control was recruited over a 30-month period. Semen examination was based on World Health Organization guidelines. Sperm chromatin structure assay (SCSA) and terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) assay were done for evaluation of the chromatin structure.

**Findings:** The analysis of sperm DNA fragmentation showed statistical differences between patients with partial globozoospermia and control group. Patients with partial globozoospermia had a higher mean level of DNA fragmentation than the men with normal spermogram in SCSA ( $26.57 \pm 16.69$  vs.  $14.57 \pm 9.24$ ) and TUNEL ( $24.81 \pm 18.68$  vs.  $11.50 \pm 4.22$ ) methods, respectively. The results of TUNEL and SCSA showed a strong relationship ( $r = 0.484$ ;  $P < 0.001$ ) in both groups.

**Conclusion:** Some specific morphological abnormalities were shown to be predictive of chromatin alteration. The present study demonstrated that men with round-head sperm have elevated risk for DNA fragmentation in their sperm compared to control group. There are just some case reports about DNA fragmentation rate in men with globozoospermia and further confirmation in a larger scale study is needed.

**Keywords:** Globozoospermia, Sperm DNA fragmentation, Sperm chromatin structure assay (SCSA), Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) assay

**Citation:** Rasouli F, Sabbaghian M, Sadighi-Gilani MA, Monajemi R. **Assessment of Sperm DNA Fragmentation in Patients with Partial Globozoospermia.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(313): 2124-33

1- MSc Student, Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Andrology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran

3- Associate Professor, Department of Andrology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran

4- Assistant Professor, Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Marjan Sabbaghian PhD, Email: marjan.sabbaghian@gmail.com

## اثر پانسمان هیدروژل پلی‌وینیل پیرولیدون بر بهبود زخم باز در موش صحرایی

رضا فاضلی ورزنده<sup>۱</sup>، دکتر سید جمال مشتاقیان<sup>۲</sup>، دکتر اردشیر طالبی<sup>۳</sup>، دکتر فریدون عابدینی<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**مقدمه:** برای سال‌ها ترکیب‌ها و روش‌های مختلف برای بهبود زخم مورد استفاده قرار گرفته که برخی مؤثر و تعدادی بدون تأثیر و حتی مضر بوده است. پانسمان‌های جدید مانند هیدروژل، نتایج قابل توجهی در ترمیم زخم نشان داده است. هیدروژل به دلیل شفافیت، تبادل گازهای تنفسی و آب، جذب ترشحات زخم، تنظیم دمای سطح زخم، جلوگیری از عفونت‌زا و تعویض آسان مورد توجه قرار گرفته است. این پژوهش با هدف بررسی اثر پانسمان هیدروژل پلی‌وینیل پیرولیدون بر درمان زخم ایجاد شده در موش صحرایی انجام شد.

**روش‌ها:** ۳۰ موش صحرایی با وزن  $20 \pm 230$  گرم به صورت نیمه تصادفی به گروه‌های ده‌تایی شاهد، درمان با تتراسایکلین و درمان با هیدروژل تقسیم شدند. پس از بی‌هوشی و تراشیدن محل، از پوست پشت هر حیوان قطعه‌ای به ابعاد  $1 \times 1$  cm برداشته شد. دوره‌ی درمان ۲۱ روزه در نظر گرفته شد و اندازه‌گیری سطح زخم در روزهای ۰، ۷، ۱۰، ۱۴ و ۲۱ انجام گرفت. زخم‌ها در روزهای ۷ و ۱۴ نمونه‌برداری و بررسی هیستوپاتولوژیک شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و انجام آزمون ANOVA تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** بهبود زخم در گروه هیدروژل در مقایسه با دو گروه دیگر به صورت معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) سریع‌تر و طول مدت ماندگاری اثر زخم و تغییر رنگ پوست در گروه هیدروژل نسبت به دو گروه دیگر به صورت معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) کمتر بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این پژوهش نشان داد که هیدروژل باعث تسریع در فرآیند ترمیم زخم می‌شود.

**واژگان کلیدی:** پانسمان هیدروژل، پلی‌وینیل پیرولیدون، زخم، موش صحرایی، هیستوپاتولوژی

**ارجاع:** فاضلی ورزنده رضا، مشتاقیان سید جمال، طالبی اردشیر، عابدینی فریدون. اثر پانسمان هیدروژل پلی‌وینیل پیرولیدون بر بهبود زخم

باز در موش صحرایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۳): ۲۱۳۴-۲۱۴۸

یک پدیده ی بیولوژیک است که با ایجاد زخم شروع شده، به دنبال آن فرآیند انعقاد خون، التهاب، بازسازی از طریق تکثیر سلولی، رگ‌زایی و تشکیل بافت همبند با واسطه‌ی انواع مختلف واسطه‌های شیمیایی نظیر سائتوکین‌ها و فاکتورهای رشد صورت می‌گیرد (۳).

#### مقدمه

زخم به عنوان یک معضل مهم در تروما، دیابت، جراحی و سوختگی، همواره مورد توجه خاص محققان پزشکی و فیزیولوژی بوده است. یکی از اهداف اصلی در ترمیم زخم، کاهش مدت زمان بهبود زخم با عوارض جانبی کمتر است (۱-۲). ترمیم زخم

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه آسیب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- بیمارستان سوانح سوختگی اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تسریع روند بازسازی اپی تلیوم از راه ایجاد محیط مرطوب برای زخم معرفی گردید (۱۷).

هدف از انجام همه‌ی این مطالعات، دستیابی به درمان سریع، کم‌عارضه و در عین حال کم‌هزینه‌ی زخم بوده است. با این وجود، تا این زمان، هیچ کدام از مواد شیمیایی یا گیاهی معرفی شده نتوانسته است به عنوان یک روش با تأثیر کامل توصیه شود (۱۸).

یکی از روش‌هایی که امروزه مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از مواد پلی‌مری در تهیه‌ی پانسمان می‌باشد (۱۹). هیدروژل‌ها دسته‌ای از مواد پلی‌مری با ساختار شبکه‌ای و دارای پیوندهای عرضی فیزیکی یا شیمیایی هستند که قابلیت تورم و جذب آب بالایی دارند (۲۰). این مواد در تماس با محلول‌های آبی واکنش نشان داده، قادرند میزان بسیار زیادی از مایع محیط اطراف را به درون شبکه‌ی خود جذب کنند. کاربردهای زیست پزشکی هیدروژل‌ها بیش از ۶۰ سال سابقه دارد (۲۱-۲۲).

هیدروژل‌ها برخی از ویژگی‌های هیدرودینامیک ژل‌های بیولوژیک بافت‌ها و سلول‌های بدن را مدل‌سازی می‌کنند (۲۳). ماهیت نرم و الاستیک برخی از هیدروژل‌ها اصطکاک سطحی این مواد را با بافت‌های اطراف کم می‌کند. کاهش اصطکاک سطحی سبب می‌شود تا سطوح ترمیمی پوست به هنگام تعویض پانسمان از سطح زخم جدا نشود (۲۴). پانسمان‌های موقت از جنس هیدروژل تا زمان بازسازی جایگزین اپی تلیوم از دست رفته‌ی پوست می‌شود. جلوگیری از ورود باکتری‌ها از دیگر ویژگی‌های پانسمان هیدروژل است (۲۵). پانسمان هیدروژل، بدون این که به باکتری‌ها اجازه‌ی رشد

پانسمان‌های متفاوتی برای بهبود زخم به کار می‌روند. پانسمان‌های سنتی مانند گاز و پنبه در کشور ما بسیار رایج هستند و بسیاری از ویژگی‌های یک پانسمان مطلوب را ندارند. این پانسمان‌ها از مواد طبیعی مانند کتان و سلولز و یا ترکیبات سنتتیک مانند پلی‌آمید درست شده است و فیبر و الیاف خود را در زخم به جای می‌گذارد (۴-۵). به علاوه، به بستر زخم چسبیده، آن را خشک و دهیدراته می‌کنند و نیاز به تعویض مکرر و مراقبت پرستاری ماهرانه دارند. عصاره‌ی گیاهان دارویی نیز برای درمان و یا جلوگیری از عفونت در پانسمان‌های سنتی مورد استفاده قرار گرفته است. استفاده از گیاهانی مانند آلوورا در دنیا رایج است و عسل نیز به واسطه‌ی ویژگی‌های بی‌نظیرش، در درمان زخم کاربردهای فراوانی دارد (۶-۹). در ایران مطالعاتی در زمینه‌ی استفاده از آلوورا (۱۱-۱۰)، مورد (۱۲)، کندر (۱۳)، گل ماهور (۱۴)، جوی دوسر (۱۵) و عسل (۱۶) در بهبود زخم صورت گرفته است.

تا چند دهه‌ی پیش، پانسمان‌های خشک به عنوان استاندارد مراقبت از زخم‌ها به کار می‌رفتند. این پانسمان‌ها با جذب و تبخیر سریع مایعات و ترشحات زخم موجب خشک شدن سریع زخم می‌شوند. با این که پانسمان‌های خشک از زخم در برابر آسیب‌های مجدد ناشی از عوامل بیرونی و تا حدودی در مقابل عوامل شیمیایی و میکروبی محیط محافظت می‌کنند، تأثیر چندانی بر روند التیام و بهبود زخم ندارند. کشف میکروب و تکنیک‌های استریل کردن در قرن نوزده میلادی توسط پاستور و دیگران منجر به تحول در پانسمان زخم شد. در سال ۱۹۶۳ استفاده از یک لایه‌ی پلی‌اورتان نیمه‌تراوا برای

است و ترکیباتی مانند آگار و پلی‌اتیلن گلیکول نیز به این منظور در ترکیب با آن به کار می‌روند (۳۳-۳۴). اشعه‌ی گاما نیز در سنتز پانسمان‌های هیدروژلی برای ایجاد پیوندهای عرضی بین این ترکیبات کاربرد دارد (۳۵).

پلی‌اتیلن گلیکول با سازش پذیری بالا، سمیت کم و قابلیت حل شدن در آب، کاندید خوبی برای پایه‌ی پانسمان‌های هیدروژلی است. این ترکیب برای آزاد سازی دارو و رهایش بیومولکول‌ها و فاکتورهای رشد مناسب است (۳۶-۳۷).

این پژوهش با هدف بررسی اثر پانسمان هیدروژل پلی‌وینیل پیرولیدون بر درمان زخم ایجاد شده در موش صحرایی انجام شد.

## روش‌ها

### طریقه‌ی ساخت هیدروژل

در ابتدا، پلی‌وینیل پیرولیدون با پلی‌اتیلن گلیکول با نسبت مشخص ترکیب و سپس آگار به آن اضافه شد و در ظروف پلاستیک مدل (با قطر ۵ سانتی‌متر و عمق ۲ تا ۳ میلی‌متر) قرار داده شد و روی آن در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با شیت پلی‌اتیلن پوشانده شد. ژل، جهت ایجاد پیوندهای عرضی و استریلیزه شدن تحت تابش اشعه‌ی الکترونی گاما با شدت ۲۵ کیلو گری قرار گرفت و ساختار بندی گردید (۳۸-۴۰).

این مطالعه‌ی تجربی آزمایشگاهی بر روی ۳۰ سر موش صحرایی ویستار نر بالغ ۳ ماهه با وزن تقریبی ۲۱۰ تا ۲۵۰ گرم انجام شد. موش‌ها از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌... (عج) تهیه شدند و پس از انتقال به لانه‌ی حیوانات،

داده، یا منجر به خشکی بیش از اندازه‌ی زخم شود، ترشح اضافی زخم را جذب می‌کند (۲۶). این پانسمان همچنین می‌تواند از زخم و بافت اطراف حفاظت کرده، باعث کاهش درد و تسریع بازسازی اپی‌درم شود (۲۷-۲۸).

هیدروژل‌ها محیط مرطوب و مناسبی را جهت ترمیم زخم مهیا کرده (۲۶)، تبادل گازی بین سطح زخم و محیط بیرون را تسهیل می‌کنند (۲۹). سازوکارهای فراوان نظیر تسهیل مهاجرت سلولی، تحریک فیبروبلاست‌ها برای ترشح کلاژن، تشکیل بستر مناسب برای انتقال واسطه‌های شیمیایی، تحریک ماکروفاژها و تسهیل دبریدمان اتولیتیک در روند ترمیم زخم توسط پانسمان‌های هیدروژل دخالت دارند (۳۰). هیدروژل‌ها خاصیت ترشوندگی بسیار خوب، رفتار الاستیکی بالا و زیست سازگاری مناسبی از خود نشان داده، می‌توانند به زخم رطوبت دهند و در صورت زیاد بودن ترشحات زخم، رطوبت‌گیری کنند. در لمس، خنک هستند، می‌توانند درد بیمار را کاهش دهند و در زخم‌های سوختگی استفاده‌ی فراوان دارند.

گستره‌ی وسیعی از پلی‌مرها شامل پلی‌وینیل پیرولیدون (PVP یا Polyvinylpyrrolidone)، کربوکسی‌متیل سلولز (CMC یا Carboxymethyl cellulose)، پلی‌هیدروکسی سلولز، پلی‌وینیل الکل (PVA یا Polyvinyl alcohol)، چیتوسان، هیالورونیک اسید و ژلاتین برای سنتز هیدروژل پزشکی پیشنهاد شده‌اند (۳۱-۳۲).

پلی‌وینیل پیرولیدون به علت نرمی، انعطاف پذیری، قیمت مناسب و توانایی نگهداری آب، در پانسمان‌های هیدروژلی مورد استفاده قرار گرفته



شکل ۱. نمونه‌ی هیدروژل بر روی موش صحرایی

### ارزیابی هیستومتری

به منظور ارزیابی هیستومتری، بلافاصله بعد از ایجاد زخم (روز صفر) و همچنین در روزهای سوم، هفتم، دهم، چهاردهم، هفدهم و بیست و یکم، پس از بیهوشی با اتر، تصاویر مربوط توسط دوربین دیجیتال SONY با درج مقیاس در کنار زخم در فواصل منظم و ثابت تهیه شد. مساحت تصاویر توسط یک مهندس با استفاده از نرم‌افزار AutoCAD<sub>۲۰۱۲</sub> (Autodesk, Inc., San Rafael, CA) به صورت کور محاسبه گردید. بهبودی زخم از طریق اندازه‌گیری سطح زخم و درصد بهبودی ارزیابی شد. پس از انتقال تصویر هر زخم به نرم‌افزار، ابتدا مقیاس سیستم اندازه‌گیری نرم‌افزار با انتخاب نقاط با فاصله‌ی شناخته شده در هر تصویر و در یکی از دو جهت افقی یا عمودی از روی مقیاس متریکی که در هنگام تهیه‌ی تصویر در کنار زخم قرار داده شده بود، کالیبره می‌شد. پس از کالیبره کردن، مرز ناحیه‌ای که هنوز توسط بافت پوششی پوشیده نشده بود، با به حرکت در آوردن مکان نمایی که نرم‌افزار در اختیار قرار می‌داد، مشخص شده، ناحیه‌ی مورد نظر در وضعیت انتخاب شده قرار می‌گرفت و سپس، مساحت آن

به مدت یک هفته با محیط سازگاری پیدا کردند. شرایط نگهداری آن‌ها، حرارت ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۰ درصد و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته در قفس جداگانه بود. تغذیه‌ی موش‌ها با پلت آماده صورت گرفت و آب به طور دائم در اختیار آنان قرار داشت.

پروتکل این مطالعه مطابق اصول اخلاقی مورد تأیید کمیته‌های بین‌المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی تهیه شد و مورد تأیید کمیته‌ی اخلاق زیست دانشگاه اصفهان و دانشگاه علوم پزشکی اصفهان قرار گرفت.

به منظور ایجاد زخم باز در ناحیه پشت موش‌های صحرایی، کتامین ۱۰ درصد به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن و زایلازین ۲ درصد به میزان ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت صفاقی تزریق شد (۱۱-۱۰). پس از بیهوشی حیوان، موهای ناحیه‌ی پشت توسط ماشین اصلاح برداشته و سطح پوست توسط تیغ تیز تراشیده شد (۴۱، ۷). محل مورد نظر برای ایجاد زخم، ابتدا به وسیله‌ی الکل ضد عفونی گردید. پوست ناحیه‌ی پشت در حد فاصل انتهای خلفی استخوان‌های کتف به ابعاد ۱ × ۱ نشانه‌گذاری گردید (۴۲) و کل پوست و هیپودرم با استفاده از قیچی و تیغ جراحی برداشته شد. تمام زخم‌ها توسط یک جراح ایجاد و با نرمال سالین شستشو داده شد. موش‌ها به صورت تصادفی به سه گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. در گروه شاهد، زخم‌ها تحت هیچ درمانی قرار نگرفت. گروه دوم تحت درمان با پماد تتراسایکلین نیم درصد به صورت روزانه قرار گرفتند و گروه سوم، به وسیله‌ی هیدروژل سنتز شده به صورت روزانه پانسمان شدند (شکل ۱).

و به دو روش Hematoxylin و Eosin (H&E)، جهت مشاهده مورفولوژی بافت، و Masson's trichrome (MT)، جهت مشاهده کلاژن، رنگ آمیزی شدند.

در مجموع، از گروه‌های سه گانه ی مورد مطالعه، طی روزهای ۷ و ۱۴ تعداد ۲۴ قالب بافتی تهیه شد. مراحل مختلف ترمیم شامل هموستاز، تشکیل مجدد بافت پوششی (Re-epithelialization)، تشکیل جوانه‌ی گوشتی (Granulation tissue)، نسج اسکار (Scar tissue)، انقباض زخم (Wound contraction)، رگ زایی (Angiogenesis)، نکروز بافتی و تجمع کلاژن با میکروسکوپ نوری و با استفاده از عدسی‌های میکرومتری طبق مطالعات Scardino و همکاران (۴۳) و Abramov و همکاران (۴۴) مورد بررسی قرار گرفت. کلیه‌ی تصاویر میکروسکوپی توسط میکروسکوپ مجهز به امکان تصویر برداری دیجیتال گرفته شد.

میزان نفوذ میکروب در مواجهه با مقاومت هیدروژل با بررسی میزان عبور میکروب از سطح هیدروژل به روی زخم مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور سه گونه‌ی باکتریایی *Pseudomonas aeruginosa* (۲۷۸۵۳)، *Escherichia coli* (۲۵۹۲۲) و *Staphylococcus aureus* (۲۵۹۲۳) که در تمامی زخم‌ها یافت می‌شوند، مورد بررسی قرار گرفت. باکتری‌ها با سوش مشخص از آزمایشگاه میکروب شناسی بیمارستان الزهراء (س) اصفهان و آزمایشگاه میکروب شناسی گروه زیست شناسی دانشگاه اصفهان تهیه گردید.

۲۴ ساعت بعد از رشد باکتری در محیط کشت، در محیط آزمایشگاه میکروب شناسی، یک قطعه

توسط نرم‌افزار محاسبه و ثبت می‌شد. روش سنجش بهبودی زخم از طریق اندازه‌گیری سطح زخم و محاسبه ی درصد بهبودی زخم بود. سطح زخم در روزهای ۰، ۳، ۷، ۱۰، ۱۴، ۱۷ و ۲۱ به روش Logan و Ferguson با واحد میلی‌متر مربع اندازه‌گیری شد (۱۰، ۱۵)

درصد اندازه‌ی زخم از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Wound size (percent)} = \frac{A_0}{A_t} * 100$$

در این فرمول،  $A_0$  محدوده‌ی مساحت اولیه‌ی زخم ایجاد شده و  $A_t$  محدوده‌ی مساحت زخم در زمان  $t$  می‌باشد.

درصد انقباض زخم (بهبودی زخم) از طریق فرمول زیر محاسبه شد (۴۲-۴۳):

$$\text{Wound size reduction (percent)} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} * 100$$

در این فرمول،  $A_0$  محدوده‌ی مساحت اولیه‌ی زخم ایجاد شده و  $A_t$  محدوده‌ی مساحت زخم در زمان  $t$  می‌باشد.

### ارزیابی هیستوپاتولوژی

جهت بررسی بافت شناسی زخم و پوست ترمیم شده، در روزهای هفتم و چهاردهم دوره ی آزمایش، زخم‌های در حال ترمیم در پشت دو حیوان در هر گروه، به شکل مربع همراه با اندکی از پوست سالم اطراف زخم برش داده شد و جدا گردید. نمونه‌های بافتی برداشته شده در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد و پس از طی مراحل Tissue processing، از بلوک‌های پارافینی تهیه شده، با استفاده از دستگاه میکروتوم برش‌های ۵ میکرونی تهیه گردید. برش‌ها به صورت عرضی و شامل پوست سالم و پوست ترمیم شده بود

در این فرمول،  $W_s$  وزن هیدروژل در حالت متورم و  $W_i$  وزن اولیه‌ی هیدروژل آماده شده است.

#### دهیدراته شدن (از دست دادن وزن)

میزان از دست دادن وزن بیانگر کاهش میزان آب هیدروژل در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد است. فرآیند دهیدراته شدن، به منظور شبیه سازی و بررسی عملکرد هیدروژل به عنوان پانسمان، مورد مطالعه قرار گرفت. برای محاسبه‌ی این میزان، یک نمونه‌ی  $10 \times 10$  سانتی‌متری از هیدروژل به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در یک پلیت شیشه‌ای در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد (دمای بدن) و رطوبت ۳۵ درصد در محیط عادی قرار داده شد و کاهش وزن آن در بازه‌های زمانی طبق فرمول زیر محاسبه گردید (۴۷):

$$\text{Weight Loss (percent)} = \frac{W_i - W_r}{W_i} * 100$$

در این فرمول،  $W_i$  وزن اولیه‌ی هیدروژل و  $W_r$  وزن هیدروژل پس از از دست دادن آب است.

#### درجه‌ی عبور بخار آب (WVTR یا Water vapor transmission rate)

بررسی تراوایی رطوبت هیدروژل به وسیله‌ی اندازه‌گیری درجه‌ی انتقال بخار آب با استفاده از استاندارد ASTM (American Society for Testing and Materials) میسر است (۴۸). به این منظور، یک قطعه هیدروژل با قطر ۲۵ و ضخامت ۳ میلی‌متر در دهانه‌ی لوله‌ی پلاستیکی با دهانه‌ی ۲۴ میلی‌متر محتوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد؛ به گونه‌ای که عبور بخار آب از لوله‌ی لوله‌ی پلاستیکی امکان پذیر نبود. سپس، لوله به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت ۳۵ درصد درون انکوباتور قرار گرفت (۴۹). لوله در بازه‌های زمانی مشخص وزن شد و دوباره در انکوباتور قرار گرفت. برای

هیدروژل استریلیزه شده با ضخامت ۲ و قطر ۱۵ میلی‌متر بر روی سطح محیط کشت آگار مربوط به هر کدام از باکتری‌ها قرار داده شد. روی سطح هیدروژل نیز توسط سوسپانسیون باکتری شامل *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* پوشیده شد و سپس، محیط‌های کشت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت قرار داده شد و در هر مرحله، مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی شامل سنجش میزان عبور باکتری از سطح هیدروژل به درون آن و نفوذ آن به محیط کشت بود. میزان رشد باکتری در سطح زیرین هیدروژل و لبه‌های آن و در هاله‌ی ایجاد شده در اطراف آن، مورد بررسی قرار گرفت.

#### خواص هیدروژل

##### تورم پذیری (جذب آب)

میزان تورم پذیری هیدروژل بیانگر میزان جذب آب توسط آن در زمان خاص و در دمای معین است. جذب آب یکی از ویژگی‌های اصلی هیدروژل در تأمین و نگهداری محیط مرطوب زخم می‌باشد (۴۵-۴۶).

برای این کار، یک قطعه هیدروژل با وزن اولیه‌ی مشخص به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت ۳۵ درصد در یک ظرف شیشه‌ای حاوی آب مقطر در محیط آزمایشگاه قرار می‌گرفت و در بازه‌های زمانی مشخص، برداشته شده، سطح آن با کتان خشک می‌شد و پس از تعیین وزن، دوباره به ظرف برگشت داده می‌شد. برای محاسبه‌ی درصد تورم هیدروژل از فرمول زیر استفاده شد (۴۶):

$$\text{Swelling(percent)} = \frac{W_s - W_i}{W_i} * 100$$

### یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار مساحت زخم‌های درمان شده با هیدروژل PVP در مقایسه با گروه شاهد و تتراسایکلین در روز سوم مشاهده‌ی زخم، بیانگر تفاوت معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ) (شکل ۲). اندازه‌ی زخم در گروه تتراسایکلین در روز سوم در مقایسه با روز صفر (روز شروع مطالعه) افزایش نشان داد. در روزهای سوم به بعد، اندازه‌ی زخم در هر سه گروه کاهش نشان داد و همچنان، تفاوت معنی‌داری بین گروه هیدروژل با سایر گروه‌ها در روزهای هفتم، دهم و چهاردهم دیده شد ( $P < 0/05$ ).

میزان بهبودی در روز هفتم در گروه هیدروژل  $4/72 \pm 79/31$ ، در گروه شاهد  $4/92 \pm 63/21$  و در گروه تتراسایکلین  $4/03 \pm 22/13$  درصد بود. در روز ۱۴، میزان بهبودی در گروه هیدروژل  $0/46 \pm 99/53$ ، در گروه تتراسایکلین  $0/83 \pm 83/16$  و در گروه شاهد  $0/83 \pm 89/26$  درصد بود که تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌ها نشان داد ( $P < 0/05$ ).

در روز هفتم، در بررسی میکروسکوپی مقاطع بافتی تهیه شده، اندازه‌ی Gap در گروه هیدروژل نسبت به

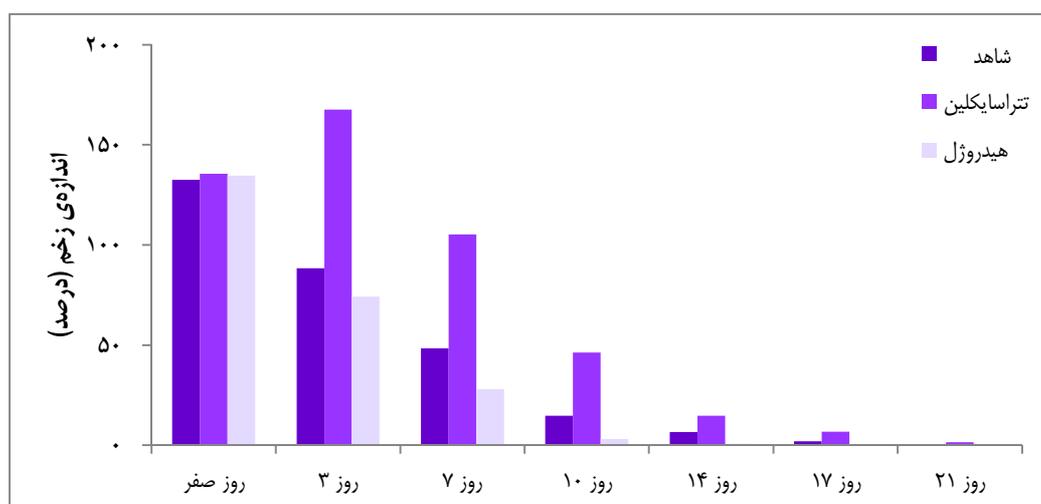
محاسبه‌ی میزان از دست دادن وزن و در نهایت، محاسبه‌ی میزان نفوذپذیری (بر حسب  $g/m^2/day$ ) از فرمول زیر استفاده شد ( $50$ ):

$$WVTR \text{ (percent)} = \frac{W_i - W_f}{24 * A} * 10^6$$

در این فرمول،  $W_i$  وزن هیدروژل و لوله قبل از قرار دادن در انکوباتور،  $W_f$  وزن هیدروژل و لوله پس از قرار دادن در انکوباتور در زمان مشخص و  $A$  مساحت دهانه‌ی لوله (میلی‌متر مربع) است.

به منظور تحلیل داده‌های به دست آمده، از بسته‌ی نرم‌افزاری SPSS نسخه‌ی ۲۱ تحت ویندوز ۷ (version 21, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد.

داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار مورد بررسی قرار گرفت. برای مقایسه‌ی درصد بهبودی زخم بین گروه‌های مورد آزمایش، از آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه (One-way Analysis of Variance) و Tukey's استفاده شد. مقایسه‌ی بین دو گروه با استفاده از آزمون Unpaired-sample-t انجام شد.  $P$  کمتر از  $0/05$  به عنوان سطح معنی‌دار تفاوت داده‌ها بین گروه‌های مختلف در نظر گرفته شد.

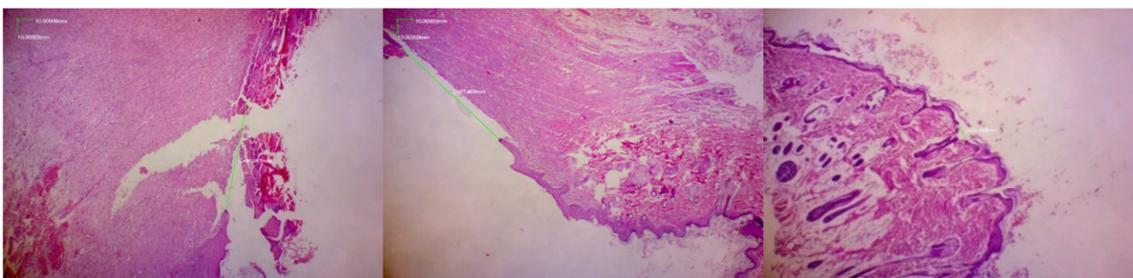


شکل ۲. نمودار اندازه‌ی زخم بر حسب درصد در سه گروه مورد بررسی

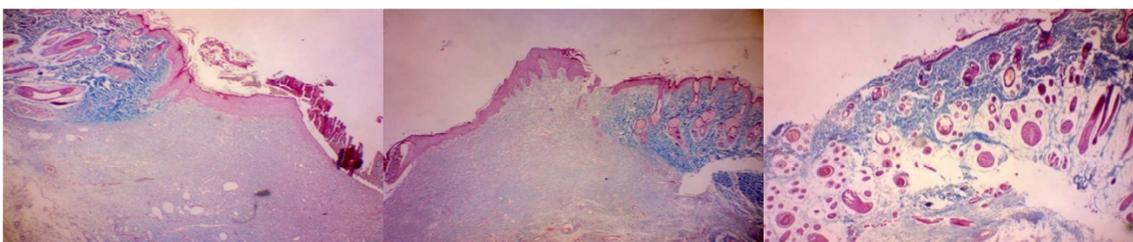


فولیکول‌های مو به تعداد زیاد مشاهده می‌شد. بافت گرانولیشن جای خود را به بافت اسکار داده بود و رشته‌های کلاژن به موازات اپی‌تلیوم دیده می‌شد. تراکم رگ‌های خونی کاهش نشان می‌داد. در رنگ آمیزی MT، بافت کلاژن به صورت منتشر دیده می‌شد. این یافته، نشانه‌ای از بهبود کامل زخم و تکمیل بافت اسکار است. تمام شاخص‌های ترمیم زخم در گروه هیدروژل نسبت به دو گروه شاهد و تتراسایکلین وضعیت بهتری را نشان می‌داد (شکل ۵ و ۶).

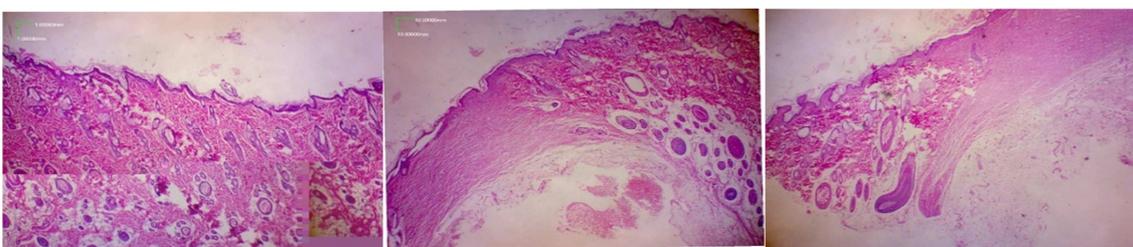
دو گروه شاهد و تتراسایکلین بسیار کمتر و تراکم فیبروبلاست و رگ‌های خونی نسبت به دو گروه دیگر بیشتر بود. در همین روز، میزان ضخامت اپی‌درم در گروه هیدروژل نسبت به دو گروه دیگر بیشتر بود و میزان نکروز بافتی و خونریزی و التهاب به حداقل رسیده بود (شکل ۳ و ۴). در بررسی میکروسکوپی مقاطع بافتی تهیه شده در روز چهاردهم، ضخامت اپی‌درم در گروه هیدروژل به حد پوست سالم رسیده بود و سطح اپی‌درم شاخی شده و ضخامت اپی‌درم از دو گروه دیگر بیشتر بود.



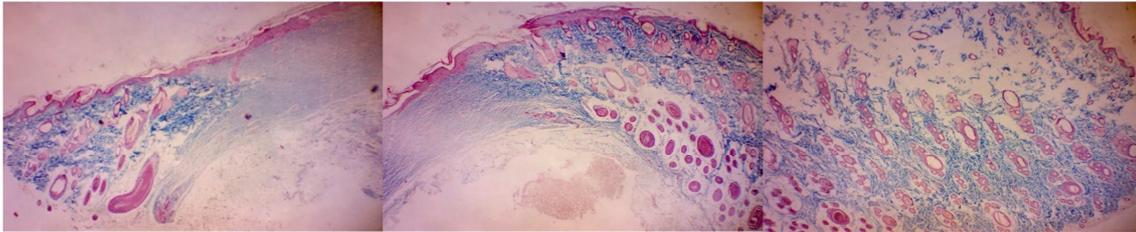
شکل ۳. اندازه‌ی Gap و میزان بازسازی اپی‌تلیوم و سنتز کلاژن در گروه‌های تتراسایکلین (چپ)، شاهد (وسط) و هیدروژل (راست) در روز هفتم پس از ایجاد زخم (رنگ‌آمیزی H&E (Hematoxylin & Eosin)) و بزرگ‌نمایی  $\times 40$ )



شکل ۴. میزان بازسازی اپی‌تلیوم و سنتز کلاژن در گروه‌های تتراسایکلین (چپ)، شاهد (وسط) و هیدروژل (راست) در روز هفتم پس از ایجاد زخم (رنگ‌آمیزی MT (Masson's trichrome) و بزرگ‌نمایی  $\times 40$ )

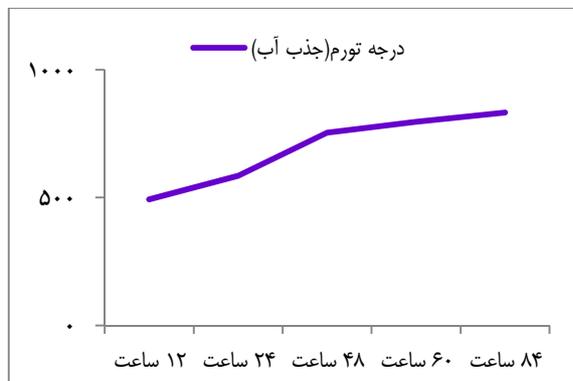


شکل ۵. اندازه‌ی Gap و میزان بازسازی اپی‌تلیوم و سنتز کلاژن در گروه‌های تتراسایکلین (چپ)، شاهد (وسط) و هیدروژل (راست) در روز چهاردهم پس از ایجاد زخم (رنگ‌آمیزی H&E (Hematoxylin & Eosin) و بزرگ‌نمایی  $\times 40$ )

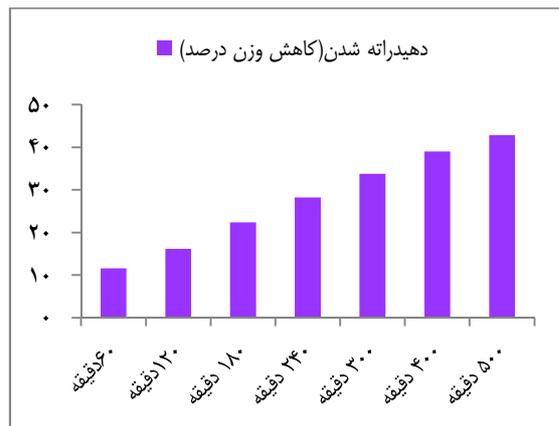


شکل ۶. میزان بازسازی اپی‌تلیوم و سنتز کلاژن در گروه‌های تتراسایکلین (چپ)، شاهد (وسط) و هیدروژل (راست) در روز چهاردهم پس از ایجاد زخم (رنگ‌آمیزی (Masson's trichrome) MT) و بزرگ‌نمایی (×۴۰)

۳۳ درصد بود و در ساعت ۸، به بیش از ۴۰ درصد رسید (شکل ۹). این شاخص در تأمین آب در سطح زخم و در ایجاد رطوبت و ترمیم زخم نقش دارد.



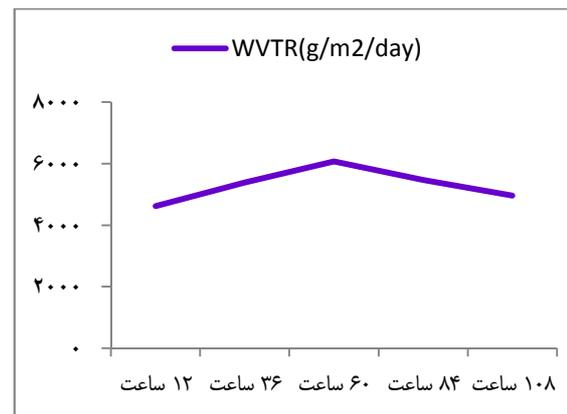
شکل ۸. نمودار درجه‌ی جذب آب توسط هیدروژل



شکل ۹. نمودار درجه‌ی از دست دادن آب توسط هیدروژل

آزمایشات میکروبی پانسیمان هیدروژل مورد استفاده نشان داد که امکان نفوذ باکتری از لایه ی

میزان عبور رطوبت (میزان تراوایی) هیدروژل در ۲۴ ساعت اولیه برابر با  $5380 \text{ g/m}^2/\text{day}$  بود و در روزهای آتی در بالاترین مقدار خود به  $6000 \text{ g/m}^2/\text{day}$  رسید (شکل ۷). تراوایی کمتر باعث عدم تبخیر آب از سطح زخم شده، در ترمیم سریع‌تر زخم مؤثر است.



شکل ۷. نمودار درجه‌ی عبور بخار آب از هیدروژل

WVTR: Water vapor transmission rate

درجه‌ی تورم، شاخص مؤثری در محاسبه‌ی میزان جذب آب توسط هیدروژل است؛ این میزان در ۲۴ ساعت اول، ۷۵۰ درصد و در بیشترین مقدار به بیش از ۸۰۰ درصد می‌رسد (شکل ۸). این شاخص، معرف میزان جذب آگزودای زخم توسط هیدروژل است.

دهیدراته شدن، معرف میزان از دست دادن آب از هیدروژل است. این مقدار، در ۵ ساعت اول برابر

نگهداری است (۵۲).

وجود آگزودای کافی در محل زخم در تکثیر کراتینوسیت‌ها نقش مثبت دارد (۵۳). هیدروژل با داشتن بیش از ۹۵ درصد آب در ساختار خود، در زخم‌های نیازمند رطوبت، سبب آزادسازی مقادیر متفاوتی از آب در بستر زخم گردیده، با ایجاد محیط مناسب و مرطوب و کمک به ایجاد دلمه‌ی فیبرینی و تجمع آگزودا در بستر زخم، داربست مناسب برای مهاجرت سلولی را فراهم می‌کند (۵۴).

هیدروژل‌ها با پوشاندن سطح زخم از ایجاد عفونت در سطح زخم جلوگیری کرده، از طرفی با جذب آگزودای اضافی در زخم‌های مزمن، در کاهش میزان التهاب در محل زخم مؤثرند (۵۵).

در مطالعه‌ی حاضر، اندازه‌ی زخم در روزهای سوم، هفتم و دهم بین دو گروه شاهد و هیدروژل تفاوت معنی‌دار نشان داد که با نتایج نوربالا و همکاران در روز دهم (۴۲) هم‌خوانی دارد. در گروه درمان با تتراسایکلین، اندازه‌ی زخم در روزهای اولیه افزایش نشان داد که می‌تواند ناشی از تأثیر مواد ضد باکتری بر کاهش میزان تکثیر فیبروبلاست باشد. این ترکیبات می‌توانند بر فیبروبلاست‌ها اثر توکسیک داشته، با آزادسازی آنزیم‌های هیدرولیتیک از باکتری‌ها سبب از بین رفتن اجزای ماتریکس خارج سلولی، مانند کلاژن، شوند (۵۶-۵۷).

در زخم‌های درمان شده با هیدروژل، هیچ عفونت و یا پوسته پوسته شدن مشاهده نشد. این وضعیت در گروه درمان با تتراسایکلین هم دیده نشد که می‌تواند ناشی از مرطوب ماندن زخم با روغن در گروه اخیر باشد. در گروه شاهد، در هفته‌ی دوم، حالت خشکی و پوسته پوسته شدن در زخم ایجاد گردید. بازسازی

فوقانی هیدروژل به درون آن و به محیط کشت، صفر است. با این وجود، هیچ هاله‌ی شفاف‌ی مبنی بر عدم رشد باکتری در اطراف هیدروژل‌های قرار داده شده در محیط کشت مشاهده نشد.

## بحث

زخم نسج از هم گسسته‌ای است که به سبب عوامل مختلف، پیوستگی طبیعی خود را از دست داده است. زخم ممکن است بر اثر عوامل گوناگونی مانند تروما، دیابت، اعمال جراحی و یا بستری طولانی مدت (زخم بستر) ایجاد گردد. ترمیم زخم یک پدیده‌ی بیولوژیک است که تسریع روند آن می‌تواند عامل بازدارنده‌ی بسیاری از بیماری‌های متعاقب زخم باشد. فرآیند بهبود زخم حاصل تعامل انواعی از سلول‌ها، ماتریکس خارج سلولی و واسطه‌های شیمیایی نظیر فاکتورهای رشد است که با هم، روند بازسازی بافت و تشکیل بافت همبند را پیش می‌برند (۵۱). با توجه به فرآیند بیولوژیک ترمیم انتظار می‌رود که تداخل مثبت در مراحل مختلف این روند بتواند ترمیم زخم را تسریع کند.

استفاده از هیدروژل در ترمیم زخم، با توجه به ساختار و ویژگی‌های آن، در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. این ویژگی‌ها شامل جذب کافی مایعات اضافه، جلوگیری از کم شدن آب، جلوگیری از ورود میکروب، وضعیت قرارگیری و چسبندگی روی زخم، قابلیت الاستیکی بالا، قدرت مکانیکی خوب، شفافیت بالا، نفوذپذیری نسبت به اکسیژن، کنترل آزادسازی دارو و خوش دست بودن جهت تعویض است. هیدروژل در عین داشتن این ویژگی‌های مثبت، ارزان قیمت بوده، به راحتی قابل

یک پانسمان مطلوب زخم باید میزان از دست دادن آب از زخم را در حد مناسب کنترل نماید (۶۱).  
WVTR هیدروژل مورد مطالعه در این پژوهش، به میزان  $4000-6000 \text{ g/m}^2/\text{day}$  بود که می‌تواند نقش مؤثری در نگهداری رطوبت در سطح زخم داشته، به مهاجرت سلولی کمک کند.

### نتیجه‌گیری

جمع بندی نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که پانسمان با هیدروژل پلی‌وینیل پیرولیدون دوره‌ی ترمیم زخم پوستی راکاهش داده، میزان عفونی شدن آن را به حداقل می‌رساند. این پانسمان همچنین سبب کاهش میزان ماندگاری جای زخم شده، از این راه می‌تواند در کاهش هزینه‌های مربوط به زیبا سازی پوست مؤثر باشد. استفاده‌ی آسان، عدم برداشت بافت ترمیمی ایجاد شده بر روی سطح زخم به هنگام تعویض، احساس خوشایند این نوع پانسمان و در نهایت، قیمت مناسب، آن را به عنوان یک پانسمان مطلوب برای کمک به ترمیم آسیب‌های پوستی معرفی می‌کند.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از نتایج به دست آمده از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد نویسنده‌ی اول است که هزینه‌ی انجام آن از سوی دانشگاه اصفهان تأمین شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاری گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان، به ویژه بخش‌های فیزیولوژی و میکروب‌شناسی این گروه، و نیز آزمایشگاه میکروب‌شناسی بیمارستان الزهراء (س) دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و پرسنل آزمایشگاه صبای ورزنه صمیمانه قدردانی نمایند.

اپی‌تلیوم بر اثر پوسته پوسته شدن به تعویق افتاده، در محیط مرطوب افزایش می‌یابد که دلیل آن، مهاجرت آسان‌تر کراتینوسیت‌ها در محیط مرطوب است (۵۸).  
سرعت حرکت سلول‌های اپی‌درمال در یک زخم با سطح مرطوب، دو برابر بیشتر از سرعت حرکت آن‌ها در زیر دلمه‌ی زخم است (۵۹).

ایجاد داربست فیبرینی بر روی سطح زخم، بدون ایجاد لخته‌ی ضخیم، در ۳ روز اول از ویژگی‌های شاخص گروه هیدروژل بود. در گروه شاهد، تشکیل لخته‌ی خشک بر روی سطح زخم سریع‌تر اتفاق افتاد. ایجاد لخته‌ی خشک از میزان مهاجرت سلولی در مراحل بعد می‌کاهد (۵۸).

وجود محیط مرطوب در زخم، به دلیل آگزودای اولیه، در رساندن مواد مغذی به زخم و ایجاد شرایط مناسب جهت مهاجرت و تکثیر سلولی اهمیت فراوان دارد. پانسمان‌های جدید، مانند هیدروژل، فوم و آلژینات‌ها، به گونه‌ای طراحی شده‌اند که با ایجاد یک محیط مرطوب، بهبودی زخم را تسریع می‌کنند و از شدت پاسخ التهابی نیز می‌کاهند (۶۰-۵۹).

نتیجه‌ی آزمایشات میکروبی پانسمان هیدروژل مورد استفاده در این مطالعه نشان داد که هیدروژل می‌تواند از نفوذ باکتری و بروز عفونت در زخم جلوگیری کند. با این حال، هیچ‌گونه هاله‌ی شفاف مبنی بر عدم رشد باکتری در اطراف هیدروژل‌های قرار داده شده در محیط کشت دیده نشد؛ چرا که، هیدروژل خاصیت ضد میکروبی ندارد و تنها به عنوان یک سد از ورود باکتری به محیط زیر خود جلوگیری می‌کند. این نتیجه با یافته‌های مطالعه Singh و Singh در این زمینه، هم‌خوانی دارد (۴۰).

## References

- Barnett SE, Varley SJ. The effects of calcium alginate on wound healing. *Ann R Coll Surg Engl* 1987; 69(4): 153-5.
- Cohen IK, Diegeimann RF. Wound care and wound healing. In: Schwartz SI, Shires CT, Speneer FC, Storer EH, editors. *Principles of surgery*. New York, NY: McGraw-Hill; 1999. p. 263-95.
- Mussel RL, De Sa SE, Costa AM, Mandarim-De-Lacerda CA. Mast cells in tissue response to dentistry materials: an adhesive resin, a calcium hydroxide and a glass ionomer cement. *J Cell Mol Med* 2003; 7(2): 171-8.
- Dinah F, Adhikari A. Gauze packing of open surgical wounds: empirical or evidence-based practice? *Ann R Coll Surg Engl* 2006; 88(1): 33-6.
- Harding K, Cutting K, Price P. The cost-effectiveness of wound management protocols of care. *Br J Nurs* 2000; 9(19 Suppl): S6, S8, S10.
- Atiba A, Nishimura M, Kakinuma S, Hiraoka T, Goryo M, Shimada Y, et al. Aloe vera oral administration accelerates acute radiation-delayed wound healing by stimulating transforming growth factor-beta and fibroblast growth factor production. *Am J Surg* 2011; 201(6): 809-18.
- Maenthaisong R, Chaiyakunapruk N, Niruntraporn S, Kongkaew C. The efficacy of aloe vera used for burn wound healing: a systematic review. *Burns* 2007; 33(6): 713-8.
- Ahmed AK, Hoekstra MJ, Hage JJ, Karim RB. Honey-medicated dressing: transformation of an ancient remedy into modern therapy. *Ann Plast Surg* 2003; 50(2): 143-7.
- Udwadia TE. Ghee and honey dressing for infected wounds. *Indian J Surg* 2011; 73(4): 278-83.
- Mohammadi Gh. Aloe vera. Tehran, Iran: Peyke Iran, Research of Forests and High Land Institute Publication; 1994. p. 9-12. [In Persian].
- Beigi Boroujeni V, Beigi AA, Avijgan M, Beigi Boroujeni N, Roohi Boroujeni H, Daris F. A comparative study of the effect of aloe vera gel compared with conventional therapies in the treatment of chronic wounds. *Yafte* 2009; 11(1):15-22. [In Persian].
- Jorsaraei SGh, Moghadamnia AA, Firoozjahi A, Miri SM, Omranirad A, Saghebi R, et al. A comparison on histopathological effects of Myrtle extract and silver sulfadiazine 1% on healing of second degree burn wound in rats. *J Qazvin Univ Med Sci* 2006; 1(1): 6-15. [In Persian].
- Ansari R, Arami R, Sahinfard N, Namjou A, Shirzad H, Rahimi M, et al. Effect of Teucrium polium and Boswellia serrata extracts on cutaneous burn wound healing in Balb/C mice. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2011; 12(4): 49-53. [In Persian].
- Nabiuni M, Oryan SH, Ayyobipor M, Bagheri M. Histochemical study of Verbascum speciosum extract's effects on the wound healing in rats. *J Cell Tissue* 2011; 2: 67-75. [In Persian].
- Nazari H, Jahanjo N, Safarieh M, Taherian M, Khaleghian A, Vafaei A, et al. The effect of Avena sativa alcoholic and aqueous extract on the wound healing and skin inflammation. *Urmia Med J* 2011; 22(5): 467-73. [In Persian].
- Riahy S, Imany H, Torkaman G, Mofid M, Goshooony H, Khoshbaten A. Effect of topical application of honey on skin wound healing with full thickness in male rats. *Trauma Mon* 2008; 13(03 SP 169-178).
- Winter GD, Scales JT. Effect of air drying and dressings on the surface of a wound. *Nature* 1963; 197: 91-2.
- Khaksari M, Rezvani ME, Sajadi MA, Soleimani A. The effect of topically applied water extract of Rhazya stricta on cutaneous wound healing in rats. *Koomesh* 2000; 1(3): 1-10. [In Persian].
- Leong M, Philips LG. Wound healing. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers M, Mattox KL, editors. *Sabiston text book of surgery: the biological basis of modern surgical practice*. 19<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2012. p. 151-77.
- Cascone MG, Barbani N, Cristallini C, Giusti P, Ciardelli G, Lazzeri L. Bioartificial polymeric materials based on polysaccharides. *J Biomater Sci Polym Ed* 2001; 12(3): 267-81.
- Nierzwicki W, Prins W. Hydrogels of crosslinked poly(1-glycerol methacrylate) and poly(2-hydroxypropyl methacrylamide). *J Appl Polym Sci* 1975; 19(7): 1885-92.
- Blanco MD, Olmo RS, Teijon JM. Hydrogels. In: Swarbrick J. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. 3<sup>rd</sup> ed. New York, NY: Informa Healthcare; 2006. p. 2021-39.
- Romanelli M, Mastronicola D. The role of wound-bed preparation in managing chronic pressure ulcers. *J Wound Care* 2002; 11(8): 305-10.
- Huang MH, Yang MC. Evaluation of glucan/poly(vinyl alcohol) blend wound dressing using rat models. *Int J Pharm* 2008; 346(1-2): 38-46.
- Purna SK, Babu M. Collagen based dressings--a

- review. *Burns* 2000; 26(1): 54-62.
26. Chaby G, Senet P, Vaneau M, Martel P, Guillaume JC, Meaume S, et al. Dressings for acute and chronic wounds: a systematic review. *Arch Dermatol* 2007; 143(10): 1297-304.
  27. Das N, Bera T, Mukherjee A. Biomaterial hydrogels for different biomedical applications. *Int J Pharm Bio Sci* 2012; 3(3):586-97.
  28. Kokabi M, Sirousazar M, Hassan ZM. PVA-clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. *Eur Polym J* 2007; 43(3): 773-81.
  29. Quinn KJ, Courtney JM, Evans JH, Gaylor JD, Reid WH. Principles of burn dressings. *Biomaterials* 1985; 6(6): 369-77.
  30. Kurkinen M, Vaheri A, Roberts PJ, Stenman S. Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue. *Lab Invest* 1980; 43(1): 47-51.
  31. Singh R, Chachkar MP, Mathur AK. Chitin membrane for wound dressing application--preparation, characterisation and toxicological evaluation. *Int Wound J* 2008; 5(5): 665-73.
  32. Murakami K, Aoki H, Nakamura S, Nakamura S, Takikawa M, Hanzawa M, et al. Hydrogel blends of chitin/chitosan, fucoidan and alginate as healing-impaired wound dressings. *Biomaterials* 2010; 31(1): 83-90.
  33. Benamer S, Mahlous M, Boukrif A, Mansouri B, Youcef SL. Synthesis and characterisation of hydrogels based on poly(vinyl pyrrolidone). *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 2006; 248(2): 284-90.
  34. Felinto MCFC, Parra DF, da Silva CC, Angerami J, Oliveira MJA, Lugao AB. The swelling behavior of chitosan hydrogels membranes obtained by UV and  $\gamma$ -radiation. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 2007; 265(1): 418-24.
  35. Lugao AB, Rogero SO, Malmonge SnM. Rheological behaviour of irradiated wound dressing poly(vinyl pyrrolidone) hydrogels. *Radiation Physics and Chemistry* 2002; 63(3\_6): 543-6.
  36. Gong C, Shi S, Dong P, Kan B, Gou M, Wang X, et al. Synthesis and characterization of PEG-PCL-PEG thermosensitive hydrogel. *Int J Pharm* 2009; 365(1-2): 89-99.
  37. Kim B, Peppas N. Poly(ethylene glycol)-containing Hydrogels for Oral Protein Delivery Applications. *Biomedical Microdevices* 2003; 5(4): 333-41.
  38. Ulanski P, Bothe E, Rosiak JM, von Sonntag C. Radiolysis of the poly(acrylic acid) model 2,4-dimethylglutaric acid: a pulse radiolysis and product study. *J Chem Soc Perkin Trans 2* 1996; (1): 5-12.
  39. Ulanski P, Bothe E, Hildenbrand K, Rosiak JM, von Sonntag C. Hydroxyl-radical-induced reactions of poly(acrylic acid); a pulse radiolysis, EPR and product study. Part I. Deoxygenated aqueous solutions. *J Chem Soc Perkin Trans 2* 1996; (1): 13-22.
  40. Singh R, Singh D. Radiation synthesis of PVP/alginate hydrogel containing nanosilver as wound dressing. *J Mater Sci Mater Med* 2012; 23(11): 2649-58.
  41. Sen CK, Khanna S, Gordillo G, Bagchi D, Bagchi M, Roy S. Oxygen, oxidants, and antioxidants in wound healing: an emerging paradigm. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 957: 239-49.
  42. Noorbala M, Dashti-Rahmatabadi MH, Binesh F, Morshedi A. Efficacy of Iranian hydrogel on wound healing in rat as an animal model. *Iran Red Crescent Med J* 2009; 11(4): 387-90.
  43. Scardino MS, Swaim S, Sartin E, Hoffman ChE, Oglivie G, Hanson R, et al. The effects of omega-3 fatty acid diet enrichment on wound healing. *Veterinary Dermatology* 1999; 10(4): 283-90.
  44. Abramov Y, Golden B, Sullivan M, Botros SM, Miller JJ, Alshahrour A, et al. Histologic characterization of vaginal vs. abdominal surgical wound healing in a rabbit model. *Wound Repair Regen* 2007; 15(1): 80-6.
  45. Singh R, Chouhan US, Purohit S, Gupta P, Kumar P, Kumar A, et al. Radiation processed amniotic membranes in the treatment of non-healing ulcers of different etiologies. *Cell Tissue Bank* 2004; 5(2): 129-34.
  46. Fechine GJM, Barros JAG, Catalani LH. Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogel production by ultraviolet radiation: new methodologies to accelerate crosslinking. *Polymer* 2004; 45(14): 4705-9.
  47. Zhai M, Yoshii F, Kume T, Hashim K. Syntheses of PVA/starch grafted hydrogels by irradiation. *Carbohydrate Polymers* 2002; 50(3): 295-303.
  48. ASTM E96-00. Standard test methods for water vapor transmission of materials. West Conshohocken, PA: ASTM International; 2000.
  49. Eisenbud D, Huang NF, Luke S, Silberklang M. Skin substitutes and wound healing: current status and challenges. *Wounds* 2004; 16(1): 2-17.
  50. Kannon GA, Garrett AB. Moist wound healing with occlusive dressings. A clinical review. *Dermatol Surg* 1995; 21(7): 583-90.
  51. Kondo T, Ishida Y. Molecular pathology of wound healing. *Forensic Sci Int* 2010; 203(1-3): 93-8.
  52. Rosiak JM, Olejniczak J. Medical applications of radiation formed hydrogels. *Radiation*

- Physics and Chemistry 1993; 42(4\_6): 903-6.
53. Boateng JS, Matthews KH, Stevens HN, Eccleston GM. Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. *J Pharm Sci* 2008; 97(8): 2892-923.
54. Yang X, Zhu Z, Liu Q, Chen X, Ma M. Effects of PVA, agar contents, and irradiation doses on properties of PVA/ws-chitosan/glycerol hydrogels made by  $\gamma$ -irradiation followed by freeze-thawing. *Radiation Physics and Chemistry* 2008; 77(8): 954-60.
55. Thomas S. Assessment and management of wound exudate. *J Wound Care* 1997; 6(7): 327-30.
56. Mertz PM, Ovington LG. Wound healing microbiology. *Dermatol Clin* 1993; 11(4): 739-47.
57. Cooper R, Lawrence JC. The prevalence of bacteria and implications for infection control. *J Wound Care* 1996; 5(6): 291-5.
58. Winter GD. Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature* 1962; 193: 293-4.
59. Bryan J. Moist wound healing: a concept that changed our practice. *J Wound Care* 2004; 13(6): 227-8.
60. Bullen EC, Longaker MT, Updike DL, Benton R, Ladin D, Hou Z, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 is decreased and activated gelatinases are increased in chronic wounds. *J Invest Dermatol* 1995; 104(2): 236-40.
61. Lamke LO, Nilsson GE, Reithner HL. The evaporative water loss from burns and the water-vapour permeability of grafts and artificial membranes used in the treatment of burns. *Burns* 1977; 3(3): 159-65.

## The Effects of Polyvinyl Pyrrolidone Hydrogel Dressing on Open-Wound Healing in Rats

Reza Fazeli Varzaneh<sup>1</sup>, Seied Jamal Moshtaghian Phd<sup>2</sup>, Ardeshir Talebi MD<sup>3</sup>,  
Fereidoon Abedini MD<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Different compounds and methods have been used for wound healing over years. New dressings such as hydrogels have shown remarkable effects on wound healing. Hydrogels have been considered as favorite wound dressings due to their transparency, exchange of respiratory gases, adsorption of water and exudates, regulation of wound temperature, prevention of infections and easy replacement. This study was designed to investigate the effects of polyvinylpyrrolidone hydrogel (PVP) dressing on wound healing in rats.

**Methods:** 30 male Wistar rats weighing  $230 \pm 20$  g were equally and semi-randomly distributed into 3 groups of control, treated with tetracycline and treated with hydrogel. After anesthesia and shaving the area, a 1 x 1 cm section was made on the skin of the back of the rats. The treatment period was 21 days and measurement of the wound area was performed on the days 0, 7, 10, 14, 17 and 21. Wound tissue samples for histopathologic examination were taken on the days 7 and 14. Data were analyzed via SPSS software using ANOVA test.

**Findings:** Wound recovery in hydrogel group was significantly faster than other groups ( $P < 0.05$ ). Duration of the wound presence and skin discoloration was also significantly shorter in hydrogel group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** The results of this study indicate that the hydrogel dressing leads to quick recovery of cutaneous wound.

**Keywords:** Hydrogel dressing, Polyvinylpyrrolidone, Wound, Rat, Histopathology

**Citation:** Fazeli Varzaneh R, Moshtaghian SJ, Talebi A, Abedini F. **The Effects of Polyvinyl Pyrrolidone Hydrogel Dressing on Open-Wound Healing in Rats.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(313): 2134-8.

1- MSc Student, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

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

4- Burn Causalities Hospital of Isfahan, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Reza Fazeli Varzaneh, Email: r\_299@yahoo.com



## بررسی انواع استرابیسم در ۱۰۰ کودک بیمار مراجعه کننده به بیمارستان فیض اصفهان در سال ۱۳۹۰

دکتر حسن رزمجو<sup>۱</sup>، یحیی حاج یحیی<sup>۲</sup>، ابراهیم جعویک<sup>۳</sup>، دکتر سید محمد علی ابطحی<sup>۳</sup>، علی مهربانی کوشکی<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**مقدمه:** استرابیسم یکی از بیماری‌های چشمی شایع است که درجانی از آن در غالب کودکان وجود دارد. این اختلال می‌تواند باعث اشکال در بینایی و کاهش عملکرد، به خصوص در طی دوران تحصیل، شود؛ ولی با وجود شیوع بالا و پیامدهای جدی این بیماری، تا زمان انجام این پژوهش، مطالعه‌ای اپیدمیولوژیک در مورد این بیماری در اصفهان انجام نشده بود. مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین انواع استرابیسم در ۱۰۰ کودک بیمار مراجعه کننده به بیمارستان فیض در اصفهان در سال ۱۳۹۰ انجام شد.

**روش‌ها:** طی یک مطالعه‌ی مقطعی، که در سال ۱۳۹۰ در بیمارستان فیض اصفهان انجام گرفت، ۱۰۰ کودک مبتلا به استرابیسم مراجعه کننده به درمانگاه‌های این بیمارستان مورد بررسی قرار گرفتند. ویژگی‌های دموگرافیک، نوع استرابیسم، حدت بینایی، سابقه‌ی تروما و سابقه‌ی عمل جراحی قبلی مطالعه شد و داده‌ها با نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** در این مطالعه، ۱۰۰ کودک مبتلا به استرابیسم با میانگین سنی  $4/50 \pm 7/05$  سال مطالعه شدند که ۳۲ نفر از آنان پسر و ۶۸ نفر دختر بودند. نوع استرابیسم در ۵۶ نفر ایزوتروپیا، در ۳۴ نفر آگزوتروپیا و در ۱۰ نفر هیپوتروپیا بود. چشم مبتلا به استرابیسم، در ۱۷ نفر چشم راست، در ۲۶ نفر چشم چپ و در ۵۷ نفر هر دو چشم بود. حدت بینایی چشم راست و چپ به ترتیب  $0/127 \pm 0/532$  و  $0/160 \pm 0/078$  و اختلاف حدت دو چشم معنی‌دار بود ( $P < 0/001$ ). از نظر سوابق بیماری، ۱۵ نفر دارای سابقه‌ی عمل جراحی قبلی، ۲ نفر با سابقه‌ی تروما و ۴ نفر دارای بیماری‌های زمینه‌ای بودند.

**نتیجه‌گیری:** بیماری استرابیسم یک بیماری به نسبت شایع در جامعه‌ی ما می‌باشد و از آن جایی که سن تشخیص و درمان این بیماری می‌تواند در پیش‌آگهی درمان و حدت بینایی مؤثر باشد، لازم است در خصوص ارتقای سطح آگاهی‌های عمومی، معاینه‌ی چشم پزشکی کودکان و اقدام به درمان در زمان مناسب اقدام گردد.

**واژگان کلیدی:** استرابیسم، حدت بینایی، هیپوتروپیا، ایزوتروپیا، آگزوتروپیا

**ارجاع:** رزمجو حسن، حاج یحیی یحیی، جعویک ابراهیم، ابطحی سید محمد علی، مهربانی کوشکی علی. **بررسی انواع استرابیسم در ۱۰۰ کودک بیمار مراجعه کننده به بیمارستان فیض اصفهان در سال ۱۳۹۰.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۳): ۲۱۵۶-۲۱۴۹

وجود دارد (۱). سیستم عصبی عضلانی شیرخواران اغلب نارس است؛ به طوری که در چند ماه اول زندگی، متغیر بودن تنظیم حرکات چشم ناشایع

#### مقدمه

هر گونه انحراف از امتداد صحیح چشم را استرابیسم می‌نامند. استرابیسم در قریب به ۴ درصد کودکان

۱- استاد، گروه چشم پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۳- استادیار، گروه چشم پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- اپیدمیولوژیست، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

مبتلا به اختلال تکامل سیستم عصبی بودند. این مطالعه نشان داد که خطر ابتلا به استرابیسم تنها در کودکان با مادران غیر سفید پوست کمتر بود. خطر اختلال تکامل سیستم عصبی، که باعث استرابیسم در مادران می‌شود، در مادرانی که طی حاملگی سیگار مصرف می‌کردند، بیشتر بود. همچنین، این وضعیت به بیماری‌های مادر طی بارداری و میزان افزایش وزن طی حاملگی نیز بستگی داشت (۹).

در مطالعه‌ی Robaei و همکاران نیز فاکتورهای که با استرابیسم کودکی ارتباط داشت، ارزیابی شد. در این مطالعه، ۱۷۳۶ کودک ۶ ساله در شهر سیدنی طی سال‌های ۲۰۰۳ تا ۲۰۰۴ میلادی از نظر ابتلا به استرابیسم ارزیابی شدند که استرابیسم در ۴۸ کودک (۲/۸ درصد) وجود داشت. ۵ نفر تحت عمل جراحی اصلاح چشم قرار گرفته بودند. ۲۶ کودک (۵۴ درصد) دچار ایزوتروپیا و ۱۴ کودک (۲۹ درصد) دچار اگزوتروپیا بودند. ۷ نفر (۱۵ درصد) میکرواسترابیسم داشتند و یک کودک نیز فلج عصب VI مغزی داشت (۱۰).

در مطالعه‌ی Novak و Preslan در پروژهای بالتیمور، اختلالات چشمی کودکان غربالگری شد. در این مطالعه، شیوع آمبلوپی، استرابیسم و اختلالات انکساری در کودکان ارزیابی گردید. در معاینه‌ی ۶۸۰ کودک توسط افتالمولوژیست، شیوع آمبلوپی ۳/۹ درصد، استرابیسم ۳/۱ درصد و اختلالات انکساری ۸/۱ درصد بود (۱۱).

آن چه مسلم است، این مطالعات اپیدمیولوژیک در سایر کشورها صورت گرفته ولی در کشور ما، به خصوص در سال‌های اخیر، چنین مطالعه‌ای انجام نگرفته است. مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین انواع

نیست. انحراف گذرای چشم‌ها به طرف داخل شایع‌تر است و ممکن است به همراه نارس بودن سیستم تطابق-تقارب باشد (۲). بهبودی تدریجی تیزی دید همراه با تکامل سیستم حرکت چشم سبب پایداری تنظیم حرکات چشم در دو ماهگی می‌شود (۳-۱). هر نوع اختلال در حرکات چشم بعد از این سن بایستی توسط چشم پزشک ارزیابی گردد. به منظور حفظ بهترین تیزی دید ممکن و دید دو چشمی، باید بلافاصله بعد از تشخیص این حالت، درمان شروع شود.

اهداف اصلی درمان استرابیسم در کودکان عبارت از خنثی کردن آثار حسی زیان‌آور استرابیسم و در امتداد هم قرار دادن محور دو چشم به بهترین وجه ممکن از طریق طبی و یا جراحی می‌باشد (۴-۵).

در مورد ارزیابی کودکان این نکته لازم به ذکر است که کودکان را در هر سنی می‌توان معاینه کرد. درمان استرابیسم باید هر چه زودتر شروع شود. مطالعات نشان می‌دهد که مغز شیرخوار به طور کامل به تجربیات حسی واکنش نشان می‌دهد و کیفیت عملکرد بینایی در مابقی عمر به مقدار زیادی به تجربیات اولیه‌ی زندگی بستگی دارد (۲-۱).

مطالعات نشان داده است که نتایج کلی به طور مطلوبی تحت تأثیر اصلاح زود هنگام چشم‌ها، به ویژه تا سن ۲ سالگی، است. بعد از ۲ سالگی نیز می‌توان انحراف چشم‌ها را اصلاح نمود ولی تطابق حسی مناسب با کودک دشوارتر می‌شود (۸-۶).

در مطالعه‌ی Patahi و همکاران، ۱۴۹۸۰ کودک طی یک مطالعه‌ی هم‌گروهی از نظر استرابیسم ارزیابی شدند. در این مطالعه مشخص شد که ۳۴۳ بیمار استرابیسم داشتند و از این بین، ۵/۸ درصد

نقص در پرونده، با والدین بیمار تماس گرفته شد و نسبت به تکمیل اطلاعات، اقدام گردید.

داده‌های به دست آمده در نهایت وارد رایانه شد و به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ (version 22, SPSS Inc., Chicago, IL) با استفاده از آزمون‌های آماری  $\chi^2$ ، Paired-t و آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۰۰ کودک مبتلا به استراییسم مراجعه کننده به بیمارستان فیض، مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) سنی بیماران  $7/05 \pm 4/50$  سال (با دامنه‌ی ۱-۱۷ سال) بود. ۳۶ بیمار در سن زیر ۵ سال، ۳۷ نفر ۵-۹ سال، ۱۷ نفر ۱۰-۱۴ سال و ۱۰ بیمار نیز در سن ۱۵ سال و بالاتر قرار داشتند.

۳۲ نفر از بیماران، پسر و ۶۸ نفر دختر بودند. میانگین سن پسران و دختران به ترتیب  $8/25 \pm 5/00$  و  $6/49 \pm 4/20$  سال بود و اختلاف بین دو جنس، معنی‌دار نبود ( $P = 0/07$ ). در شکل ۱، توزیع سنی پسران و دختران نشان داده شده است.

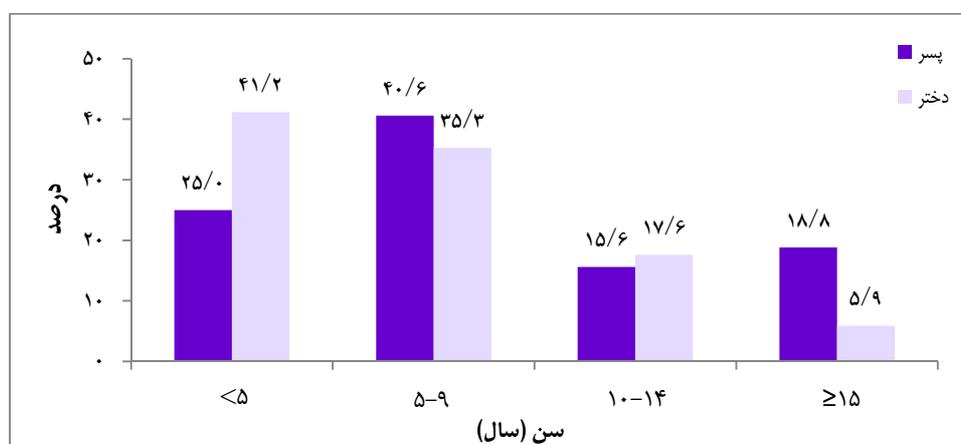
استراییسم در ۱۰۰ کودک بیمار مراجعه کننده به بیمارستان فیض در شهر اصفهان به انجام رسید.

### روش‌ها

این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی در سال ۱۳۹۰ در بیمارستان فیض شهر اصفهان انجام شد. جامعه‌ی هدف، کودکان مبتلا به استراییسم مراجعه کننده به درمانگاه‌های این بیمارستان بودند.

معیارهای ورود به مطالعه شامل سن زیر ۱۸ سال، ابتلا به استراییسم و موافقت بیمار یا والدین برای شرکت در مطالعه بود. همچنین، مقرر شد در صورت عدم دسترسی به والدین بیمار جهت تکمیل اطلاعات، بیمار از مطالعه خارج گردد.

روش کار به این صورت بود که بعد از تصویب پروپوزال، ۱۰۰ بیمار مبتلا به استراییسم که به این بیمارستان مراجعه کرده و تحت درمان قرار گرفته بودند، انتخاب شدند و اطلاعات لازم، اعم از ویژگی‌های دموگرافیک، سوابق بیماری، حدت بینایی، نوع استراییسم و سوابق بیماری از پرونده‌ی آنان استخراج و در فرم ویژه‌ای که به همین منظور طراحی شده بود، ثبت گردید. همچنین، در صورت وجود



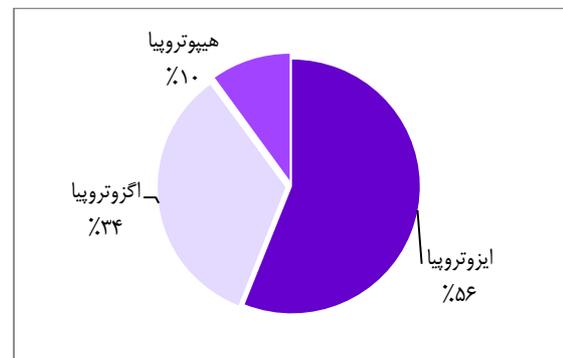
شکل ۱. درصد فراوانی گروه سنی در پسران و دختران مبتلا به استراییسم

چشم راست و چپ اختلاف معنی‌دار داشت ( $P < 0/001$ ). از نظر سوابق بیماری، ۱۵ نفر دارای سابقه‌ی عمل جراحی قبلی، ۲ نفر سابقه‌ی تروما و ۴ نفر دارای بیماری‌های زمینه‌ای بودند.

در جدول ۱، توزیع متغیرهای دموگرافیک و حدت بینایی بر حسب نوع استرابیسم در بیماران تحت مطالعه نشان داده شده است. بر حسب آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، میانگین سن بیماران بر حسب نوع استرابیسم اختلاف معنی‌دار داشت و بیماران مبتلا به نوع ایزوتروپیا به‌طور معنی‌داری، میانگین سنی کمتری نسبت به انواع اگزوتروپیا و هیپوتروپیا داشتند ولی میانگین سنی دو گروه اگزوتروپیا و هیپوتروپیا تفاوت معنی‌دار نداشت.

از نظر توزیع جنس، هر چند که درصد بالاتری از بیماران گروه هیپوتروپیا نسبت به دو گروه دیگر دختر بودند، ولی طبق آزمون  $\chi^2$ ، نوع استرابیسم بر حسب جنس تفاوت معنی‌دار نداشت.

نوع استرابیسم در ۵۶ نفر ایزوتروپیا، در ۳۴ نفر اگزوتروپیا و در ۱۰ نفر هیپوتروپیا (Vertical deviation) بود (شکل ۲).



شکل ۲. درصد فراوانی نوع استرابیسم در بیماران تحت مطالعه

در ۱۷ نفر چشم راست، در ۲۶ نفر چشم چپ و در ۵۷ نفر هر دو چشم مبتلا به استرابیسم بود. حدت بینایی چشم راست و چپ به ترتیب  $0/127 \pm 0/0532$  و  $0/160 \pm 0/078$  بر مبنای Logmar بود و طبق آزمون Paired-t، حدت بینایی

جدول ۱. توزیع فراوانی نوع استرابیسم بر حسب مشخصات دموگرافیک، سوابق، چشم مبتلا و حدت بینایی

متغیر	نوع	ایزوتروپیا (۵۶ نفر)	اگزوتروپیا (۳۴ نفر)	هیپوتروپیا (۱۰ نفر)	P
میانگین سن (سال)		$5/48 \pm 3/97$	$8/65 \pm 4/55$	$10/40 \pm 4/14$	$< 0/001$
جنس	پسر	۱۷ (۳۰/۴)	۱۴ (۴۱/۲)	۱ (۱۰/۰)	۰/۱۹۰
	دختر	۳۹ (۶۹/۶)	۲۰ (۵۸/۸)	۹ (۹۰/۰)	
چشم مبتلا	راست	۸ (۱۴/۳)	۷ (۲۰/۶)	۲ (۲۰/۰)	۰/۱۷۰
	چپ	۱۱ (۱۹/۶)	۱۰ (۲۹/۴)	۵ (۵۰/۰)	
	هر دو چشم	۳۷ (۶۶/۱)	۱۷ (۵۰/۰)	۳ (۳۰/۰)	
میانگین حدت بینایی چشم راست		$0/05 \pm 0/15$	$0/054 \pm 0/08$	$0/065 \pm 0/10$	۰/۹۴۰
میانگین حدت بینایی چشم چپ		$0/078 \pm 0/16$	$0/054 \pm 0/08$	$0/15 \pm 0/29$	۰/۲۳۰
سابقه‌ی عمل جراحی [تعداد]		۸ (۱۴/۳)	۵ (۱۴/۷)	۲ (۲۰/۰)	۰/۸۴۰
سابقه‌ی تروما [تعداد]		۱ (۱/۸)	۱ (۲/۹)	۰ (۰)	۰/۹۹۰
سابقه‌ی ابتلا به بیماری زمینه‌ای [تعداد]		۲ (۳/۶)	۲ (۵/۹)	۰ (۰)	۰/۷۶۰

نوع استراییسم بر حسب چشم مبتلا نیز اختلاف معنی‌دار نداشت و میانگین حدت بینایی دو چشم نیز در سه گروه، از نظر آماری متفاوت نبود. بررسی سوابق بیماران نیز نشان داد که سابقه‌ی قبلی عمل جراحی، سابقه‌ی تروما و وجود بیماری زمینه‌ای نیز در سه گروه متفاوت نبود.

### بحث

هدف کلی از انجام این مطالعه، تعیین انواع استراییسم در ۱۰۰ کودک بیمار مراجعه کننده به بیمارستان فیض در شهر اصفهان در سال ۱۳۹۰ بود. میانگین سن بیماران مورد مطالعه،  $4/50 \pm 7/05$  سال بود و با وجود این که درمان استراییسم بایستی در اولین فرصت ممکن انجام گیرد، درصد قابل توجهی از بیماران در سنین بالا اقدام به درمان نموده بودند؛ به طوری که، ۲۷ درصد بیماران در سن بالاتر از ۱۰ سال قرار داشتند. لازم است در خصوص ارتقاء سطح آگهی های عمومی در مورد استراییسم و لزوم تشخیص و درمان به موقع آن اقدام گردد.

از طرف دیگر، برابر نتایج این مطالعه، اقدام به درمان در مورد دختران مطلوب‌تر از پسران بود؛ به طوری که، ۴۱/۲ درصد دختران در سن زیر ۵ سال تحت درمان قرار گرفته بودند در حالی که، این نسبت در پسران ۲۵/۰ درصد بود. این تفاوت جنسیتی از بینش فرهنگی و اجتماعی نشأت می‌گیرد.

بررسی نوع استراییسم در بیماران مورد مطالعه نشان داد که غالب بیماران (۵۶ درصد) مبتلا به نوع ایزوتروپیا بودند و نوع هیپوتروپیا با فراوانی ۱۰ درصد کمترین شیوع را داشت؛ این نتایج نزدیک به آمار به دست آمده در مطالعه‌ی Robaei و

همکاران می‌باشد (۱۰).

ایزوتروپیی (چشم‌های متقاطع یا همگرا) به دو نوع عمده تقسیم می‌شود که شامل فرم فلجی (ناشی از فلج یا ضعف یک یا چند عضله‌ی خارجی چشم) و غیر فلجی (Comitant) می‌باشد. شایع‌ترین ایزوتروپیی در شیرخواران و کودکان، نوع غیر فلجی است که می‌تواند تطابقی، غیرتطابقی یا ترکیبی از آن دو باشد. اکثر موارد جدید ایزوتروپیی در بالغین نوع فلجی است؛ در حالی که در کودکان، این نوع نادر است. اکثر موارد ایزوتروپیی غیر تطابقی کودکان در دسته‌ی ایزوتروپیی شیرخواران قرار می‌گیرد که در ۶ ماهگی شروع می‌شود و بقیه، که بعد از ۶ ماهگی شروع می‌شود، در دسته‌ی ایزوتروپیی غیر تطابقی اکتسابی جای می‌گیرد (۳). از این رو، تعیین نوع استراییسم و شناسایی موارد بیشتر درمان‌پذیر از موارد فلجی و کمتر درمان‌پذیر، بسیار با اهمیت است و در پیش‌آگهی درمان نیز مهم می‌باشد.

بررسی حدت بینایی در بیماران مورد مطالعه نشان داد که حداقل، ۱۴ درصد بیماران دارای حدت بینایی کمتر از ۰/۰۹ در چشم راست و ۱۷ درصد دارای بینایی کمتر از ۰/۰۹ در چشم چپ بودند؛ می‌توان نتیجه‌گیری نمود که درصد قابل توجهی از این بیماران دچار مشکلات عیوب انکساری بوده‌اند و به منظور جلوگیری از کاهش حدت بینایی لازم است در اسرع وقت، اقدامات درمانی در این قبیل بیماران انجام گیرد. در مطالعه‌ی Preslan و Novak نیز ۸/۱ درصد بیماران مبتلا به استراییسم، دارای عیوب انکساری بودند (۱۱) که شیوع پایین‌تری از مشکلات بینایی را نسبت به بیماران ما نشان می‌دهد. البته، بیماران مورد مطالعه‌ی ما، از حدت بینایی

احتمال می‌رود از ناریسی سیستم تطابق-هم‌گرایی ناشی شود)، ولی کم‌کم با بهبود حدت بینایی و بلوغ سیستم اکولوموتور، این انحرافات رفع می‌شود؛ بقای این انحرافات بعد از ۲ ماهگی نیاز به بررسی چشم‌پزشکی دارد و ارتقای سطح آگاهی والدین در خصوص زمان بروز انحرافات چشمی لازم و ضروری می‌باشد.

همچنین در شرح حال بیماران، سابقه‌ی فامیلی استرابیسم و آمبلیوپی، سن شروع (هر چه کمتر باشد، پیش‌آگهی برای دید دو چشمی بدتر است)، سرعت ایجاد و نوع انحراف و رابطه‌ی آن با نگاه به دور و نزدیک و ثابت بودن فیکساسیون در یک چشم یا جابه‌جایی متناوب آن بین دو چشم باید مشخص شود.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این پژوهش و مقایسه‌ی آن با دیگر تحقیقات انجام شده، نتیجه‌گیری کلی که می‌توان از این مطالعه داشت این است که، بیماری استرابیسم یک بیماری به نسبت شایع در جامعه ما است و از آن جایی که سن تشخیص و درمان این بیماری می‌تواند در پیش‌آگهی درمان و حدت بینایی مؤثر باشد، لازم است در خصوص ارتقای سطح آگاهی‌های عمومی، معاینه‌ی چشم‌پزشکی کودکان و اقدام به درمان در زمان مناسب اقدام گردد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای یحیی حاج یحیی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

مطلوب‌تری در چشم راست نسبت به چشم چپ برخوردار بودند.

بررسی ارتباط بین نوع استرابیسم و ویژگی‌های دموگرافیک و سوابق بیماران تحت مطالعه نشان داد که بیماران مبتلا به نوع هیپوتروپیا از میانگین سنی بالاتری برخوردار بودند و همچنین در نوع اگزوتروپیا، میانگین سنی بیماران بالاتر از نوع ایزوتروپیا بود؛ این یافته می‌تواند بیانگر زمان تشخیص بیماری و اقدام به درمان بر حسب نوع بیماری باشد؛ به طوری که، نوع ایزوتروپیا به علت آشکار بودن توازن چشمی، در زمان زودتری تشخیص داده می‌شود.

از نظر توزیع جنسی نیز هر چند که نوع هیپوتروپیا در دختران شیوع بالاتری نسبت به دو نوع ایزو و اگزوتروپیا داشت، ولی اختلاف معنی‌داری بین دو جنس دیده نشد که البته اختلاف مشاهده شده بین پسران و دختران نیز می‌تواند ناشی از توجه بیشتر والدین به وجود این بیماری در دختران و در نتیجه، اقدام به درمان سریع‌تر در آنان باشد.

همچنین برابر نتایج به دست آمده، توزیع سایر متغیرها از جمله چشم مبتلا، حدت بیماری و سوابق جراحی، تروما و بیماری زمینه‌ای بر حسب نوع استرابیسم اختلاف معنی‌دار نداشت؛ هر چند که برخی مطالعات نشان داده است که نوع استرابیسم بر حسب برخی متغیرها، و از جمله بیماری زمینه‌ای، متفاوت می‌باشد (۹).

ذکر این نکته نیز حائز اهمیت است که در ۴ ماه اول زندگی، به علت ناریسی سیستم عصبی-عضلانی، انحراف چشم نادر نیست (به ویژه به سمت داخل، که

## References

1. Green-Simms AE, Mohny BG. Epidemiology of pediatric strabismus. In: Birgit L, Francois-Xavier B, editors. Pediatric Ophthalmology, Neuro-Ophthalmology, Genetics. New York, NY: Springer; 2010. p. 1-9.
2. Kohler L, Stigmar G. Vision screening of four-year-old children. Acta Paediatr Scand 1973; 62(1): 17-27.
3. Agarwal PK, Bowman R, Courtright P. Child Eye Health Tertiary Facilities in Africa. J AAPOS 2010; 14(3): 263-6.
4. Graham PA. Epidemiology of strabismus. Br J Ophthalmol 1974; 58(3): 224-31.
5. Laatikainen L, Erkkila H. Refractive errors and other ocular findings in school children. Acta Ophthalmol (Copenh) 1980; 58(1): 129-36.
6. Friedman Z, Neumann E, Hyams SW, Peleg B. Ophthalmic screening of 38,000 children, age 1 to 2 1/2 years, in child welfare clinics. J Pediatr Ophthalmol Strabismus 1980; 17(4): 261-7.
7. Kvarnstrom G, Jakobsson P, Lennerstrand G. Visual screening of Swedish children: an ophthalmological evaluation. Acta Ophthalmol Scand 2001; 79(3): 240-4.
8. Almeder LM, Peck LB, Howland HC. Prevalence of anisometropia in volunteer laboratory and school screening populations. Invest Ophthalmol Vis Sci 1990; 31(11): 2448-55.
9. Pathai S, Cumberland PM, Rahi JS. Prevalence of and early-life influences on childhood strabismus: findings from the Millennium Cohort Study. Arch Pediatr Adolesc Med 2010; 164(3): 250-7.
10. Robaei D, Rose KA, Kifley A, Cosstick M, Ip JM, Mitchell P. Factors associated with childhood strabismus: findings from a population-based study. Ophthalmology 2006; 113(7): 1146-53.
11. Preslan MW, Novak A. Baltimore Vision Screening Project. Ophthalmology 1996; 103(1): 105-9.

## Study of 100 Children with Strabismus Admitted to Feyz Hospital, Isfahan, Iran, in 2012-2013

Hassan Razmjoo MD<sup>1</sup>, Yahya Haj-Yahya<sup>2</sup>, Ebrahim Javic<sup>2</sup>,  
Seyyed Mohammadali Abtahi MD<sup>3</sup>, Ali Mehrabi-Koushki MSc<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Strabismus is a common eye disease which symptoms is visible in most of the children. It can cause poor vision and decrease performance, especially during the study. However, despite the high prevalence and serious consequences of the disease, epidemiological studies had not been conducted on this disease in Iran before the current study. We aimed to determine the types of strabismus in 100 children admitted to Feyz hospital, Isfahan, Iran, during 2012-2013.

**Methods:** In a cross-sectional study, 100 children with strabismus were enrolled. Demographic characteristics, type of strabismus, visual acuity, history of trauma, and previous surgery were studied. Data were analyzed using SPSS software.

**Findings:** Of 100 children with strabismus with a mean age of  $7.05 \pm 4.50$  years, 32 were boys and 68 were girls. Type of the strabismus was isotropia in 56, exotropia in 34 and hypotropia in 10 patients. The strabismus was in right eye in 17, left eye in 57 and of both eyes in 26 patients. Visual acuity was  $0.532 \pm 0.137$  and  $0.078 \pm 0.160$  in the right and left eyes, respectively, with a statistically significant difference ( $P < 0.001$ ). History previous surgery in 15, history of the trauma in 2 and history of underlying diseases in 4 patients was positive.

**Conclusion:** Stabism is one of the prevalent diseases in our community and early diagnosis may lead to better prognosis and vidual acuity. Thus, improving general awarness and pediatric ophthalmology examinations and appropriate actions should be done.

**Keywords:** Strabism, Viginal acuity, Hypotropia, Isotropia, Exotropia

**Citation:** Razmjoo H, Haj-Yahya Y, Javic E, Abtahi SM, Mehrabi-Koushki A. **Study of 100 Children with Strabismus Admitted to Feyz Hospital, Isfahan, Iran, in 2012-2013.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(313): 2149-56

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

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

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

4- Epidemiologist, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Ali Mehrabi-Koushki MSc, Email: mehrabi@mui.ac.ir



## مقایسه‌ی اثر پالس نور شدید همراه با محلول موضعی اریترومايسين ۲ درصد در برابر محلول موضعی اریترومايسين ۲ درصد تنها در درمان ماکول‌های مزمن قرمز آکنه صورت\*

دکتر گیتا فقیهی<sup>۱</sup>، دکتر امین خرازی‌های اصفهانی<sup>۲</sup>، دکتر سید محسن حسینی<sup>۳</sup>، دکتر محمد رضا رادان<sup>۴</sup>، دکتر محمد علی نیلفروش زاده<sup>۵</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** همواره نیاز برای درمان آکنه به روش‌های جدیدتر وجود دارد. برای این منظور، از فن‌آوری پالس نور شدید (IPL یا Intense pulsed light) استفاده شده است، اما تعداد مطالعات محدودی در این زمینه وجود دارد. از آن جایی که ماکول‌های قرمز و قرمزی باقی مانده از ضایعات التهابی آکنه بسیار معمول، مقاوم و دراز مدت است، در این مطالعه تصمیم به بررسی اثر IPL (به عنوان ابزاری برای کاهش واکنش‌های قرمز در بافت‌ها) برای درمان ماکول قرمز باقی مانده در اثر آکنه‌ی صورت گرفته شد.

**روش‌ها:** سی و پنج بیمار در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. ثبت نام بیماران بین دی‌ماه ۱۳۸۹ و خردادماه ۱۳۹۰ صورت گرفت و مطالعه در مهرماه ۱۳۹۰ به پایان رسید. هر بیمار سه جلسه IPL، با فاصله‌ی ۲ هفته‌ای بین هر جلسه، در سمت راست چهره‌ی خود دریافت کرد. همچنین، به بیماران توصیه شد تا از محلول اریترومايسين موضعی ۲ درصد، دو بار در روز در تمام چهره‌ی خود از آغاز تا پایان مطالعه (یعنی تا ۳ ماه پس از جلسه‌ی سوم IPL) استفاده کنند. یک پزشک جداگانه شمارش تعداد ماکول‌های قرمز را قبل از هر جلسه‌ی IPL و ۱ و ۳ ماه پس از آخرین جلسه به انجام رساند.

**یافته‌ها:** سی و سه نفر مطالعه را به اتمام رساندند و در تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج مطالعه نشان داد که درمان IPL تعداد ماکول‌های قرمز را در طول زمان کاهش می‌دهد.

**نتیجه‌گیری:** IPL می‌تواند سرعت بهبود ماکول قرمز مزمن باقی‌مانده بعد از آکنه‌ی التهابی را سرعت بخشد. مطالعات بیشتر مورد نیاز است تا نقش دقیق آن را توضیح دهد.

**واژگان کلیدی:** آکنه، درمان، پالس نور شدید

**ارجاع:** فقیهی گیتا، خرازی‌های اصفهانی امین، حسینی سید محسن، رادان محمد رضا، نیلفروش زاده محمد علی. **مقایسه‌ی اثر پالس نور شدید همراه با محلول موضعی اریترومايسين ۲ درصد در برابر محلول موضعی اریترومايسين ۲ درصد تنها در درمان ماکول‌های**

**مزمن قرمز آکنه صورت.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۳): ۲۱۶۴-۲۱۵۷

\* نسخه‌ی انگلیسی این مقاله در مجله‌ی **Advanced Biomedical Research** سال ۲۰۱۲ دوره‌ی ۱ شماره‌ی ۱ صفحه‌ی ۷۰ به چاپ رسیده است.

۱- استاد، مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران و مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک و گروه پوست، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک و گروه پوست، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک و گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- دانشیار، مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Email: amin.kharazi@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر امین خرازی‌های اصفهانی

## مقدمه

آکنه ولگاریس یک بیماری بسیار شایع پوست در سرتاسر جهان می‌باشد و به احتمال زیاد، با استفاده از مواد آرایشی و بهداشتی نامطلوب و اثرات روانی در ارتباط است. حتی با وجود درمان‌های مختلف مؤثر، همیشه نیاز به گزینه‌های درمانی بی‌ضررتر، در دسترس‌تر و مؤثرتر برای درمان آکنه وجود دارد (۱). ضرورت توصیف چنین درمان‌های مکملی با موضوعاتی مانند مقاومت آنتی‌بیوتیکی و عوارض جانبی و تجهیزات نظارتی شامل استفاده از ایزوترتینوئین خوراکی تقویت شده است (۲).

فن‌آوری‌های نوری متنوعی در درمان آکنه ولگاریس بررسی شده و نتایج اولیه‌ی امیدوارکننده‌ای توسط برخی از محققان پیشنهاد شده است اما، مطالعات آن‌ها اغلب کوچک بوده و مجموعه‌ی موارد بالینی کنترل نشده بوده است (۳). حتی با برخی مکانیسم‌های پیش‌بینی شده که به موجب آن، فن‌آوری‌های نوری ممکن است آکنه را بهبود بخشد، تأیید دقیقی از اثر بخشی این روش وجود ندارد. انجام تجزیه و تحلیل در منابع موجود در این زمینه، فقدان آزمایش‌های تصادفی کنترل شده از درمان‌های بر پایه‌ی نور و لیزر برای آکنه ولگاریس را نشان می‌دهد (۴). به همین دلیل، ما یک آزمایش تصادفی از پالس نوری شدید (IPL یا Intense pulsed light) از طریق iPULSE™ را برای درمان ماکول قرمز مزمن، که پس از ضایعات التهابی آکنه‌ی صورت باقی می‌ماند و به درمان‌های معمول پاسخ نمی‌دهد، به انجام رساندیم.

## روش‌ها

سی و پنج بیمار در این مطالعه وارد شدند. اطلاعات

بیماران بین دی‌ماه ۱۳۸۹ و خردادماه ۱۳۹۰ جمع‌آوری شد و مطالعه در مهرماه ۱۳۹۰ به پایان رسید.

معیارهای ورود به مطالعه شامل حضور حداقل پنج ماکول اریتوماتوی آکنه‌ی مزمن در هر طرف صورت بیمار بود. ضایعات باید حداقل ۲ ماه پس از درمان استاندارد تغییری نداشته باشد. بیماران، موارد خفیف تا متوسط آکنه ولگاریس صورت را دارا بودند.

معیارهای خروج از مطالعه نیز شامل استفاده از رتینوئید خوراکی از ۶ ماه قبل از مطالعه، ضرورت درمان سیستمیک (به عنوان مثال Nodulocystic یا آکنه‌ی زخم شونده)، سابقه‌ی کلویید، ویتیلیگو، مصرف مواد مخدر که موجب تشدید ضایعات آکنه شود، سابقه‌ی سرطان پوست، اختلالات حساسیت به نور و سابقه‌ی بهبود زخم ضعیف (مانند دیابت) بود.

این مطالعه یک کارآزمایی بالینی تصادفی یک سو کور بود و گروه‌های مورد و شاهد، به ترتیب طرف راست و چپ صورت هر فرد بودند. بیماران این مطالعه از کلینیک بیماری‌های پوستی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ارجاع شده بودند.

از بیماران خواسته شد تا درمان آکنه را به هر دو شکل خوراکی و موضعی به ترتیب از حداقل ۴ و ۲ هفته قبل از اولین جلسه‌ی IPL و همچنین در طول مطالعه (یعنی تا ۳ ماه پس از سومین جلسه‌ی IPL) قطع کنند. هر بیمار سه جلسه IPL، با فاصله‌ی ۲ هفته‌ای و در سمت راست صورت دریافت کرد. همچنین، توصیه کردیم بیماران محلول ایترومایسین موضعی ۲ درصد (پاک دارو، ایران) را دو بار در روز در کل صورت خود از آغاز تا پایان مطالعه (تا ۳ ماه پس از جلسه‌ی سوم IPL) استفاده کنند. قبل از هر جلسه‌ی IPL، از بیماران درخواست شد تا همه‌ی

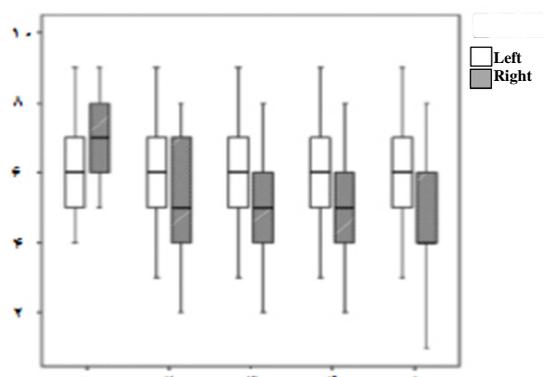
نسخه‌ی ۱۵ (version 15, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد.

### یافته‌ها

پنجاه و چهار بیمار انتخاب شدند و در ۳۵ بیمار همه‌ی معیارهای ورود به مطالعه یافت شد و بنابراین در مطالعه ثبت شدند. سی و سه بیمار، از جمله ۸ مرد و ۲۵ زن، با متوسط سن  $24/0 \pm 2/5$  و دامنه‌ی ۱۶ تا ۴۲ سال مطالعه را کامل کردند و مشمول تجزیه و تحلیل داده شدند.

هیچ کدام از بیماران به آکنه نودولوسیستیکی مبتلا نبودند. از نظر فتوتایپ پوست (فیتزپاتریک)، فتوتایپ ۲ در ۹ نفر، فتوتایپ ۳ در ۲۴ نفر و فتوتایپ ۴ در ۲ نفر ملاحظه شد.

در ابتدا، از نمودار BOXPLOT برای بررسی میانگین تعداد ماکول‌های قرمز در جلسات درمان پشت سر هم و برای هر دو طرف صورت استفاده شد. در شکل شماره‌ی ۱، الگوی کاهشی در تعداد ماکول‌های قرمز سمت راست (به عنوان طرف درمان شده با IPL) مشاهده می‌شود.



شکل ۱. نمودار Boxplot برای میانگین تعداد ماکول‌های قرمز هر دو طرف صورت

آرایششان را پاک کنند و صورت خود را با آب و صابون بشویند. تمام درمان IPL توسط سیستم iPULSE™ با پارامترهای طول موج ۵۳۰-۱۱۰۰ نانومتر، اندازه‌ی نقطه‌ی  $27 \times 33$  میلی‌متر و یک پاس با شار متوسط از  $14-16 \text{ J/cm}^2$  انجام شد. مدت زمان پالس سیستم با برنامه‌های مختلف کامپیوتری کنترل شد؛ در مطالعه‌ی ما، برنامه بر روی  $14-18 \text{ J/cm}^2$  تنظیم شده بود. به همه‌ی بیماران توصیه شد تا از در معرض قرار گرفتن آفتاب به مدت ۴۸ ساعت جلوگیری کنند و به طور منظم، کرم ضد آفتاب SPF۳۰ فاقد چربی (راسن، ایران) و مرطوب کننده‌ی فاقد چربی (دکتر ژیلا، ایران) استفاده کنند.

یک عکاس آماتور با استفاده از یک دوربین دیجیتال ( $10,24 \times 768$  پیکسل)، قبل از هر جلسه‌ی IPL و ۱ و ۳ ماه پس از جلسه‌ی سوم از بخش چپ و راست صورت بیماران عکس گرفت. یک پزشک متخصص پوست، به طور جداگانه بیماران را قبل از هر جلسه‌ی IPL و یک و ۳ ماه پس از جلسه‌ی سوم مورد بررسی قرار داد. پزشک، تعداد ماکول قرمز را با استفاده از عکس‌ها و نیز به صورت بالینی، با بررسی صورت بیماران، شمارش کرد. وی از این که کدام طرف از چهره با IPL تحت درمان قرار گرفته، ناآگاه بود. علاوه بر آن، این بیماران ۱ هفته بعد از هر جلسه‌ی IPL، از نظر عوارض جانبی احتمالی مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات مربوط به طرف راست و چپ صورت به طور جداگانه ثبت شد.

جهت تحلیل داده‌ها، از آزمون‌های Repeated-measures analysis of variances (ANOVA) (Repeated-measures) و Mauchly's test of sphericity در نرم‌افزار SPSS

آزمون غیر مؤثر بودن درمان IPL را رد کرد و نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که درمان با IPL تعداد ماکول‌های قرمز را در طول زمان کاهش می‌دهد.

همچنین، میزان تفاوت بین طرف راست و چپ (تفاوت گروه مورد نسبت به گروه شاهد) از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۳).

اگر چه در ۳۵ درصد از افراد، ابتلا به سوزش خفیف و اریتم در سمت درمان شده با IPL مشاهده شد، که تنها چند ساعت به طول انجامید، ولی چهار نفر مبتلا به درد و اریتم قابل توجه (بیشتر از ۱ روز) شدند. در این افراد، از درمان‌های مکمل نظیر کرم‌های ضدآفتاب و نرم کننده استفاده شد؛ با این حال، ۲ بیمار به دلیل ایجاد عوارض از مطالعه خارج شدند. یکی از این دو بیمار دچار درد شدید دو طرفه، قرمزی، تورم، پوسته پوسته شدن و حساسیت به نور شد (جدول ۴). قریب به ۱۰ درصد از بیماران نیز مبتلا به سوزش خفیف در هر دو طرف چهره به دلیل استفاده از لوسیون موضعی اریترومايسين شدند.

همچنین، متوسط تعداد ماکول‌های قرمز در جلسات درمان متوالی برای هر دو طرف صورت در جدول ۱ ارایه شده است.

نتایج تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با آزمون Repeated-measures ANOVA در جدول ۲ آمده است.

از آزمون آماری Wilks' lambda برای بررسی اثر بخشی روش درمانی در جلسات متوالی استفاده شد. مقدار این معیار ۰/۵۲۵ و از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < ۰/۰۰۱$ ) و نشان داد که تعداد ماکول‌های قرمز در سمت راست با سمت چپ متفاوت می‌باشد.

آزمون Mauchly's test of sphericity مدل کروی را نشان داد ( $P < ۰/۰۰۱$ ) و بنا بر این، درجه‌ی ارزیابی معنی‌دار Greenhouse-Geisser بر مبنای اثر زمان و تأثیر زمان بر درمان تنظیم شد. نتایج نشان داد که هر دو اثر زمان و اثر متقابل زمان و درمان از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < ۰/۰۰۱$ ). بنا بر این، این

جدول ۱. میانگین و انحراف از معیار تعداد ماکول‌های قرمز قبل، در حین و پس از درمان

سه ماه پس از جلسه‌ی سوم IPL	یک ماه پس از جلسه‌ی سوم IPL	قبل از جلسه‌ی سوم IPL	قبل از جلسه‌ی دوم IPL	اولیه	
۴/۸۲ ± ۱/۴۰	۴/۴۸ ± ۱/۵۶	۵/۲۱ ± ۱/۵۱	۵/۳۳ ± ۱/۵۵	۶/۸۲ ± ۱/۲۸	راست
۶/۰۶ ± ۱/۵۸	۶/۰۹ ± ۱/۴۸	۶/۱۵ ± ۱/۴۳	۶/۲۷ ± ۱/۵۴	۶/۳۰ ± ۱/۳۵	چپ

IPL: Intense pulsed light

جدول ۲. جدول خلاصه نتایج آزمون Repeated Measures Analysis of Variances

منبع	SS	df	F	P
زمان (جلسه)	۶۴/۳۱۲	۴	۲۶/۶۷۶	< ۰/۰۰۱
تیمار (طرف) * زمان	۴۲/۹۸۲	۴	۱۷/۸۲۷	< ۰/۰۰۱
باقیمانده	۱۵۴/۳۰۳	۲۵۶		

جدول ۳. نتایج آزمون اثر بین موضوعی

منبع	مجموع مربع نوع ۳	df	مربع میانگین	F	Signification	Partial eta squared
جلوگیری	۱۰۹۲۷/۸۸	۱	۱۰۹۲۷/۸۸	۱۲۸۸/۰۷۳	۰	۰/۹۵۳
طرف	۵۸/۵۴۸	۱	۵۸/۵۴۸	۶/۹۰۱	۰/۰۱۱	۰/۰۹۷
خطا	۵۴۲/۹۷	۶۴	۸/۴۸۴			

جدول ۴. عوارض جانبی معنی دار درمان

	یک هفته پس از اولین جلسه‌ی IPL		یک هفته پس از دومین جلسه‌ی IPL		یک هفته پس از سومین جلسه‌ی IPL	
	چپ	راست	چپ	راست	چپ	راست
درد شدید	۴	۱	۰	۰	۰	۰
اریتمای شدید	۴	۱	۲	۰	۲	۰
حساسیت نوری	۲	۱	۲	۰	۱	۰
تورم شدید	۱	۱	۰	۰	۰	۰
تاول	۰	۰	۰	۰	۰	۰
پوست پوست شدن	۱	۱	۰	۰	۰	۰

IPL: Intense pulsed light

اغلب کمتر از ۳۰ دقیقه طول می‌کشد. بهبودی در عرض ۲ هفته آغاز و در عرض ۳ ماه بعد کامل می‌شود. بیمار ممکن است بلافاصله از مرطوب کننده استفاده کند و به کار یا فعالیت‌های دیگر باز گردد. سیستم IPL، نور زرد، سبز و قرمز را در توالی از پالس‌های کوتاه منتشر می‌کند. نور زرد/سبز، باکتری‌هایی را که در پوست زندگی می‌کنند و باعث آکنه می‌شوند، از بین می‌برد؛ در حالی که نور قرمز، به طور مستقیم غدد چربی بیش از حد فعال، که باعث شیوع جوش‌ها می‌شوند، را مورد هدف قرار می‌دهد. این حرارت، در اعماق پوست، باعث کوچک شدن غدد چربی ملتهب می‌شود و به جلوگیری از تولید بیش از حد چربی اضافی کمک می‌کند. برخی از محققان پیشنهاد می‌کنند که مکانیسم‌های نور آبی و قرمز به طور هم‌زمان منجر به پاسخ می‌شوند (۷).

## بحث

از دلایل استفاده از IPL، درمان ماکول قرمز به جا مانده از التهاب ضایعات آکنه‌ی صورت می‌باشد. این ضایعات در اثر اتساع عروقی ناشی از پروسه‌ی التهابی، که منجر به تجمع گلوبول‌های قرمز و ایجاد واکنش‌های نوری-گرمایی و در نتیجه، باعث بهبود و کاهش ضایعات التهابی آکنه می‌شود، ایجاد می‌گردد (۵). درمان IPL باکتری‌های پوستی مسؤول آکنه را از بین می‌برد و ممکن است از بروز بالقوه‌ی آکنه ولگاریس پیش‌گیری کند (۶).

فن‌آوری پالس نوری مقدار صحیح نور را در اندازه‌ی نقطه‌ای مناسب برای احتیاج درمانی بیماران فراهم می‌کند. IPL باکتری‌ها را از بین برده، به آرامی پوست اطراف لکه را گرم می‌کند و در ادامه، کلاژن تولید می‌کند که روند بهبود را افزایش می‌دهد. درمان،

جلسه سوم IPL ادامه داشت (شکل ۲). یافته‌های ما با نتایج Choawawanich و Rojanamatin (۸) یکسان، اما با یافته‌های مطالعه‌ی Yeung و همکاران (۹) متفاوت است. این مورد ممکن است به علت تفاوت در واکنش پوست آسیایی‌ها به IPL در مقایسه با سفیدپوستان باشد.

در مطالعه‌ی ما، تنها چهار نفر مبتلا به قرمزی و سوزش پس از درمان IPL شدند که دو نفر از آن‌ها از مطالعه خارج شدند. ما هیچ مورد تاول زده و یا اختلالات رنگدانه‌ای بعد از درمان IPL مشاهده نکردیم. عوارض جانبی اضافی ناشی از IPL یا لوسیون اریترومیاسین موضعی، جزئی و قابل تحمل بود.

### نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، مطالعه‌ی ما منطبق با برخی از مطالعات قبلی است که روش IPL را به عنوان روش درمانی مؤثر و بی‌خطر برای درمان ضایعات التهابی آکنه صورت نشان داده‌اند. در حالی که، مطالعات قبلی این روش را برای ماکول، پاپول، پوسچول التهابی اولیه مورد بررسی قرار دادند، ما درمان IPL را برای ماکول‌های قرمز مزمن مورد بررسی قرار دادیم و آثار مفید درمانی حداقل ۳ ماه پس از آخرین جلسه‌ی IPL باقی ماندند. با این حال، مطالعات بیشتری لازم است تا نقش صحیح IPL در درمان ضایعات مختلف آکنه‌ی صورت مشخص کند.

### تشکر و قدردانی

از کارکنان عزیز مرکز پیوند پوست و موی صدف و کارکنان درمانگاه پوست و موی بیمارستان الزهرای (س) اصفهان قدردانی می‌کنیم.

Choawawanich و Rojanamatin نشان دادند که IPL هم به تنهایی و هم بعد از ۵-ALA (Aminolevulinic acid) می‌تواند آکنه‌ی التهابی صورت را بهبود بخشد؛ اما درجه‌ی بهبود در طرف تحت درمان با ۵-ALA بهتر بود (۸).

Yeung و همکاران واکنش به IPL را در پوست آسیایی‌ها مورد بررسی قرار دادند؛ این واکنش، اغلب از واکنش به IPL بر روی پوست سفیدپوستان متفاوت است. آن‌ها کاهش قابل توجهی را در ضایعات غیرالتهابی گروه درمان شده با IPL در مدت ۱۲ هفته پس از درمان مشاهده کردند؛ اما IPL بهبود قابل توجهی را در آکنه‌ی التهابی متوسط در مقایسه با گروه شاهد موجب نشد (۹).

در یک بررسی، Haedersdal و همکاران نتایج حاصل از ۱۶ آزمایش تصادفی کنترل شده (RCT یا Randomized controlled trial) و ۳ آزمایش کنترل شده (CT یا Controlled trial) در مورد منابع لیزر و نور در درمان آکنه ولگاریس شامل IPL (یک مورد RCT و دو مورد CT) را مشخص کردند. در کل، درمان IPL با کمک فتودینامیک نسبت به IPL به تنهایی بهتر به نظر می‌رسید (۱۰).

سامی و همکاران نیز به دلیل افزایش مقاومت به آنتی بیوتیک، فتوتراپی را در درمان آکنه ولگاریس مورد بررسی قرار دادند. در مطالعه‌ی آن‌ها، به طور متوسط  $2/05 \pm 6/00$  جلسه IPL برای دستیابی به بیش از ۹۰ درصد پاک‌سازی ضایعات التهابی احتیاج بود (۱۱).

در این مطالعه، کاهش معنی‌داری در متوسط تعداد ماکول‌های قرمز در طرف درمان شده با IPL در طول زمان مشاهده شد. این کاهش حداقل ۳ ماه پس از

## References

1. Goldman MP, Boyce SM. A single-center study of aminolevulinic acid and 417 NM photodynamic therapy in the treatment of moderate to severe acne vulgaris. *J Drugs Dermatol* 2003; 2(4): 393-6.
2. Heymann WR. Intense pulsed light. *J Am Acad Dermatol* 2007; 56(3): 466-7.
3. Santos MA, Belo VG, Santos G. Effectiveness of photodynamic therapy with topical 5-aminolevulinic acid and intense pulsed light versus intense pulsed light alone in the treatment of acne vulgaris: comparative study. *Dermatol Surg* 2005; 31(8 Pt 1): 910-5.
4. Mariwalla K, Rohrer TE. Use of lasers and light-based therapies for treatment of acne vulgaris. *Lasers Surg Med* 2005; 37(5): 333-42.
5. Chang SE, Ahn SJ, Rhee DY, Choi JH, Moon KC, Suh HS, et al. Treatment of facial acne papules and pustules in Korean patients using an intense pulsed light device equipped with a 530- to 750-nm filter. *Dermatol Surg* 2007; 33(6): 676-9.
6. Taub AF. A comparison of intense pulsed light, combination radiofrequency and intense pulsed light, and blue light in photodynamic therapy for acne vulgaris. *J Drugs Dermatol* 2007; 6(10): 1010-6.
7. Torres V, Torezan L. Light based therapies for skin of color. London, UK: Springer; 2009. p. 249- 61.
8. Rojanamatin J, Choawawanich P. Treatment of inflammatory facial acne vulgaris with intense pulsed light and short contact of topical 5-aminolevulinic acid: a pilot study. *Dermatol Surg* 2006; 32(8): 991-6.
9. Yeung CK, Shek SY, Bjerring P, Yu CS, Kono T, Chan HH. A comparative study of intense pulsed light alone and its combination with photodynamic therapy for the treatment of facial acne in Asian skin. *Lasers Surg Med* 2007; 39(1): 1-6.
10. Haedersdal M, Togsverd-Bo K, Wulf HC. Evidence-based review of lasers, light sources and photodynamic therapy in the treatment of acne vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22(3): 267-78.
11. Sami NA, Attia AT, Badawi AM. Phototherapy in the treatment of acne vulgaris. *J Drugs Dermatol* 2008; 7(7): 627-32.

## Efficacy of Intense Pulsed Light Combined with Topical Erythromycin Solution 2% versus Topical Erythromycin Solution 2% Alone in the Treatment of Persistent Facial Erythematous Acne Macules\*

Gita Faghihi MD<sup>1</sup>, Amin Kharaziha-Isfahani MD<sup>2</sup>, Seyed Mohsen Hosseini PhD<sup>3</sup>,  
Mohammad Reza Radan MD<sup>4</sup>, Mohammad Ali Nilforoushzadeh MD<sup>5</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** There is always a necessity for newer acne treatments. Intense pulsed light (IPL) technology has been used for this purpose but there are limited studies in this field. As macular and erythematous remnants of acne inflammatory lesions are very common, resistant, and long-lasting, we decided to evaluate the efficacy of IPL (as a tool for diminishing erythematous reactions in the tissues) for the treatment of residual erythematous macules following facial acne.

**Methods:** Thirty five patients were registered in the study. Patient recruitment occurred between January 2010 and June 2011, and the study was completed in October 2011. Every patient received three IPL sessions, with a 2 week interval, on the right side of his/her face. Also, we recommended the patients to apply topical erythromycin solution 2% twice daily on their entire face from start to end of the study (i.e. until 3 months after the third IPL session). An independent physician counted the number of erythematous macules before every IPL session and 1 and 3 months after the last session.

**Findings:** Thirty three patients completed the study and were enrolled in analysis. Results of the study showed that IPL therapy decreased the number of erythematous macules along the time.

**Conclusion:** IPL can accelerate the improvement rate of the persistent erythematous macules remained after inflammatory acne subsides. More studies are needed to explain the exact role of it.

**Keywords:** Facial acne, Intense pulsed light, Persistent erythematous macules, Topical erythromycin solution 2%

**Citation:** Faghihi G, Kharaziha-Isfahani A, Hosseini SM, Radan MR, Nilforoushzadeh MA. **Efficacy of Intense Pulsed Light Combined with Topical Erythromycin Solution 2% versus Topical Erythromycin Solution 2% Alone in the Treatment of Persistent Facial Erythematous Acne Macules.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(313): 2157-64

\*The English version of this article has been previously published in The Advanced Biomedical Research Journal: 2012, Vol 1, No: 1; 70.

1- Professor, Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran AND Skin diseases and Leishmaniasis Research Center AND Department of Dermatology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center AND Department of Dermatology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center AND Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- Associate Professor, Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Amin Kharaziha-Isfahani MD, Email: amin.kharazi@yahoo.com



## سلول‌های جنینی در خون مادر: جنبه‌های بالینی و تکنیکی

میثم مصلاهی<sup>۱</sup>، دکتر رسول صالحی<sup>۲</sup>

## مقاله مروری

## چکیده

روش‌های رایج برای به دست آوردن نمونه از جنین برای تشخیص پیش از تولد، برای جنین و مادر خطرناک می‌باشد. این موضوع سبب انجام تلاش‌های زیاد دانشمندان در زمینه‌ی به دست آوردن سلول‌های جنینی به روش‌های غیر تهاجمی شده است که از آن جمله، به دست آوردن آن‌ها از خون محیطی مادران بارداری قابل ذکر است. انواع سلول‌هایی که توسط بسیاری از دانشمندان در سر تا سر جهان بر روی آن‌ها در این زمینه مطالعه صورت گرفته است، شامل لوکوسیت‌های جنینی به ویژه لنفوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها، گلبول‌های قرمز هسته‌دار جنینی و سلول‌های تروفوبلاست می‌باشد. بسیاری از مطالعات بر روی گلبول‌های قرمز هسته‌دار جنینی صورت گرفته است که از علل این توجه می‌توان به میزان بالای این سلول‌ها در خون مادر در اوایل بارداری، سرعت تمایز این سلول‌ها و نیمه‌عمر کوتاه آن‌ها در خون مادر و در نهایت، نشانگرهای اختصاصی‌ای که برای جدا سازی این سلول‌ها وجود دارد، اشاره نمود. به هر حال، میزان این سلول‌ها در خون مادر بسیار کم است که نیاز به تکنیک‌های مناسبی برای خالص سازی آن‌ها دارد. در حال حاضر، تکنیک‌هایی که به طور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرند، شامل جداسازی سلولی به روش فعال سازی فلئورسنتی، جداسازی مغناطیسی و جداسازی بر اساس شیب بار می‌باشد. پس چنانچه سلول‌های جنینی جداسازی شوند، می‌توان از آن‌ها در کاربردهای بالینی همانند غربال‌گری برای ناهنجاری‌های کروموزومی به وسیله‌ی تکنیک هیبریداسیون فلئورسنتی درجا، یا تشخیص ناهنجاری‌های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمریزاسیون استفاده نمود.

**واژگان کلیدی:** تشخیص پیش از تولد، سلول‌های جنینی، غیر تهاجمی، خون مادر

**ارجاع:** مصلاهی میثم، صالحی رسول. سلول‌های جنینی در خون مادر: جنبه‌های بالینی و تکنیکی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛

۳۲ (۳۱۳): ۲۱۷۳-۲۱۶۵

## مقدمه

تشخیص پیش از تولد به طور کلی به دو دسته‌ی تهاجمی (Invasive) و غیر تهاجمی (Non-invasive) تقسیم می‌شود.

از انواع تکنیک‌های تهاجمی می‌توان به آمنیوسنتز، نمونه‌برداری از پرزهای کوریونی (Chorionic villus sampling) و کوردوسنتز اشاره نمود؛ از معایب این روش‌ها، زمان طولانی برای

گرفتن جواب تست تشخیصی، که امکان از دست رفتن زمان مناسب برای سقط درمانی را در پی دارد (۱-۲) و خطر سقط جنین، علاوه بر خطر انجام تکنیک، استرس وارد شده در طی انجام آن نیز برای جنین خطرناک می‌باشد.

در حالی که در روش‌های غیر تهاجمی که شامل دو دسته‌ی کلی بررسی سلول‌های جنینی آزاد در خون مادر بارداری و اسیدهای نوکلئیک جنینی آزاد در

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: r\_salehi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر رسول صالحی

در نتیجه، این نوع سلول‌ها کمتر مورد توجه دانشمندان برای بررسی و تشخیص پیش از تولد قرار گرفته و تنها در مواردی مثل تعیین وضعیت جنین در بیماری‌های مزبوط به هموگلوبین (Hemoglobinopathies) مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۲)؛ برای این منظور، جداسازی تروفوبلاست‌ها به کمک آنتی‌بادی مونوکلونال موشی (Murine monoclonal antibody) برای شناسایی آنتی‌ژن‌های سطح تروفوبلاست‌ها انجام شده است (۱۳).

- لوکوسیت‌ها (Leukocytes): در سال ۱۹۶۹، Walkonska و همکاران با استفاده از لئوسیت‌های تحریک شده توسط میتوژن‌ها (Mitogen stimulated lymphocytes) به طور قطعی اثبات کردند که این نوع سلول‌های جنینی در خون مادر حضور دارند (۱۴)؛ در واقع، این موضوع از طریق نشان دادن برخی لئوسیت‌ها در خون مادر، که دارای کروموزوم Y هستند، به اثبات رسید (۱۴-۱۵). لوکوسیت‌ها نخستین سلول‌های جنینی بودند که به طور موفقیت آمیزی با روش جداسازی بر اساس فعال سازی فلئورسنتی (FACS) یا (Fluorescent activated cell sorting) از سلول‌های مادری جدا و خالص سازی شدند (۱۶).

مشکل بزرگی که در زمینه‌ی خالص سازی این سلول‌ها وجود دارد، جداسازی بر اساس آنتی‌بادی‌های مخصوص آنتی‌ژن‌های سطحی سلول‌های لوکوسیتی (HLA) به ارث رسیده پدری می‌باشد، که نیاز است تا ابتدا وضعیت آنتی‌ژن لوکوسیتی انسانی (HLA) پدری را بدانیم (۱۷). مشکل دیگر استفاده از لئوسیت‌های جنینی،

خون مادر می‌باشد، می‌توان ضمن انجام تشخیص در ماه‌های اولیه بارداری، خطر سقط جنین در اثر آن را هم به صفر کاهش داد (۳).

این مقاله‌ی مروری سعی بر ارائه‌ی اطلاعات در زمینه‌ی تاریخچه و انواع سلول‌های جنینی موجود در خون مادر و نحوه‌ی جداسازی و خالص سازی آن‌ها دارد.

### انواع سلول‌های جنینی موجود در خون مادر

- تروفوبلاست‌ها (Trophoblasts): تروفوبلاست‌ها نخستین سلول‌هایی بودند که در خون مادر توسط Schmorl پاتولوژیست آلمانی در سال ۱۸۹۳ تشخیص داده شد (۴). نتایج تحقیقات انجام شده بر روی تروفوبلاست‌ها نشان می‌دهد که:

۱- تروفوبلاست‌ها سلول‌های بزرگی هستند که در مویرگ‌های ریه به دام می‌افتند (۵) و به همین خاطر، اولین بار Schmorl آن‌ها را در مویرگ‌های ریه تشخیص داد (۴). این سلول‌ها در خون محیطی دیده نمی‌شوند ولی در رگ‌های رحم حضور دارند که می‌توان نتیجه گرفت، در اثر عبور از رگ‌های ریه، این تروفوبلاست‌های بزرگ از گردش خون مادر حذف می‌شوند (۶).

۲- تروفوبلاست‌ها در خون تمامی زنان باردار دیده نمی‌شوند (۷).

۳- اغلب دارای وضعیت هتروژن هستند؛ از یک طرف به خاطر چند هسته‌ای بودن و از طرف دیگر، امکان وجود موزائیسیم را نیز دارند (۸-۹).

۴- خالص سازی تروفوبلاست‌ها به علت کم بودن آنتی‌بادی اختصاصی برای آن‌ها، با مشکل روبه‌رو می‌باشد (۱۰-۱۱).

خون مادر قابل تشخیص هستند و ماندگاری پایینی در خون مادر دارند (۲۶)؛ همچنین، با توجه به این که طبق بررسی‌های انجام شده، در حدود نیمی از اریتروبلاست‌های موجود در خون مادر منشأ جنینی دارند (۲۷)، کاندید مناسبی برای بررسی و استفاده در تشخیص پیش از تولد می‌باشند.

### روش‌های رایج برای جداسازی سلول‌های جنینی از سلول‌های مادر

از آن جایی که سلول‌های جنینی در خون مادر بسیار کمیاب می‌باشند، به طوری که مقدار آن طی بررسی‌های انجام شده در حدود ۱ سلول جنینی در برابر  $10^5$  تا  $10^7$  سلول مادری برآورد شده است (۲۸-۳۰)، جهت خالص سازی این سلول‌ها به یک روش مناسب نیاز می‌باشد. به عنوان مثال، تعدادی از روش‌هایی که برای خالص سازی NRBC‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، از این قرار است:

- روش FACS: این روش توانایی جداسازی سلول‌های جنینی از سلول‌های مادری با درجه‌ی خلوص بالا و امکان بررسی چندین پارامتر مختلف روی یک رده‌ی سلولی را دارد. در این روش، علاوه بر استفاده از CD۷۱، که در سطح اریتروسیت‌ها به مقدار زیاد بیان می‌شود، به طور هم‌زمان، امکان بررسی هموگلوبین جنینی (HbF) (۳۱-۳۲) و سایر نشان‌گرهای سطحی نظیر گلیکوفورین A (۳۳-۳۴) نیز وجود دارد. برای خالص سازی بیشتر می‌توان علاوه بر انتخاب مثبت برای سلول‌های NRBC، انتخاب منفی ضد سلول‌های مادری نیز داشت و با استفاده از آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن CD۴۵، سلول‌های لنفوسیتی را از سلول‌های NRBC جدا نمود

ماندگاری بالای آن‌ها در خون مادر است. بررسی‌های صورت گرفته نشان داده است که سلول‌های لنفوسیتی T ( $CD3+$ ،  $CD4+$  و  $CD5+$ ) تا ۵ تا ۶ سال و سلول‌های هماتوپویتیکی ( $CD34+$  و  $CD38+$ ) تا ۲۷ سال در خون مادر ماندگاری دارند (۱۹-۱۸)؛ این حالت باعث می‌شود تا تشخیص پیش از تولد ما را با اشتباه روبه‌رو کند، پس باید به دنبال سلول‌هایی بود که ماندگاری پایین‌تری در خون مادر دارند.

- گلبول‌های قرمز هسته‌دار جنینی (NRBC یا Nucleated red blood cell): تأیید حضور NRBC‌ها نخستین بار توسط Clayton و همکاران در سال ۱۹۶۶ صورت گرفت (۲۰). در ابتدا، مشکل اغلب مطالعات این بود که تأیید منشأ سلول‌های نابالغ اریتروسیتی، با توجه به هسته‌دار بودن این سلول‌ها، تنها بر اساس تشخیص کروموزوم Y امکان پذیر بود (۲۱). نخستین خالص سازی این سلول‌ها توسط Bianchi و همکاران در سال ۱۹۹۰ با روش FACS و با استفاده از آنتی‌بادی ضد CD۷۱ (گیرنده‌ی ترانسفرین) که در سطح اریتروبلاست‌ها به میزان زیادی بیان می‌شود، انجام شد (۲۲). این در حالی است که با استفاده از همین آنتی‌ژن می‌توان با روش جداسازی بر اساس فعال سازی مغناطیسی (MACS یا Magnetic cell sorting) نیز این سلول‌ها را جداسازی نمود (۲۳).

نخستین تشخیص آنیوپلوئیدی با استفاده از NRBC‌ها توسط Price و همکاران در سال ۱۹۹۱ (۲۴) و سپس توسط Bianchi و همکاران در سال ۱۹۹۲ صورت گرفت (۲۵). NRBC‌ها از این نظر که جزء نخستین سلول‌هایی هستند که از سلول‌های هماتوپویتیکی مشتق می‌شوند، در اوایل بارداری در

همچنین، حساسیت جداسازی با روش MACS حدود ۴۵ و با روش FACS حدود ۱۶ درصد بود (۳۹). این نتایج، با این یافته که روش FACS سلول‌هایی با درجه‌ی خلوص بیشتری ایجاد می‌کند، همخوانی ندارد.

- روش جداسازی بر اساس بار الکتریکی (Charge flow separation): روشی برای جداسازی سلول‌های جنینی می‌باشد که نیازی به آنتی‌بادی برای انتخاب سلول‌ها ندارد. این روش، بر پایه‌ی مهاجرت سلول‌ها بر اساس بار الکتریکی سطح آن‌ها در یک میدان الکتریکی است که می‌توان به کمک آن، سلول‌های NRBC را جدا نمود؛ اما مشکل این روش، تشخیص منشأ سلول‌های جداسازی شده است (۳۹-۴۰).

سایر روش‌هایی که برای جداسازی سلول‌های جنینی به کار می‌رود، شامل ستون‌های آویدین بیوتین (Avidin-Biotin columns) (۴۱)، جریان مغناطیسی آهن (Magnetic ferro-fluids) (۴۲) و شیب چگالی (New density gradient) می‌باشد.

#### آنتی‌بادی‌هایی که برای جداسازی NRBCها مورد استفاده قرار می‌گیرد

تعداد زیادی از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال برای جداسازی NRBCها مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ ولی اغلب دانشمندان از آنتی‌بادی ضد گیرنده‌ی ترانسفرین (CD۷۱) استفاده می‌کنند (۲۲، ۲۸، ۴۴). CD۷۱ در سطح همه‌ی سلول‌های فعال در انتقال آهن و در حدود ۳ ماهه‌ی اول بارداری، در تمامی سلول‌های NRBC جنینی وجود دارد (۲۴-۲۵، ۳۹)؛ مقدار CD۷۱ در NRBCها با افزایش زمان بارداری کاهش می‌یابد ولی در جنین‌های با ناهنجاری‌های

(۳۵-۳۳). از مشکلات این روش نیز هزینه‌ی بالا، وقت‌گیر بودن و نیاز به مهارت آزمایشگاهی بالا برای انجام آن قابل ذکر می‌باشد (۲۳، ۳۶).

- روش MACS: این روش نسبت به روش FACS آسان‌تر و کم‌هزینه‌تر می‌باشد و همانند آن، امکان انتخاب مثبت برای سلول‌های NRBC و انتخاب منفی برای حذف سلول‌های مادری را دارد. اما، در مقایسه با روش FACS، سلول‌هایی با درجه‌ی خلوص پایین‌تری ایجاد می‌کند؛ چرا که تنها می‌تواند یک پارامتر را بر روی سلول‌ها بررسی کند (۳۷-۳۸، ۲۳). در هر دو روش FACS و MACS، در نهایت می‌توان به ازای هر ۲۰ ml خون گرفته شده، تنها ۲۰ سلول جنینی را جدا نمود (۳۵).

طی تحقیقی که طی سال‌های ۱۹۹۷ تا ۲۰۰۲ توسط مؤسسه‌ی بین‌المللی سلامت کودکان و توسعه‌ی مطالعه‌ی جداسازی سلول‌های جنینی (Child Health and Development Fetal Cell Isolation Study) بر روی حدود ۳۰۰۰ زن باردار مشکوک به داشتن جنین با سندروم‌های آنیوپلوئیدی انجام گرفت، سلول‌های جنینی با روش FACS و MACS از سلول‌های مادری جداسازی شد و بر روی سلول‌های حاصل تست هیبریداسیون فلئورسنتی درجا (FISH یا Fluorescence in-situ hybridization) برای تشخیص سندرم‌های آنیوپلوئیدی و تعیین جنسیت مورد استفاده قرار گرفت. در انتها، نتایج با یافته‌های حاصل از نمونه‌گیری با روش CVS (Chorionic villus sampling) یا آمنیوسنتز مقایسه شد که در تعیین جنسیت، ۱۱/۱ درصد و در تشخیص سندرم‌های آنیوپلوئیدی، بین ۰/۶ تا ۴/۱ درصد جواب مثبت کاذب (False positive) وجود داشت.

به دوره‌ی کوتاهی از بارداری می‌باشد و تنها در اوایل ۳ ماهه‌ی اول بارداری قابل بررسی است (۴۶). در مورد HbF نیز می‌توان از زنجیره‌ی  $\gamma$  به عنوان یک نشان‌گر انتخابی برای سلول‌های NRBC استفاده نمود؛ اما مشکل این است که HbF تنها در سلول‌های جنینی موجود نیست، بلکه در حدود ۱ درصد از سلول‌های قرمز بزرگسالان نیز وجود دارد (۴۸).

از نشان‌گرهای با منشأ طبیعی جدیدی که برای جداسازی NRBCها مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌توان به ۲،۳-بی فسفوگلیسرات (BPG) و تیمیدین کیناز (TK) اشاره کرد. از BPG برای تشخیص هموگلوبین جنینی استفاده می‌شود؛ به این صورت که در نتیجه‌ی قرار دادن زنجیره‌ی Heme دارای آهن در معرض اکسیداسیون و واکنش پراکسیداز متعاقب آن، کمپلکس رنگی ایجاد می‌شود که می‌تواند در تشخیص سلول‌های NRBC جنینی مورد استفاده قرار گیرد (۴۹). با استفاده از آنالوگ فلئوروسنت دار تیمیدین می‌توان با روش FACS میزان بالای آنزیم تیمیدین کیناز را در NRBCهای جنینی هدف قرار داد؛ در سلول‌های بزرگسالان این آنزیم فعالیت ندارد و در جداسازی NRBCها از آنها می‌توان از آن استفاده نمود (۵۰).

لیست سایر آنتی‌بادی‌هایی که برای جداسازی سلول‌های جنینی کاربرد دارند، در جدول ۱ آمده است.

کروموزومی، میزان آن در سطح NRBCها افزایش می‌یابد (۴۶-۴۵). مشکل استفاده از CDV۱ به عنوان نشان‌گر انتخابی برای جداسازی سلول‌های NRBC از سلول‌های مادری، بیان این آنتی‌ژن در سطح سلول‌های لنفوسیت فعال می‌باشد که سبب کاهش خلوص سلول‌های NRBC می‌گردد (۴۷).

آنتی‌بادی دیگری که برای جداسازی NRBCها مورد استفاده قرار می‌گیرد، ضد GPA (Glycophorin A) می‌باشد. GPA در سطح اریتروسیت‌های در حال بلوغ وجود دارد، در حالی که در سطح لنفوسیت‌ها موجود نیست، و هنگامی که به همراه آنتی‌بادی‌های مخصوص CDV۱ برای جداسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد، سبب می‌شود تا سلول‌های NRBC با درجه‌ی خلوص بالاتری جداسازی شوند (۲۴)؛ اما چون باعث آگلوتینه کردن سلول‌های NRBC می‌شود، کارایی جداسازی را کاهش می‌دهد (۳۳).

یکی دیگر از مونوکلونال آنتی‌بادی‌هایی که برای جداسازی NRBCها مورد استفاده قرار می‌گیرد، آنتی‌بادی‌هایی هستند که هموگلوبین امبریونیک (HbE) و هموگلوبین جنینی (HbF) را هدف قرار می‌دهند. HbE که از زنجیره‌های  $\beta$  و  $\epsilon$  تشکیل شده است، اگر چه مختص سلول‌های جنینی است، اما بیان آن مربوط

جدول ۱. نشان‌گرهای سلولی استفاده شده برای غنی‌سازی گلبول‌های قرمز هسته‌دار جنینی و حذف سلول‌های مادری

نشان‌گرهای سلولی	بیان در	موارد استفاده
گیرنده‌ی ترانسفرین (۲۴)	سلول‌های اریتروئیدی	غنی‌سازی
هموگلوبین امبریونیک/جنینی (۳۴، ۳۸)	سلول‌های اریتروئیدی	غنی‌سازی
آنتی‌ژن‌های گروه خونی (۵۴-۵۵)	سلول‌های اریتروئیدی	غنی‌سازی
گیرنده‌ی اریتروپوئین (۵۶-۵۷)	سلول‌های اریتروئیدی	غنی‌سازی
CD۳۶ (۳۱، ۵۵)	پلاکت‌ها/اریتروئیدها/مونوسیت‌ها	غنی‌سازی
آنتی‌ژن‌های سطحی کبد جنین (۳۸، ۵۴)	سلول‌های اریتروئیدی	غنی‌سازی
CD۴۵ (۵۸)	لوکوسیت‌ها	تهی‌سازی
CD۱۴ (۳۸، ۵۹)	گرانولوسیت‌ها	تهی‌سازی

آمده استفاده شد (۲۱). در مطالعات بعدی، از این تکنیک برای تکثیر توالی‌های کروموزوم Y به منظور تعیین جنسیت (۵۲) و همچنین، در تعیین وضعیت گروه خونی رزوس (RhD) جنین استفاده شد (۵۳).

### چشم اندازهای رو به آینده

اصول پایه‌ای استفاده از سلول‌های جنینی موجود در خون مادر، خالص سازی و تشخیص قطعی جنینی بودن این سلول‌ها می‌باشد. با خالص سازی این سلول‌ها و وجود تکنیک‌های تشخیصی همانند FISH و تکنیک‌های مولکولی بر پایه‌ی PCR، در آینده‌ی نزدیک می‌توان از این سلول‌ها برای تشخیص پیش از تولد استفاده نمود؛ البته، این امر، مستلزم رسیدن به تکنیک‌های مناسب و کارآمدتری برای خالص سازی این سلول‌ها می‌باشد.

### تأیید و بررسی سلول‌های خالص سازی شده

تأیید سلول‌های خالص سازی شده را می‌توان از طریق بررسی خودکار (Automated scanning) انجام داد؛ این روش، ترکیبی از FISH و رنگ آمیزی Immunocytochemical است (۵۱). ابتدا، سلول‌ها بر اساس وجود HbF در NRBC‌های جنینی و سپس، توسط رنگ آمیزی Immunocytochemical بررسی می‌شوند و در نهایت، بررسی‌های کروموزومی با FISH که با استفاده از پروب‌های مخصوص کروموزومی می‌باشد، صورت می‌گیرد (۲۴-۲۵). سلول‌های خالص سازی شده را می‌توان برای بررسی‌های مولکولی، که بر پایه‌ی تکنیک‌های وابسته به واکنش زنجیره‌ای پلیمریزاسیون (PCR یا Polymerase chain reaction) انجام می‌شود، مورد بررسی قرار داد. با ظهور تکنیک PCR، اولین بار از آن برای تشخیص قطعی منشأ سلول‌های به دست

### References

1. Dey M, Sharma S, Aggarwal S. Prenatal screening methods for aneuploidies. *N Am J Med Sci* 2013; 5(3): 182-90.
2. Kuliev AM, Modell B, Jackson L, Simpson JL, Brambati B, Rhoads G, et al. Risk evaluation of CVS. *Prenat Diagn* 1993; 13(3): 197-209.
3. Purwosunu Y, Sekizawa A, Koide K, Okazaki S, Farina A, Okai T. Clinical potential for noninvasive prenatal diagnosis through detection of fetal cells in maternal blood. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2006; 45(1): 10-20.
4. Lapaire O, Holzgreve W, Oosterwijk JC, Brinkhaus R, Bianchi DW. Georg Schmorl on trophoblasts in the maternal circulation. *Placenta* 2007; 28(1): 1-5.
5. Attwood HD, Park WW. Embolism to the lungs by trophoblast. *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 1961; 68: 611-7.
6. Hahn S, Holzgreve W. Fetal cells and cell-free fetal DNA in maternal blood: new insights into pre-eclampsia. *Hum Reprod Update* 2002; 8(6): 501-8.
7. Sargent IL, Johansen M, Chua S, Redman CW. Clinical experience: isolating trophoblasts from maternal blood. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 731: 154-61.
8. Henderson KG, Shaw TE, Barrett IJ, Telenius AH, Wilson RD, Kalousek DK. Distribution of mosaicism in human placentae. *Hum Genet* 1996; 97(5): 650-4.
9. Goldberg JD, Wohlferd MM. Incidence and outcome of chromosomal mosaicism found at the time of chorionic villus sampling. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176(6): 1349-52.
10. Covone AE, Mutton D, Johnson PM, Adinolfi M. Trophoblast cells in peripheral blood from pregnant women. *Lancet* 1984; 2(8407): 841-3.
11. Bertero MT, Camaschella C, Serra A, Bergui L, Caligaris-Cappio F. Circulating 'trophoblast' cells in pregnancy have maternal genetic markers. *Prenat Diagn* 1988; 8(8): 585-90.
12. Hawes CS, Suskin HA, Kalionis B, Mueller UW, Casey G, Hall J, et al. Detection of paternally inherited mutations for beta-thalassemia in trophoblast isolated from peripheral maternal blood. *Ann N Y Acad Sci*

- 1994; 731: 181-5.
13. Mueller UW, Hawes CS, Wright AE, Petropoulos A, DeBoni E, Firgaira FA, et al. Isolation of fetal trophoblast cells from peripheral blood of pregnant women. *Lancet* 1990; 336(8709): 197-200.
  14. Walknowska J, Conte FA, Grumbach MM. Practical and theoretical implications of fetal-maternal lymphocyte transfer. *Lancet* 1969; 1(7606): 1119-22.
  15. Schindler AM, Martin-du-Pan R. Prenatal diagnosis of fetal lymphocytes in the maternal blood. *Obstet Gynecol* 1972; 40(3): 340-6.
  16. Herzenberg LA, Bianchi DW, Schroder J, Cann HM, Iverson GM. Fetal cells in the blood of pregnant women: detection and enrichment by fluorescence-activated cell sorting. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1979; 76(3): 1453-5.
  17. Tharapel AT, Jaswaney VL, Dockter ME, Wachtel SS, Chandler RW, Simpson JL, et al. Inability to detect fetal metaphases in flow-sorted lymphocyte cultures based on maternal-fetal HLA differences. *Fetal Diagn Ther* 1993; 8(2): 95-101.
  18. Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, Sylvester S, DeMaria MA. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(2): 705-8.
  19. Ciaranfi A, Curchod A, Odartchenko N. Postpartum survival of fetal lymphocytes in the maternal blood. *Schweiz Med Wochenschr* 1977; 107(5): 134-8. [In French].
  20. Clayton EM, Feldhaus WD, Whitacre FE. Fetal erythrocytes in the maternal circulation of pregnant women. *Obstet Gynecol* 1964; 23: 915-9.
  21. Holzgreve W, Garritsen HS, Ganshirt-Ahlert D. Fetal cells in the maternal circulation. *J Reprod Med* 1992; 37(5): 410-8.
  22. Bianchi DW, Flint AF, Pizzimenti MF, Knoll JH, Latt SA. Isolation of fetal DNA from nucleated erythrocytes in maternal blood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(9): 3279-83.
  23. Miltenyi S, Muller W, Weichel W, Radbruch A. High gradient magnetic cell separation with MACS. *Cytometry* 1990; 11(2): 231-8.
  24. Price JO, Elias S, Wachtel SS, Klinger K, Dockter M, Tharapel A, et al. Prenatal diagnosis with fetal cells isolated from maternal blood by multiparameter flow cytometry. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165(6 Pt 1): 1731-7.
  25. Bianchi DW, Mahr A, Zickwolf GK, Houseal TW, Flint AF, Klinger KW. Detection of fetal cells with 47,XY,+21 karyotype in maternal peripheral blood. *Hum Genet* 1992; 90(4): 368-70.
  26. Ganshirt D, Garritsen H, Miny P, Holzgreve W. Fetal cells in maternal circulation throughout gestation. *Lancet* 1994; 343(8904): 1038-9.
  27. Troeger C, Zhong XY, Burgemeister R, Minderer S, Tercanli S, Holzgreve W, et al. Approximately half of the erythroblasts in maternal blood are of fetal origin. *Mol Hum Reprod* 1999; 5(12): 1162-5.
  28. Sohda S, Arinami T, Hamada H, Nakauchi H, Hamaguchi H, Kubo T. The proportion of fetal nucleated red blood cells in maternal blood: estimation by FACS analysis. *Prenat Diagn* 1997; 17(8): 743-52.
  29. Ganshirt-Ahlert D, Pohlschmidt M, Gal A, Miny P, Horst J, Holzgreve W. Ratio of fetal to maternal DNA is less than 1 in 5000 at different gestational ages in maternal blood. *Clin Genet* 1990; 38(1): 38-43.
  30. Hamada H, Arinami T, Kubo T, Hamaguchi H, Iwasaki H. Fetal nucleated cells in maternal peripheral blood: frequency and relationship to gestational age. *Hum Genet* 1993; 91(5): 427-32.
  31. Bianchi DW, Zickwolf GK, Yih MC, Flint AF, Geifman OH, Erikson MS, et al. Erythroid-specific antibodies enhance detection of fetal nucleated erythrocytes in maternal blood. *Prenat Diagn* 1993; 13(4): 293-300.
  32. Zheng YL, Demaria M, Zhen D, Vadnais TJ, Bianchi DW. Flow sorting of fetal erythroblasts using intracytoplasmic anti-fetal haemoglobin: preliminary observations on maternal samples. *Prenat Diagn* 1995; 15(10): 897-905.
  33. Simpson JL, Elias S. Isolating fetal cells in the maternal circulation. *Hum Reprod Update* 1995; 1(4): 409-18.
  34. Lewis DE, Schober W, Murrell S, Nguyen D, Scott J, Boinoff J, et al. Rare event selection of fetal nucleated erythrocytes in maternal blood by flow cytometry. *Cytometry* 1996; 23(3): 218-27.
  35. Bianchi DW, Klinger KW, Vadnais TJ, DeMaria MA, Shuber AP, Skoletsky J, et al. Development of a model system to compare cell separation methods for the isolation of fetal cells from maternal blood. *Prenat Diagn* 1996; 16(4): 289-98.
  36. Ganshirt-Ahlert D, Borjesson-Stoll R, Burschik M, Dohr A, Garritsen HS, Helmer E, et al. Detection of fetal trisomies 21 and 18 from maternal blood using triple gradient and magnetic cell sorting. *Am J Reprod Immunol* 1993; 30(2-3): 194-201.
  37. Andrews K, Wienberg J, Ferguson-Smith MA, Rubinsztein DC. Enrichment of fetal nucleated cells from maternal blood: model test system using cord blood. *Prenat Diagn* 1995; 15(10): 913-9.

38. Zheng YL, Carter NP, Price CM, Colman SM, Milton PJ, Hackett GA, et al. Prenatal diagnosis from maternal blood: simultaneous immunophenotyping and FISH of fetal nucleated erythrocytes isolated by negative magnetic cell sorting. *J Med Genet* 1993; 30(12): 1051-6.
39. Wachtel SS, Sammons D, Manley M, Wachtel G, Twitty G, Utermohlen J, et al. Fetal cells in maternal blood: recovery by charge flow separation. *Hum Genet* 1996; 98(2): 162-6.
40. Shulman LP, Phillips OP, Tolley E, Sammons D, Wachtel SS. Frequency of nucleated red blood cells in maternal blood during the different gestational ages. *Hum Genet* 1998; 103(6): 723-6.
41. Hall JM, Adams S, Williams S, Rehse MA, Layton TJ, Molesh DA. Purification of fetal cells from maternal blood using an avidin-biotin immunoaffinity column. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 731: 115-27.
42. Steele CD, Wapner RJ, Smith JB, Haynes MK, Jackson LG. Prenatal diagnosis using fetal cells isolated from maternal peripheral blood: a review. *Clin Obstet Gynecol* 1996; 39(4): 801-13.
43. Sitar G, Manenti L, Farina A, Lanati V, Mascheretti P, Forabosco A, et al. Characterization of the biophysical properties of human erythroblasts as a preliminary step to the isolation of fetal erythroblasts from maternal peripheral blood for non-invasive prenatal genetic investigation. *Haematologica* 1997; 82(1): 5-10.
44. Ganshirt-Ahlert D, Burschik M, Garritsen HS, Helmer L, Miny P, Horst J, et al. Magnetic cell sorting and the transferrin receptor as potential means of prenatal diagnosis from maternal blood. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166(5): 1350-5.
45. Thilaganathan B, Meher-Homji NJ, Nicolaides KH. Blood transferrin receptor expression in chromosomally abnormal fetuses. *Prenat Diagn* 1995; 15(3): 282-4.
46. Zheng YL, Zhen DK, Farina A, Berry SM, Wapner RJ, Williams JM, et al. Fetal cell identifiers: results of microscope slide-based immunocytochemical studies as a function of gestational age and abnormality. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180(5): 1234-9.
47. Bianchi DW, Yih MC, Zickwolf GK, Flint AF. Transferrin receptor (CD71) expression on circulating mononuclear cells during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170(1 Pt 1): 202-6.
48. Turpeinen U, Stenman UH. Determination of fetal hemoglobin by time-resolved immunofluorometric assay. *Clin Chem* 1992; 38(10): 2013-8.
49. Von KH, Gahmberg N. Fetal erythroblasts from maternal blood identified with 2,3-bisphosphoglycerate (BPG) and in situ hybridization (ISH) using Y-specific probes. *Prenat Diagn* 1995; 15(2): 149-54.
50. Hengstschlager M, Bernaschek G. Fetal cells in the peripheral blood of pregnant women express thymidine kinase: a new marker for detection. *FEBS Lett* 1997; 404(2-3): 299-302.
51. Oosterwijk JC, Knepfle CF, Mesker WE, Vrolijk H, Sloos WC, Pattenier H, et al. Strategies for rare-event detection: an approach for automated fetal cell detection in maternal blood. *Am J Hum Genet* 1998; 63(6): 1783-92.
52. Lo YM, Patel P, Wainscoat JS, Sampietro M, Gillmer MD, Fleming KA. Prenatal sex determination by DNA amplification from maternal peripheral blood. *Lancet* 1989; 2(8676): 1363-5.
53. Lo YM, Patel P, Baigent CN, Gillmer MD, Chamberlain P, Travi M, et al. Prenatal sex determination from maternal peripheral blood using the polymerase chain reaction. *Hum Genet* 1993; 90(5): 483-8.
54. Savion S, Carp H, Shepshelovich J, Irlin J, Kostykov M, Fein A, et al. Use of antibodies against the human antigen of erythroblasts for the detection of nucleated erythrocytes in the maternal circulation. *Biol Neonate* 1997; 71(2): 126-30.
55. Troeger C, Holzgreve W, Hahn S. A comparison of different density gradients and antibodies for enrichment of fetal erythroblasts by MACS. *Prenat Diagn* 1999; 19(6): 521-6.
56. Valerio D, Altieri V, Antonucci FR, Aiello R. Characterization of fetal haematopoietic progenitors circulating in maternal blood of seven aneuploid pregnancies. *Prenat Diagn* 1997; 17(12): 1159-69.
57. Valerio D, Aiello R, Altieri V, Malato AP, Fortunato A, Canazio A. Culture of fetal erythroid progenitor cells from maternal blood for non-invasive prenatal genetic diagnosis. *Prenat Diagn* 1996; 16(12): 1073-82.
58. Busch J, Huber P, Pfluger E, Miltenyi S, Holtz J, Radbruch A. Enrichment of fetal cells from maternal blood by high gradient magnetic cell sorting (double MACS) for PCR-based genetic analysis. *Prenat Diagn* 1994; 14(12): 1129-40.
59. Ferguson-Smith MA, Zheng YL, Carter NP. Simultaneous immunophenotyping and FISH on fetal cells from maternal blood. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 731: 73-9.



## Fetal Cells in Maternal Blood: Technical and Clinical Aspects

Meysam Mosallayi MSc<sup>1</sup>, Rasoul Salehi PhD<sup>2</sup>

### Review Article

#### Abstract

Currently, common used methods to obtain fetal material for prenatal diagnosis are potentially dangerous for fetus and mother; this has led to the effort by many groups to develop methods to recover fetal cells by non-invasive means, such as their enrichment from the peripheral blood of pregnant women. The fetal cell types studied by numerous investigators worldwide include fetal leukocytes, i.e. fetal lymphocytes and granulocytes, fetal nucleated red blood cells (NRBCs) and trophoblast cells. Fetal NRBCs have been the most commonly studied cell type, for this reason: the frequency of NRBCs in the fetus early in gestation is relatively high; these cells are also fairly well differentiated and likely to have a limited life span in the maternal circulation and finally, there are specific markers for the enrichment of these cells. However, the fetal cells in maternal blood are rare and a sophisticated technique is required for their enrichment; currently, the most commonly employed techniques are fluorescent activated cell sorting (FACS), magnetic cell sorting (MACS), and charge flow separation. Then, if the fetal cells can eventually be isolated, possible clinical applications will be included screening for fetal chromosome abnormalities via fluorescence in-situ hybridization (FISH) and for gene abnormalities by polymerase chain reaction (PCR).

**Keywords:** Fetal cells, Non-invasive, Maternal blood

**Citation:** Mosallayi M, Salehi R. **Fetal Cells in Maternal Blood: Technical and Clinical Aspects.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(313): 2165-73

1- MSc Student, Pediatric Inherited Diseases Research Center AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine AND Students Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

**Corresponding Author:** Rasoul Salehi PhD, Email: r\_salehi@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:

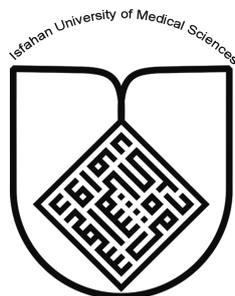
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
  - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations 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 printout 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 information you can contact with JIMS office via E-mail address ([jims@med.mui.ac.ir](mailto: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 Razmjou** 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. 313, 2<sup>nd</sup> week, February 2015

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](mailto: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](mailto: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](mailto:esfahanfarzanegan@yahoo.com)

[f.radandish@gmail.com](mailto:f.radandish@gmail.com)

[www.farzaneganco.ir](http://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](http://www.sid.ir))
- [www.iranmedex.com](http://www.iranmedex.com)

---

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

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