

### مقاله های پژوهشی

- بررسی ارزش تشخیصی حین عمل جراحی به روش Frozen Section در مقایسه با گزارش پاتولوژی برش های دایمی در توده های پستان و تخمدان ..... 237  
نوشین افشار مقدم، میترا حیدرپور، فایمه صالحی، علی مهرابی کوشکی
- اندازه گیری آنتی بادی تولید شده علیه کپسول پلی ساکاریدی پلی ریبوزیل ریبتول فسفات استخراج شده از هموفیلوس آنفلوانزای تیپ b سویه محلی Att2 با روش Att2 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) ..... 244  
شفق خادمی، فرهاد اسماعیلی، مهدی امینیان
- مقایسه ی معیار جدید آناتومی سطحی قفسه ی سینه (AASI) Acromio-Axillo-Suprasternal Notch Index با چهار روش متداول دیگر جهت پیش بینی لارنگوسکوپی مشکل ..... 245  
سید محمدرضا صفوی، عظیم هنر مند، غزاله شیخانی
- بررسی مقایسه ی تأثیر درجات مختلف بالا بردن اندام تحتانی بر پیش گیری از افت فشار خون ناشی از بیهوشی اسپینال در اعمال جراحی پایین شکم ..... 251  
میترا جبل عاملی، محسن منصوری، عفت السادات حسینی

### مقاله مروری

- کاربردهای بالینی فن آوری کپسولاسیون سلولی در انتقال دارو و سلول ..... 259  
رضا قویمی، وجیهه اکبری

### Original Articles

- Diagnostic Value of Frozen Section Compared to Permanent Pathology in Breast and Ovarian Masses ..... 237  
Noushin Afsharmoghaddam, Mitra Heidarpour, Fahimeh Salehi, Ali Mehrabi-Koushki
- Enzyme-Linked-ImmunoSorbent Assay (ELISA) for Measurement of Antibody against Polyribosylribitol Phosphate Polysaccharide Capsule Extracted from Haemophilus Influenza Type-B Strain-Att2 ..... 244  
Shafagh Khademi, Farhad Esmaily, Mehdi Aminian
- Comparing "Acromio-Axillo-Suprasternal Notch Index (AASI)" as a New Screening Test for Predicting Difficult Laryngoscopy with Four Commonly Used Tests ..... 250  
Seyed Mohammad Reza Safavi, Azim Honarmand, Ghazaleh Sheikhan
- Comparing the Effect of different Degrees Elevation of Lower Limb in the Prevention of Hypotension Following Spinal Anesthesia for lower Abdominal Operation ..... 258  
Mitra Jabalameli, Mohsen Mansouri, Effatossadat Hoseini

### Review Article

- Clinical Applications of Cell Encapsulation Technology in Cell and Drug Delivery ..... 269  
Reza Ghavimi, Vajihe Akbari



## مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و چهارم، شماره (۳۷۵)، هفته سوم اردیبهشت ۱۳۹۵

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر مریم راد احمدی

---

### امور نشر:

(ویراستاری، صفحه آرایی، بازمینی، طراحی، چاپ و  
پشتیبانی آنلاین)

### انتشارات فرزاتگان راداندیش

E-mail: f.radandish@gmail.com  
http://www.farapub.com

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

### ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

E-mail: publications@mui.ac.ir

صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

دفتر مجله: دانشکده پزشکی

مسؤول دفتر: گلناز رجبی

مدیر اجرایی: علی مرادی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

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

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

وب سایت مجله:

---

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی
۱- دکتر محمد رضا اخلاقی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر علی اخوان	استادیار، متخصص رادیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، فوق تخصص غدد، دانشکده‌ی پزشکی، کالیفرنیا، آمریکا
۵- دکتر احمد اسماعیل زاده	استاد، دکترای تخصصی تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- دکتر افسون امامی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۷- دکتر شاهین امامی	دکترای تخصصی بیوشیمی، بیمارستان سن آنتونیو، انستیتو سلامت و تحقیقات پزشکی، پاریس، فرانسه
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، فوق تخصص بیماری‌های ایمونولوژی و آلرژی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر فریا ایرجی	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۱- دکتر کن باست	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۱۲- دکتر رضا باقریان سرارودی	دانشیار، دکترای تخصصی روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- دکتر مجید برکتین	استاد، متخصص روانپزشکی، فلوشیپ نوروسایکیاتری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۴- دکتر فرزین پور فرزاد	دکترای تخصصی زیست‌شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند
۱۵- دکتر مسعود پورمقدس	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر احمد چیت‌ساز	استاد، متخصص مغز و اعصاب، فلوشیپ بیماری‌های حرکتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۷- دکتر علی حکمت‌نیا	استاد، متخصص رادیولوژی، فلوشیپ رادیولوژی مغز و اعصاب و کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۸- دکتر سید مرتضی حیدری	استاد، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۹- دکتر بهناز خانی	دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر مریم راداحمدی	استادیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۳- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۴- دکتر محمدرضا شریفی	استاد، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۵- دکتر منصور شعله‌ور	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۶- دکتر رسول صالحی	استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۷- دکتر مسیح صبوری	استاد، متخصص جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر محمدرضا صفوی	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر خسرو عادل	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۳۰- دکتر سعید عندلیب جرتانی	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لوئیس ویل، آمریکا
۳۱- دکتر زیبا فرج‌زادگان	استاد، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۲- دکتر رویا کلیشادی	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۳- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر عزیز گهروی	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۳۵- دکتر پروین محزون	استاد، متخصص آسیب‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۶- دکتر سید مهدی مدرس	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۷- دکتر محمد مردانی	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۸- دکتر اتیبه مغیثی	استاد، فوق تخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، آمریکا
۳۹- دکتر مرجان منصوریان	استادیار، دکترای تخصصی اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۰- دکتر محمدرضا نوربخش	استاد، متخصص فیزیوتراپی، جرجیا، آمریکا
۴۱- دکتر مصطفی هاشمی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

## راهنمای نگارش و ارسال مقاله علمی - پژوهشی

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

هیأت تحریریه پس از دریافت مقالات اقدام به بررسی مقاله از لحاظ ساختاری و موضوعی می‌نماید و چنانچه مقاله در بررسی اولیه مورد تأیید باشد، برای داوری ارسال می‌شود. زمان فرایند داوری (از دریافت تا پذیرش نهایی آن) ۳ ماه و در صورت تقاضا جهت بررسی سریع‌تر با شرایط ذکر شده در راهنمای نویسندگان ۲۵-۲۰ روز می‌باشد. لازم به ذکر است داوری و انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است. لذا پس از انجام مراحل داوری و پذیرش مقاله و قبل از صدور نامه پذیرش، لازم است نویسندگان محترم فرایند مالی را تکمیل نمایند.

نحوه ارسال دست نوشته‌ها در سامانه

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

توجه به نکات زیر در ارسال مقاله ضروری است:

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

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

- ارسال مقاله فقط از طریق سایت پذیرفته می‌شود.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

تبصره ۱- مقالات ترجمه پذیرفته نمی‌شود.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

-اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

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

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

- منابع به صورت پایان نامه

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

- منابع به صورت الکترونیکی - مجله الکترونیکی روی اینترنت

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

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

منابع به صورت صفحه وب

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

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

- نمونه خوانی (Proofreading): یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤؤل ارسال می گردد که لازم است در کوتاه ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وبسایت مجله ارسال نماید.

- اختصارات و نشانه ها: تنها از اختصارات و نشانه های استاندارد استفاده شود و از ذکر عبارات های مخفف در عنوان و خلاصه مقاله خودداری گردد.

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

- پس از انتشار، نسخه ای برای نویسنده مسؤؤل ارسال نخواهد شد و شماره های مجله از طریق سایت برای نویسندگان و خوانندگان قابل دسترسی می باشد.





## فهرست مطالب

### مقاله‌های پژوهشی

بررسی ارزش تشخیصی حین عمل جراحی به روش Frozen Section در مقایسه با گزارش پاتولوژی برش‌های دایمی در توده‌های پستان و تخمدان..... ۲۳۲

نوشین افشار مقدم، میترا حیدرپور، فهیمه صالحی، علی مهرابی کوشکی

اندازه‌گیری آنتی‌بادی تولید شده علیه کپسول پلی ساکاریدی پلی ریوزیل ریبتول فسفات استخراج شده از هموفیلوس آنفلوانزای تیپ b سویه‌ی محلی Atf2 با روش (ELISA) Enzyme-linked Immunosorbent Assay..... ۲۳۸

شفق خادمی، فرهاد اسماعیلی، مهدی امینیان

مقایسه‌ی معیار جدید آناتومی سطحی قفسه‌ی سینه Acromio-Axillo-Suprasternal Notch Index (AASI) با چهار روش متداول دیگر جهت پیش‌بینی لارنگوسکوپی مشکل..... ۲۴۵

سید محمدرضا صفوی، عظیم هنرمند، غزاله شیخانی

بررسی مقایسه‌ی تأثیر درجات مختلف بالا بردن اندام تحتانی بر پیش‌گیری از افت فشار خون ناشی از بیهوشی اسپینال در اعمال جراحی پایین شکم..... ۲۵۱

میترا جبل‌عاملی، محسن منصوری، عفت‌السادات حسینی

### مقاله مروری

کاربردهای بالینی فن‌آوری کپسولاسیون سلولی در انتقال دارو و سلول..... ۲۵۹

رضا قویمی، وجیهه اکبری

## بررسی ارزش تشخیصی حین عمل جراحی به روش Frozen Section در مقایسه با گزارش پاتولوژی برش‌های دایمی در توده‌های پستان و تخمدان

نوشین افشار مقدم<sup>۱</sup>، میترا حیدریپور<sup>۱</sup>، فهیمه صالحی<sup>۲</sup>، علی مهرابی کوشکی<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** تشخیص حین عمل جراحی به روش Frozen section و تعیین نوع ضایعه، اهمیت به‌سزایی در تصمیم‌گیری نوع و وسعت عمل جراحی و کاهش تعداد اعمال جراحی در برخی از توده‌های پستان و تخمدان دارد. مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین میزان مطابقت بین تشخیص Frozen section و برش‌های دایمی در توده‌های پستان و تخمدان انجام شد.

**روش‌ها:** طی یک مطالعه‌ی مقطعی، ۱۵۳ نمونه‌ی Frozen section حین عمل جراحی توده‌های پستان و تخمدان در بخش پاتولوژی بیمارستان الزهراء (س) اصفهان در سال‌های ۹۳-۱۳۸۹ تحت بررسی قرار گرفتند و نتایج حاصل از Frozen section با نتایج برش دایمی مقایسه گردید.

**یافته‌ها:** از ۱۵۳ نمونه‌ی بررسی شده، ۴۶ نمونه مربوط به پستان و ۱۰۷ نمونه مربوط به تخمدان بود. حساسیت، ویژگی، مثبت کاذب، منفی کاذب، ارزش اخباری مثبت، ارزش اخباری منفی و صحت روش Frozen section به ترتیب ۹۶/۸، ۹۶/۶، ۳/۴، ۳/۲، ۹۵/۰، ۹۷/۸ و ۹۶/۷ درصد بود.

**نتیجه‌گیری:** روش تشخیصی Frozen section، در تعیین ماهیت توده‌های پستان و تخمدان، صحت بالا و قابل قبولی دارد. این روش، به تصمیم‌گیری صحیح جراح در تعیین نوع و وسعت جراحی در توده‌های پستان و تخمدان، کمک شایانی می‌کند.

**واژگان کلیدی:** Frozen section، برش دایمی، پستان، تخمدان

**ارجاع:** افشار مقدم نوشین، حیدریپور میترا، صالحی فهیمه، مهرابی کوشکی علی. بررسی ارزش تشخیصی حین عمل جراحی به روش Frozen Section در مقایسه با گزارش پاتولوژی برش‌های دایمی در توده‌های پستان و تخمدان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۷۵): ۲۳۲-۲۳۳

### مقدمه

موضعی فرایند بیماری و گسترش غیر موضعی آن (مانند متاستاز به گره‌های لنفاوی در کارسینوم پستان)، تعیین وضعیت حاشیه‌های جراحی در ضایعات بدخیم، تعیین کافی بودن مقدار بافت برداشته شده جهت تشخیص پاتولوژی و نیاز به در اختیار داشتن بافت تازه برای مطالعات ویژه است (۳).

امروزه، Frozen section در بررسی و تشخیص موارد متعدد از جمله آترزی مجاری صفراوی، بیماری Hirschsprung، کبد اهدا کننده، حاملگی داخل و خارج رحمی، ضایعات پستان، ریه، گره‌های لنفاوی و پوست، کارسینوم مخاط دهان، کارسینومای پانکراس و پروستات، تومورهای غدد بزاقی، رودی کوچک، معده و تیروئید مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴). در دهه‌های اخیر، این تکنیک به همراه

مشاوره‌ی حین عمل جراحی به طریق بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی، از خدمات مهمی است که توسط پاتولوژیست ارائه می‌شود و احتیاج به دانش، دقت و سرعت عمل پاتولوژیست دارد. در عین حال، این روش به دلیل احتمال خطاهای تشخیصی، می‌تواند در مواردی با خطر بالا و عواقب مهم برای بیمار همراه باشد. بر این اساس، بالا بودن صحت و کنترل کیفی این شیوه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱-۲).

اندیکاسیون انجام برش بافتی منجمد (Frozen section)، بستگی به نوع نمونه‌ی ارسالی دارد. عمده‌ترین دلایل بهره‌گیری از این روش، شامل نیاز به تشخیص سریع، تعیین میزان گسترش

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

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

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

نویسنده‌ی مسؤول: علی مهرابی کوشکی

دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد، برش‌های ۴-۵ میکرونی با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. تشخیص ضایعه پس از بررسی میکروسکوپی نمونه توسط پاتولوژیست به اتاق عمل گزارش شد و در دفتر مخصوص و نیز در سوابق کامپیوتری بیمار در بخش پاتولوژی ثبت گردید. پس از کامل شدن این مراحل، باقی‌مانده‌ی نمونه در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد و پس از طی مراحل پردازش بافت و تهیه‌ی برش از بلوک‌های پارافینی و رنگ‌آمیزی آن‌ها با هماتوکسیلین و ائوزین و بررسی میکروسکوپی، تشخیص نهایی داده شد و با تشخیص اولیه‌ی Frozen section مقایسه گردید. تشخیص پاتولوژی بر اساس برش‌های دایمی (Permanent pathology) به عنوان استاندارد طلایی در نظر گرفته شد. پس از استخراج داده‌ها، صحت، حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی و میزان همخوانی دو روش تشخیصی Frozen section و برش‌های دایمی، مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های به دست آمده، با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون‌های آماري  $\chi^2$  و آزمون‌های تعیین ارزش تشخیصی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

#### یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۵۳ نمونه‌ی بافتی شامل نمونه‌های مربوط به پستان و تخمدان مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. ۴۶ نمونه (۳۰/۱ درصد) مربوط به پستان و ۱۰۷ نمونه (۶۹/۹ درصد) مربوط به تخمدان بودند. میانگین سن بیماران مطالعه شده،  $۴۸/۵ \pm ۱۴/۸$  سال (با دامنه‌ی ۸۳-۱۱ سال) بود. همچنین، میانگین سن صاحبان نمونه‌های پستان و تخمدان به ترتیب  $۱۲/۹ \pm ۵۰/۹$  و  $۴۷/۴ \pm ۱۵/۶$  سال بود و طبق آزمون  $t$ ، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ( $P = ۰/۱۸۰$ ).

۳۲ مورد از ۴۶ نمونه‌ی مربوط به پستان و ۲۷ مورد از ۱۰۷ نمونه‌ی تخمدان، بدخیم بودند (۶۹/۶ درصد در مقابل ۲۵/۲ درصد) و طبق آزمون  $\chi^2$  شیوع بدخیمی در نمونه‌های پستان به طور معنی‌داری بیشتر از نمونه‌های تخمدان بود (جدول ۱). میانگین سن بیماران مبتلا به توده‌های خوش‌خیم و بدخیم به ترتیب  $۴۵/۹ \pm ۱۵/۴$  و  $۵۲/۶ \pm ۱۳/۰$  سال بود و طبق آزمون  $t$ ، بیماران مبتلا به توده‌های بدخیم، از میانگین سنی بالاتری برخوردار بودند ( $P = ۰/۰۰۶$ ).

از مجموع ۴۶ نمونه‌ی پستان، گزارش بدخیمی در روش Frozen section ۳۱ مورد (۶۷/۴ درصد) و در برش دایمی، ۳۲ مورد (۶۹/۶ درصد) بود. از ۱۰۷ نمونه‌ی تخمدان، ۲۹ نمونه (۲۷/۱ درصد) در Frozen section و ۲۷ نمونه (۲۵/۲ درصد) در برش دایمی بدخیم گزارش شده بود. در شکل ۱، توزیع فراوانی نتایج

بیوپسی باز به عنوان رویکرد استاندارد برای توده‌های پستان در نظر گرفته شده و موارد مثبت کاذب آن حدود صفر و موارد منفی کاذب آن کمتر از ۱ درصد گزارش شده است. همچنین، میزان عدم همخوانی Frozen section با برش‌های دایمی، کمتر از ۵ درصد گزارش شده است (۵).

اندیکاسیون‌های انجام Frozen section در ضایعات پستان متعدد است و مواردی مانند بدون سلول یا کم سلول بودن آسیپیری به دست آمده از Fine needle aspiration (FNA) به علت واکنش دسموپلاستیک یا نکروز، تومورهای با درجه‌ی سیتولوژیک پایین، افتراق لنفوم از کارسینوم لوبولار و ارزیابی حاشیه‌های عمل جراحی را شامل می‌شود (۴-۵).

در میان بدخیمی‌های زنان، سرطان تخمدان جزء مرگ‌بارترین موارد محسوب می‌شود. به نظر می‌رسد Frozen section حین عمل جراحی، می‌تواند به عنوان یک روش با حساسیت و ویژگی بالا به اداره‌ی مناسب توده‌های تخمدان توسط جراح کمک شایانی کند (۸-۶). از مزایای دیگر روش Frozen section، کاهش دادن تعداد دفعات جراحی، کاهش استفاده از جراحی‌های تهاجمی و اداره‌ی مناسب جراحی‌های ظریف و حساس بر پایه‌ی تشخیص Frozen section است. هدف مطالعه‌ی حاضر، تعیین صحت تشخیصی و کنترل کیفی تشخیص با استفاده از برش‌های انجمادی در ضایعات تومورال تخمدان و پستان است که در هر آزمایشگاه پاتولوژی، باید به عنوان بخشی از برنامه‌های کنترل کیفی دوره‌ای انجام گیرد.

#### روش‌ها

پژوهش حاضر، یک مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی بود که در سال ۱۳۹۳ در مرکز آموزشی-درمانی الزهرا (س) اصفهان به انجام رسید. روش مطالعه، به صورت گذشته‌نگر بود و طی آن مدارک پاتولوژی تمام بیمارانی که طی سال‌های ۹۳-۱۳۸۹ در مرکز آموزشی-درمانی الزهرا (س) اصفهان به علت توده‌های پستان و تخمدان تحت Frozen section قرار گرفته بودند، به شیوه‌ی سرشماری بررسی شدند و گزارش Frozen section و نتایج پاتولوژی نهایی آن‌ها استخراج و مورد بررسی قرار گرفت.

همه‌ی نمونه‌های جراحی که نیاز به تشخیص به روش برش‌های انجمادی داشتند، با تکنیکی مشابه بررسی شدند؛ به این ترتیب که ظاهر ماکروسکوپی نمونه‌ی تازه و فیکس نشده، توسط پاتولوژیست بررسی و از مناطق مشکوک و تشخیصی نمونه‌برداری و پس از منجمد شدن برش‌های تهیه شده در دستگاه Frozen section در

برای نمونه‌های پستان و تخمدان و همچنین، برای مجموعه نمونه‌های پستان و تخمدان آمده است.

بافت‌شناسی نمونه‌های Frozen section و برش دائمی، به تفکیک نمونه‌های پستان و تخمدان آمده است.

جدول ۲. توزیع فراوانی گزارش پاتولوژی Frozen section و برش دائمی در نمونه‌های پستان و تخمدان

نمونه	برش دائمی Frozen section	
	خوش خیم (تعداد (درصد))	بدخیم (تعداد (درصد))
پستان	۱۴ (۱۰۰)	۱ (۳/۱)
تخمدان	۷۷ (۹۶/۳)	۳۱ (۶۹/۹)
کل	۹۱ (۹۶/۸)	۳۲ (۳/۴)

جدول ۳. معیارهای ارزش تشخیصی روش نمونه‌گیری Frozen section در مقایسه با برش دائمی در نمونه‌های بافت پستان، تخمدان و کل

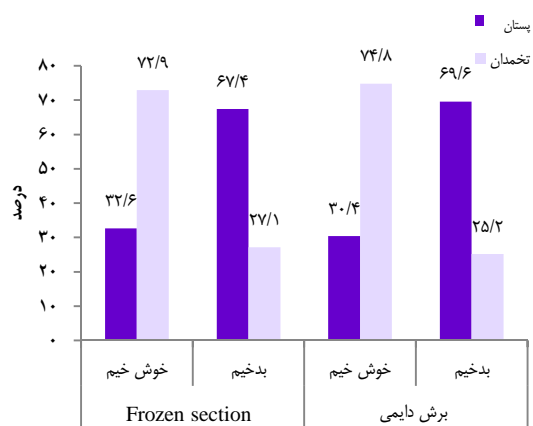
معیار	پستان	تخمدان	کل
حساسیت	۹۶/۹	۹۶/۳	۹۶/۶
ویژگی	۱۰۰	۹۶/۳	۹۶/۸
مثبت کاذب	۰	۳/۸	۳/۴
منفی کاذب	۳/۱	۳/۷	۳/۲
ارزش اخباری مثبت	۱۰۰	۸۹/۷	۹۵/۰
ارزش اخباری منفی	۹۳/۳	۹۸/۷	۹۷/۸
صحت	۹۷/۸	۹۶/۳	۹۶/۷

### بحث

هدف کلی از انجام این مطالعه، تعیین ارزش تشخیصی پاتولوژی نمونه‌های حاصل از Frozen section در مقایسه با برش دائمی در نمونه‌های پستان و تخمدان بود. امروزه، با پیشرفت روش‌های جراحی در مورد توده‌های خوش خیم و بدخیم، تصمیم‌گیری برای برداشتن توده‌های تحت عمل جراحی و وسعت جراحی به طور قطع به ماهیت توده بستگی دارد و در مواردی که ماهیت توده به طور کامل محرز نباشد، این تصمیم‌گیری به طور کامل قطعی است. در مواردی که ماهیت ضایعه برای جراح، نامشخص و شک به بدخیمی وجود داشته باشد، ارسال نمونه‌ی تازه و فیکس نشده به آزمایشگاه پاتولوژی و بررسی نمونه به روش Frozen section برای مشخص کردن سریع ماهیت توده امری ضروری به حساب می‌آید. از این رو، صحت نتایج پاتولوژی در نمونه‌های Frozen section بسیار با اهمیت است و در سرنوشت بیمار، نیاز به عمل جراحی مجدد و احتمال عود تومور تأثیر به‌سزایی خواهد داشت.

جدول ۱. توزیع فراوانی نتیجه‌ی پاتولوژی در ۱۵۳ نمونه‌ی تخمدان و پستان (P < ۰/۰۰۱)

نتیجه نوع	خوش خیم (تعداد (درصد))		بدخیم (تعداد (درصد))		جمع (تعداد (درصد))	
	پستان	۱۴ (۱۴/۹)	۳۲ (۵۴/۲)	۴۶ (۳۰/۱)		
تخمدان	۸۰ (۸۵/۱)	۲۷ (۴۵/۸)	۱۰۷ (۶۹/۹)			
جمع	۹۴ (۱۰۰)	۵۹ (۱۰۰)	۱۵۳ (۱۰۰)			



شکل ۱. درصد فراوانی نتیجه‌ی پاتولوژی نمونه‌های Frozen section و برش دائمی به تفکیک نمونه‌های پستان و تخمدان

از ۱۵ نمونه‌ی پستان با گزارش خوش خیم در Frozen section، ۱ مورد (۳/۱ درصد) در برش دائمی بدخیم بود. بنا بر این، نتایج Frozen section در ۳/۱ درصد نمونه‌های پستان، مورد منفی کاذب نشان می‌داد. موردی از مثبت کاذب در نمونه‌های پستان مشاهده نشد. از نمونه‌های مربوط به تخمدان، ۱ مورد بدخیمی در Frozen section، خوش خیم و ۳ نمونه‌ی خوش خیم، در این روش بدخیم گزارش شده بود و بدین ترتیب، روش Frozen section در نمونه‌های مربوط به تخمدان، دارای ۳/۸ درصد مثبت کاذب و ۳/۷ درصد منفی کاذب بود. همچنین، در کل نمونه‌های بررسی شده‌ی مربوط به پستان و تخمدان، ۳ مورد (۳/۴ درصد) مثبت کاذب و ۲ مورد (۳/۲ درصد) منفی کاذب وجود داشت. نتایج در جدول‌های ۲ و ۳ آمده است. در جدول ۳، میزان حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی، درصد مثبت کاذب و منفی کاذب و میزان صحت Frozen section در مقایسه با نتایج حاصل از برش دائمی به تفکیک

در مطالعه‌ی Ilvan و همکاران بر روی ۶۱۷ نمونه‌ی تخمدان، میزان صحت نتایج روش Frozen section ۹۷ درصد گزارش شده است (۱۲). میزان همخوانی تا حد زیادی به تبحر و تجربه‌ی پاتولوژیست و نوع و ماهیت نمونه بستگی دارد، اما عوامل کیفی ناشی از خطاهای تکنیکی مانند چین خوردگی بافت روی اسلاید، رنگ آمیزی ناهمگون بافت، کم بودن جزئیات سیتولوژی و ناکافی بودن میزان بافت از علل اصلی عدم صحت نتایج Frozen section محسوب می‌شود (۱۴-۱۰).

طبق توصیه‌های کالج پاتولوژیست‌های آمریکا، میزان عدم تطابق بین گزارش Frozen section و تشخیص نهایی باید حدود ۴ درصد باشد (۱۵) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد. با توجه به یافته‌های این مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت که انجام Frozen section حین عمل جراحی برای تشخیص توده‌های پستان و تخمدان روشی دقیق و با ارزش است و بهره‌مندی از همکاری پاتولوژیست‌های باتجربه، می‌تواند در افزایش صحت گزارش‌ها تأثیرگذار باشد. همکاری مناسب جراح و پاتولوژیست، می‌تواند با ایجاد اعتماد متقابل، تصمیم‌گیری درست در مورد شیوه‌ی عمل جراحی و کاهش میزان آسیب بافتی را به همراه داشته باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه دوره دکتری حرفه‌ای فیهیمه صالحی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است که در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی به تصویب رسید و با حمایت‌های این معاونت انجام شد. بدین وسیله، نویسندگان، از حمایت‌های ایشان سپاسگزاری می‌نمایند.

در این مطالعه، ۱۵۳ نمونه‌ی Frozen section مربوط به توده‌های پستان و تخمدان مورد بررسی قرار گرفت. تشخیص به روش Frozen section در مورد کل نمونه‌های پستان و تخمدان ۳/۲ درصد منفی کاذب و ۳/۴ درصد مثبت کاذب نشان داد و میزان حساسیت، ویژگی و صحت این روش به ترتیب ۹۶/۶، ۹۶/۸ و ۹۶/۷ درصد بود. بر اساس این نتایج، می‌توان به تشخیص ارایه شده در Frozen section توده‌های پستان و تخمدان اعتماد نمود.

در مطالعه‌ی رهبر و همکاران در دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، بین دو روش Frozen section و برش‌های دایمی بافتی، در ۹۷ درصد موارد همخوانی و در ۳ درصد موارد عدم همخوانی وجود داشته است. در این مطالعه، درصد همخوانی در ضایعات تومورال ۹۵/۹ درصد و میزان حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی و صحت به ترتیب ۹۱/۹، ۱۰۰، ۱۰۰، ۹۲/۵ و ۹۵/۵ درصد بوده است. همچنین، میزان همخوانی تشخیصی در ضایعات غیر تومورال، ۱۰۰ درصد و تمامی معیارهای این ارزش تشخیصی در نمونه‌های غیر تومورال، ۱۰۰ درصد گزارش شده است (۱).

در مطالعه‌ی Bianchi و همکاران بر روی ۶۷۲ مورد ضایعه‌ی غیر قابل لمس پستان، حساسیت و ویژگی روش Frozen section به ترتیب ۹۱/۷ و ۹۹/۲ درصد گزارش شده است (۹). در مطالعه‌ی Gephardt و همکاران بر روی نمونه‌های ۴۶۱ انسیتو، میزان همخوانی روش Frozen section با پاتولوژی برش دایمی، ۹۸/۵۸ درصد گزارش شده است (۱۰).

در مطالعه‌ی Rose و همکاران بر روی ۳۸۳ مورد تومور تخمدان، میزان صحت نتایج Frozen section ۹۲/۷ درصد بود (۱۱).

### References

- Rahbar M, Kanani M, Khazaei S, Shahi M. Diagnostic value of frozen section and permanent sections. J Babol Univ Med Sci 2008; 10(2): 31-5. [In Persian].
- Abbasi F, Yekta Z, Aryan A. Accuracy of frozen sections. Iran J Pathol 2012; 1: 3-8.
- Acs G, Baloch ZW, LiVolsi VA. Intraoperative consultation: an historical perspective. Semin Diagn Pathol 2002; 19(4): 190-1.
- Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Mosby; 2011. p. 11-3.
- Karve PV, Jambhekar NA, Desai SS, Chinoy RF. Role of frozen section evaluation in patients with breast lumps: A study of 251 cases. Indian J Surg 2005; 67(5): 241-5.
- Acikalin A, Torun G, Bagir E, Bayram F, Zeren H, Gulec U, et al. Intraoperative frozen section in ovarian neoplasms; a tertiary center experience. Turk Patoloji Derg 2014; 30(3): 184-8.
- Geramizadeh B, Larijani TR, Owji SM, Attaran SY, Torabinejad S, Aslani FS, et al. Accuracy of intra-operative frozen section consultation in south of Iran during four years. Indian J Pathol Microbiol 2010; 53(3): 414-7.
- Ilker A, Aykut B, Muge H, Ibrahim HM, Ulku OB, Sener G, et al. Accuracy of intra-operative frozen section in the diagnosis of ovarian tumours. J Pak Med Assoc 2011; 61(9): 856-8.
- Bianchi S, Palli D, Ciatto S, Galli M, Giorgi D, Vezzosi V, et al. Accuracy and reliability of frozen section diagnosis in a series of 672 nonpalpable breast lesions. Am J Clin Pathol 1995; 103(2): 199-205.
- Gephardt GN, Zarbo RJ. Interinstitutional comparison of frozen section consultations. A college of American Pathologists Q-Probes study of 90,538 cases in 461 institutions. Arch Pathol Lab Med 1996; 120(9): 804-9.
- Rose PG, Rubin RB, Nelson BE, Hunter RE, Reale FR. Accuracy of frozen-section (intraoperative consultation) diagnosis of ovarian tumors. Am J Obstet Gynecol 1994; 171(3): 823-6.

12. Ilvan S, Ramazanoglu R, Ulker AE, Calay Z, Bese T, Oruc N. The accuracy of frozen section (intraoperative consultation) in the diagnosis of ovarian masses. *Gynecol Oncol* 2005; 97(2): 395-9.
13. Baloch ZW, LiVolsi VA. Intraoperative assessment of thyroid and parathyroid lesions. *Semin Diagn Pathol* 2002; 19(4): 219-26.
14. Maheshwari A, Gupta S, Kane S, Kulkarni Y, Goyal BK, Tongaonkar HB. Accuracy of intraoperative frozen section in the diagnosis of ovarian neoplasms: experience at a tertiary oncology center. *World J Surg Oncol* 2006; 4: 12.
15. Mahbub F, Kheradmand K. Diagnosis or experimentation of frozen section in pediatric surgical specimens. *News and Science Newsteller of Pathology Association of Iran* 2007, D: 38-9.

## Diagnostic Value of Frozen Section Compared to Permanent Pathology in Breast and Ovarian Masses

Noushin Afsharmoghaddam<sup>1</sup>, Mitra Heidarpour<sup>1</sup>, Fahimeh Salehi<sup>2</sup>, Ali Mehrabi-Koushki<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Intraoperative consultation by frozen section method has an important role in decision making about the type and extent of surgery in almost all types of tissues and organs. This study was done to determine the diagnostic value of frozen section compared to permanent pathology in breast and ovarian masses.

**Methods:** In a cross sectional investigation, 153 breast and ovarian specimens were studied. The specimens had been submitted for frozen section to pathology lab of Alzahra Hospital, Isfahan, Iran during 2009-2014. Frozen section reports were compared with permanent pathology results as the gold standard method for accurate diagnosis.

**Findings:** There was an agreement of 96.7% between frozen section and permanent pathology. Sensitivity, specificity, false positive, false negative, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of frozen section were 96.6%, 96.8%, 3.4%, 3.2%, 95.0%, 97.8% and 96.7%, respectively.

**Conclusion:** The results show high accuracy of frozen section for intraoperative diagnosis of breast and ovarian masses. Intraoperative consultation by frozen section can be used as a standard and valuable method to determine the type and extent of surgery in breast and ovarian masses.

**Keywords:** Frozen section, Permanent pathology, Breast, Ovary

**Citation:** Afsharmoghaddam N, Heidarpour M, Salehi F, Mehrabi-Koushki A. **Diagnostic Value of Frozen Section Compared to Permanent Pathology in Breast and Ovarian Masses.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(375): 232-7

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

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

## اندازه‌گیری آنتی‌بادی تولید شده علیه کپسول پلی ساکاریدی پلی ریپوزیل ریبتول فسفات استخراج شده از هموفیلوس آنفلوانزای تیپ b سویه‌ی محلی Atf2 با روش Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

شفق خادمی<sup>۱</sup>، فرهاد اسماعیلی<sup>۲</sup>، مهدی امینیان<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** هموفیلوس آنفلوانزای تیپ b (Hib یا Haemophilus influenzae b) یک ارگانیزم کپسول‌دار و عامل اصلی مننژیت در کودکان در جهان می‌باشد. آنتی‌ژن کپسول پلی‌ساکاریدی Hib یک پلیمر تکراری از ریپوزیل ریبتول فسفات و مهم‌ترین عامل ویرولانسی و مسبب عفونت‌های بسیار در کودکان زیر ۵ سال به خصوص کودکان زیر ۲ سال می‌باشد. کپسول پلی‌ساکاریدی کانژوگه با یک حامل پروتئینی، در جلوگیری از چنین عفونت‌هایی بسیار مؤثر است.

**روش‌ها:** در این مطالعه، Hib سویه‌ی Atf2 جدا شده از یک کودک مبتلا به مننژیت، در فرمانتور حاوی محیط اصلاح شده‌ی Giolitti-Cantoni broth (GC broth) کشت داده شد. کشت حاصل، بعد از غیر فعال شدن با استفاده از روش‌های مختلف تخلیص و آنتی‌ژن پلی‌ساکاریدی (PRP) یا Polyribosylribitol phosphate) تهیه شده بعد از عبور از فیلتر ۰/۲۵ میکرومتری با توکسین کزاز (Tetanus toxoid یا TT) به عنوان حامل پروتئینی کانژوگه گردید. محصول کانژوگه، پس از عبور از ژل سفارز CL-4B جداسازی شد و به عنوان محصول کانژوگه PRP-TT مورد استفاده قرار گرفت.

**یافته‌ها:** مقدار PRP موجود در محصول کانژوگه ۴۰۲ میکروگرم از  $10^9$  باکتری در هر میلی‌لیتر تخلیص شد. مقدار پروتئین و اسیدنوکلئیک موجود در PRP مطابق با مقدار توصیه شده توسط (WHO) World Health Organization) زیر ۱ درصد بود. بازیافت PRP موجود در محصول کانژوگه بعد از استفاده از Sodium deoxycholate (DOC)، ۵۸ درصد بود که نشان دهنده‌ی مقدار بالای اتصال PRP و پروتئین اولیه بود. پاسخ آنتی‌بادی علیه محصول کانژوگه (PRP-TT) تهیه شده در نوزاد رت با نژاد ویستار با روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) غیر مستقیم اندازه‌گیری و بالاترین تیتراژ برای محصول کانژوگه نسبت به PRP استخراج شده در آزمایشگاه و PRP استاندارد خریداری شده از مؤسسه‌ی بین‌المللی استانداردهای بیولوژی در لندن (National Institute for Biological Standards And Control یا NIBSC) به دست آمد. در تیتراژ آنتی‌بادی به دست آمده برای PRP تخلیص شده و خریداری شده از NIBSC در غلظت برابر آنتی‌ژن و رقت ۱/۲۰۰ آنتی‌بادی شباهت زیادی دیده شد که این نشانگر خلوص PRP تهیه شده در آزمایشگاه می‌باشد.

**نتیجه‌گیری:** روش تخلیص PRP، کانژوگاسیون و ایمنی‌زایی محصول کانژوگه در مدل حیوانی نوزاد رت روشی مقرون به صرفه و عملی با خلوص بالا است که می‌توان از آن در تولید واکسن Hib با حجم بالا (Scale up) استفاده کرد.

**واژگان کلیدی:** هموفیلوس آنفلوانزای تیپ b، پلی‌ریپوزیل ریبتول فسفات، کانژوگاسیون، Enzyme-linked immunosorbent assay

**ارجاع:** خادمی شفق، اسماعیلی فرهاد، امینیان مهدی. اندازه‌گیری آنتی‌بادی تولید شده علیه کپسول پلی ساکاریدی پلی ریپوزیل ریبتول فسفات استخراج شده از هموفیلوس آنفلوانزای تیپ b سویه‌ی محلی Atf2 با روش Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۷۵): ۲۴۴-۲۳۸

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران

۲- دانشیار، مسؤول طرح ساخت واکسن Hib، بخش واکسن‌های انسانی (Pertussis، Diphtheria یا Tetanus و DTP)، مؤسسه‌ی واکسن و سرم‌سازی رازی، حصارک، کرج، ایران

۳- استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Email: fesmail@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: فرهاد اسماعیلی



## مقدمه

هموفیلوس آنفلوانزا (HI یا *Haemophilus influenzae*)، یک باکتری گرم منفی و کوکو باسیل با خاصیت پلی مورفیسیم (چند شکلی) است (۱-۲) که گاهی به صورت باسیل‌های بلند در کشت‌های قدیمی ظاهر می‌گردد و برای رشد، نیاز به ۲ عامل x (Hemin) و *Nicotinamide adenine dinucleotide* v (NAD) دارد (۳-۴). برخی گونه‌های این باکتری‌ها دارای کپسول هستند که بر اساس نوع کپسولشان به ۶ سروتیپ a تا f تقسیم می‌شوند (۵). این در حالی است که اکثر سویه‌های مهاجم و بیماری‌زای جدا شده از بیماران، دارای کپسول تیپ b هستند که جنس کپسول پلی ساکاریدی آن از قند ۵ کربنه‌ی پنتوز می‌باشد (۶) و از واحدهای ریبوریل ریبتول فسفات تشکیل شده است. این باکتری، یکی از شایع‌ترین عوامل مننژیت و پنومونی در کودکان ۲-۵ سال در جهان است (۷).

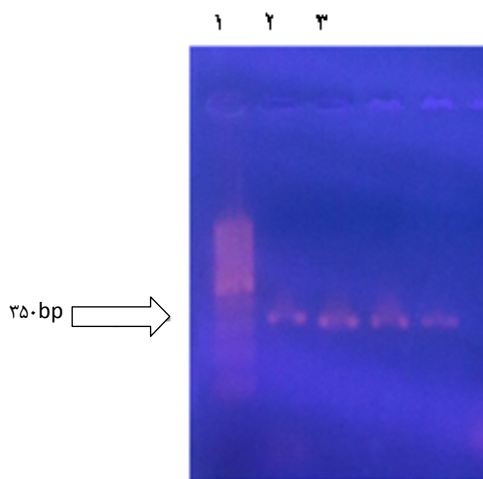
در سال ۱۹۷۰، واکسیناسیون با کپسول پلی ساکاریدی هموفیلوس آنفلوانزا باعث پیش‌گیری مننژیت در کودکان بالای ۲ سال شد، اما این واکسن در نوزادان زیر ۲ سال کارایی ندارد؛ چرا که *Polyribosylribitol phosphate* (PRP) خالص در این سن، عیار کمی از آنتی‌بادی را القا می‌کند (۸). در اوایل دهه‌ی ۸۰، محققان موفق به تولید واکسن کونزوگه علیه Hib شدند. در این واکسن‌ها، PRP به صورت کونزوگه به یک پروتئین حامل متصل می‌شود (۱۰-۹) که قابلیت تحریک سلول‌های ایمنی را دارد و سلول‌های T غیر وابسته را به سلول‌های T وابسته تبدیل می‌کند (۸).

پس از ساخت واکسن در سال ۱۹۸۸، امروزه در ایالات متحده‌ی آمریکا بروز مننژیت توسط Hib در کودکان زیر ۵ سال به کمتر از ۲/۵ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر کاهش یافت.

واکسیناسیون علیه Hib در سازمان بهداشت جهانی (WHO) یا *World Health Organization* (شامل برنامه‌ی ایمن‌سازی به عنوان یک واکسن چهار ظرفیتی و یا پنج ظرفیتی (کزاز، سیاه‌سرفه، دیفتری، هپاتیت و Hib) گسترش یافته است (۹). از طرف دیگر، تولید واکسن کونزوگه به علت مراحل مختلف فرایند تولید نظیر کشت باکتری برای تولید PRP، خالص‌سازی پروتئین، کونزوگاسیون بین پروتئین و PRP، جداسازی محصول کونزوگه از PRP و پروتئین آزاد و نیز آزمایش‌های کنترلی، هزینه‌ی بالایی دارد. بنا بر این، هر گونه بهبود در یکی از این مراحل، به افزایش نسبت سود به هزینه کمک خواهد کرد. یکی از راه‌های افزایش تولید واکسن Hib، بهبود شرایط رشد و انتخاب بهترین محیط کشت برای تولید بازده بالا و همچنین، فرایند تخلیص و کونزوگاسیون با استفاده از امکانات موجود است.

## روش‌ها

سویه‌ی باکتریایی و شرایط نگهداری: Hib سویه‌ی Atf2 که از یک کودک مبتلا به مننژیت جدا و در آزمایشگاه تحقیقاتی Hib در مؤسسه‌ی رازی با استفاده از روش‌های سرولوژیک و استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی Hib، روش‌های بیوشیمیایی و باکتریولوژیک که در مطالعات گذشته جدا و شناسایی گردیده بود در این مطالعه با استفاده از روش *Polymerase chain reaction* (PCR) و استفاده از ۲ پرایمر یکی برای شناسایی هموفیلوس آنفلوانزا و دیگری برای اطمینان از تیپ b تأیید گردید (شکل ۱). برای نگهداری طولانی مدت باکتری، از ویال‌های کرایونیک یا گلیسرول ۷۰-درجه‌ی سانتی‌گراد استفاده گردید.



شکل ۱. نتایج *Polymerase chain reaction* (PCR) جهت جداسازی سویه‌های هموفیلوس آنفلوانزا تیپ b: (۱) Ladder، (۲) سویه‌ی Atf2، (۳) سویه‌ی *American type culture collection* (ATCC)، باند ۳۵۰ bp بین نمونه‌های *Haemophilus influenzae b* (Hib) و نمونه‌ی Ladder باند مشترک است.

کشت فرماتوری باکتری و تخلیص PRP: برای آماده‌سازی محیط کشت اولیه، دانه‌ای از ویال کرایونیک برداشته شد و به ۵۰ میلی‌لیتر از محیط *Giolitti-Cantoni broth* (GC broth) (مواد تشکیل دهنده از شرکت Merck) حاوی ۱۰ گرم در هر میلی‌لیتر عامل x (Hemin) (Becton, Dickinson, USA) و ۰/۱۵ گرم در میلی‌لیتر عامل v (NAD) (Merck, Germany)، اضافه شد و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و  $pH = 7$ ،  $CO_2$  ۵ درصد و Shake برای ۸ ساعت قرار داده شد. محیط کشت اولیه پس از بررسی از نظر خلوص (شکل ۲)، به فرماتور با ۱۰ لیتر محیط GC broth حاوی ۱۰ گرم در میلی‌لیتر گلوکز اضافه شد (شکل ۳).

۴ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و رسوب حاصل جمع‌آوری گردید و در معرض اتانول ۲۵ درصد حجمی حاوی استات سدیم برای یک شب در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس، با دور ۱۶۰۰۰ xg به مدت ۴۰ دقیقه سانتریفیوژ و همین روند با اتانول ۷۵ درصد و سدیم استات تکرار شد.

رسوب در ۶ میلی‌لیتر Phosphate buffered saline (PBS) حل شد و آنزیم‌های DNase، RNAase و پروتئاز (Fermentas, EU) به آن اضافه شد و یک شب در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد.

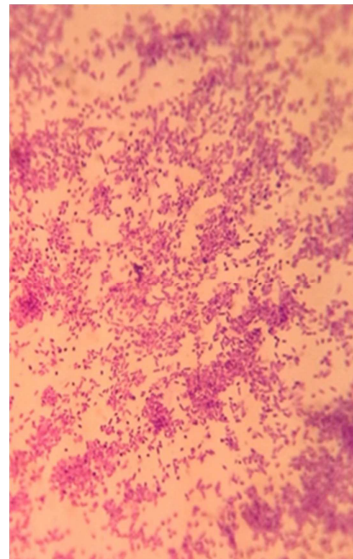
برای از بین بردن سایر اسیدهای چرب و مواد زائد، به محلول حاصل، فنل اشباع به نسبت ۱ به ۵ اضافه و سپس در دور ۶۰۰۰ xg به مدت یک ساعت سانتریفیوژ شد و بخش میانی جدا شده و در برابر کلرید کلسیم دیالیز گردید. محصول نهایی، از فیلتر ۰/۴۵ عبور داده شد و PRP حاصل، در لوله‌های اپندورف ریخته و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. آنتی‌ژن کپسولی با روش بیال با استفاده از D-ریبوز به عنوان استاندارد مطابق آن چه در جدول ۱ آمده است، اندازه‌گیری شد.

به طور خلاصه، در این روش از ریبوز استاندارد و نمونه‌های آزمایش، رقت‌های مختلف تهیه و از معرف اورسینول برای شناسایی ریبوز استفاده گردید. سپس، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (LKB, France) خوانده شد. ناخالصی پروتئین با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد و معرف فولین برای شناسایی پروتئین به روش Lowry و همچنین، اسید نوکلئیک اضافی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. جدول ۲، روش Lowry با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان رقت استاندارد را نشان می‌دهد.

**فرایند کونژوگاسیون:** PRP تخلیص شده با سیانوژن برامید (Cyanogen bromide یا CNBr) (Merck, Germany) و توکسوئید کزاز (Tetanus toxoid یا TT) به عنوان حامل پروتئینی که از بخش Tetanus، Pertussis، Diphtheria (DTP) مؤسسه‌ی رازی تهیه شد، با Ethyl dimethyl aminopropyl carbodimide (EDAC) (Merck, Germany) فعال شدند و سپس، از آدیپک اسید دی‌هیدرازاید (ADH یا Adipic acid dihydrazide) (Merck, Germany) به عنوان رابط برای اتصال و کونژوگه کردن پروتئین و PRP استفاده شد. سوسپانسیون حاصل در دور ۱۲۰۰۰ xg به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مایع رویی حاوی محصول کونژوگه که متشکل از PRP-TT بود، جمع‌آوری گردید.

کروماتوگرافی: محصول کونژوگه‌ی حاصل، در ستون شیشه‌ای

سوسپانسیون کشت پس از ۲۴ ساعت از فرمانتور خارج شد و پس از بررسی آزمایش‌های کنترل و خلوص آن در دور ۶۰۰۰ xg در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد.



شکل ۲. رنگ‌آمیزی گرم هموفیلوس آنفلوانزا تیپ b سویه Atf2



شکل ۳. کشت هموفیلوس آنفلوانزا در فرمانتور

وزن پلت تر (Wet weight) که شامل ۵۰ گرم سلول باکتری است، در مجاورت سستالون ۱ درصد (N-Cetyl-N,N,N-trimethyl-ammonium bromide) (Merck, Germany) حاوی NaCl ۰/۵ مولار، قرار داده شد و به مدت ۳ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به شدت تکان داده شد. سوسپانسیون حاصل، با دور ۴۰۰۰ xg به مدت ۴۰ دقیقه در دمای

چاهکها با آنتی‌رت بزی کونژوگه با پراکسیداز که  $1/10000$  با PBS  $0/01$  مولار رقیق شده بود، به عنوان آنتی‌بادی ثانویه پوشش داده شدند. از اتانول - TMB (Tetramethylbenzidine) به عنوان سوبسترا استفاده و واکنش با اسید سولفوریک متوقف شد. نتایج در  $450$  نانومتر بررسی شد.

### یافته‌ها

از  $10$  لیتر Hib broth در GC اصلاح شده،  $50$  گرم پلت تر به دست آمد. غلظت پلی‌ساکارید با استفاده از روش بیال و با استفاده از ریبوز (Sigma, US) به عنوان استاندارد تعیین شد (جدول ۱). غلظت PRP با استفاده از یک عامل تبدیل که در آن  $1$  میلی‌گرم از ریبوز مطابقت دارد، با  $2/55$  میلی‌گرم پلی‌ریبوزیل ریبیتول فسفات برآورد شد. این عامل تبدیل، بر اساس فرمول ساختاری در پلی‌ریبوزیل ریبیتول فسفات گزارش شده توسط Brooks و همکاران، استوار است (۱).

جدول ۱. جدول استانداردهای ریبوز در روش بیال برای اندازه‌گیری Polyribosylribitol phosphate (PRP) تخلیص شده در جذب

نوری  $670$  نانومتر

استانداردها	جذب نوری	طول موج (nm)	غلظت ( $\mu$ l)
۱	۰	۰	۰
۲	$0/095$	۲۵	۵
۳	$0/198$	۵۰	۱۰
۴	$0/368$	۱۰۰	۲۰
۵	$0/718$	۲۰۰	۴۰
۶	$0/940$	۳۰۰	۶۰

بر اساس این اندازه‌گیری، مقدار PRP اندازه‌گیری شده به روش بیال،  $402$  میکروگرم در میلی‌لیتر (معادل  $1$  میلی‌گرم در میلی‌لیتر PRP) و مقدار پروتئین و اسید نوکلئیک آن زیر  $1$  درصد بود که مطابق با مقدار توصیه شده توسط سازمان بهداشت جهانی می‌باشد (جدول ۲).

با ارتفاع  $90$  سانتی‌متر و قطر  $1/5$  سانتی‌متر که حاوی ژل سفارز CL-4B (Sigma, US) بود، ریخته شد و از  $0/2$  NaCl مولار با  $pH = 8$  به عنوان بافر شستشو دهنده استفاده گردید. آن گاه، جذب نوری محلول خارج شده از ستون در  $260$  نانومتر بررسی شد. از دی‌اکسی کولات سدیم (DOC یا Sodium deoxycholate) برای اندازه‌گیری میزان PRP آزاد از محصول کونژوگه مورد استفاده قرار گرفت. به طور خلاصه، DOC به محلول حاصل از ستون کروماتوگرافی اضافه شد و در دمای  $5$  درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت  $30$  دقیقه قرار داده شد و پس از افزودن  $1$  مولار HCl در دور  $5000$  xg به مدت  $45$  دقیقه سانتریفیوژ و پلت حاصل جمع‌آوری و میزان PRP با استفاده از روش بیال بررسی شد.

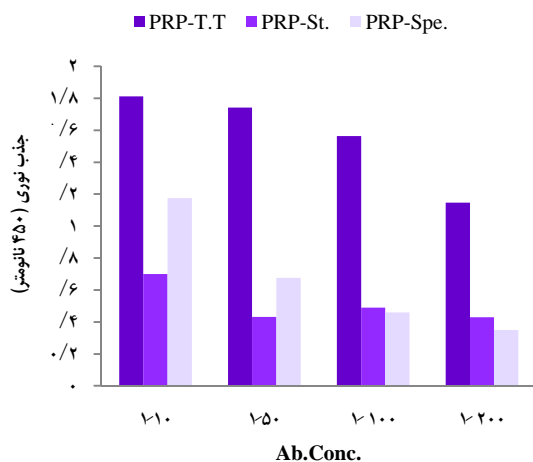
آماده‌سازی سرم برای استفاده در ELISA: هفت نوزاد رت نژاد ویستار (Vistar) بین  $4-5$  روز با وزن  $8-14$  گرم  $4$  بار به میزان  $0/5$  میلی‌لیتر از محصول کونژوگه (PRP-TT) متشکل از  $115$  میکروگرم PRP با فاصله  $5$  روز در ناحیه‌ی صفاق تزریق شد و یک دز یادآور یک هفته بعد تزریق گردید.  $10$  روز بعد از آخرین تزریق، از قلب رت خون‌گیری انجام و سرم خون جدا شد.

روش ELISA: آنتی‌بادی علیه محصول کونژوگه (PRP-TT) تهیه شده در نوزادان رت به روش ELISA غیر مستقیم اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، PRP-TT، PRP استاندارد و PRP تخلیص شده در این آزمایشگاه به عنوان آنتی‌ژن با غلظت  $36$  میکرولیتر در هر ول از پلیت ELISA کوت شد، به مدت  $3$  ساعت در انکوباتور با دمای  $37$  درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد و برای یک شب در یخچال نگهداری گردید. پس از خارج کردن از یخچال با محلول PBS-tween20  $4$  مرتبه شسته و سپس چاهکها با شیر خشک  $0/1$  درصد بلاک و برای  $90$  دقیقه در انکوباتور  $37$  درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از  $5$  مرتبه شستشوی چاهکها با محلول PBS-tween20، سرم تهیه شده در نوزاد رت با رقت  $1$  به  $10$ ،  $50$ ،  $100$  و  $200$  به عنوان آنتی‌بادی اول به چاهکها اضافه و برای مدت  $90$  دقیقه انکوبه گردید. پس از  $4$  مرتبه شستشوی مجدد،

جدول ۲. جدول استانداردهای آلبومین گاوی برای بررسی پروتئین در  $750$  نانومتر به روش Lowry

استانداردها	Blank	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$S_4$
آب مقطر ( $\mu$ l)	۱۰۰	۹۰	۸۰	۶۰	۲۰
BSA ( $\mu$ l)	۰	۱۰	۲۰	۴۰	۸۰
آب مقطر ( $\mu$ l)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
محلول D ( $cc$ )	۲	۲	۲	۲	۲
معرف فولین ( $\mu$ l)	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰

BSA: Bovine serum albumin



شکل ۵. بررسی ایمونولوژیک آنتی‌ژن‌های محصول کونزوگه

**PRP-TT یا Polyribosylribitol phosphate - Tetanus (toxoid)**

**PRP**، استاندارد **PRP-St** یا **PRP-standard** و **PRP**

تخلیص شده **PRP-Spe** یا **PRP-separated** با نمودار ستونی

در **Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)**، تیر

غلظت‌های برابر از آنتی‌ژن و کمترین رقت آنتی‌بادی (۱/۲۰۰)، تیر

آنتی‌بادی علیه **PRP** استاندارد و **PRP** تخلیص شده شباهت دارند که

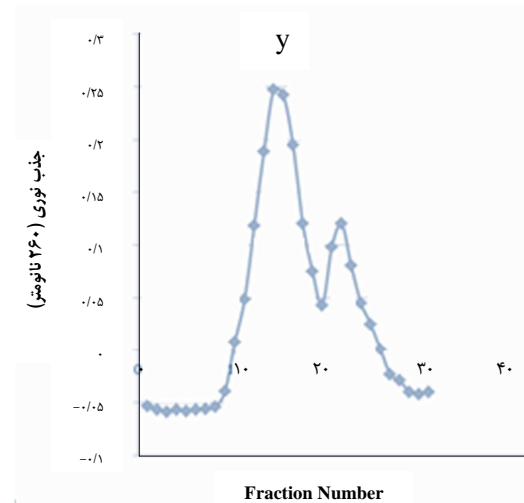
حاکی از خلوص محصول تخلیص شده است.

### بحث

در این مطالعه، هدف تخلیص **PRP** با خلوص بالا مقرون به صرفه بودن آن از نظر اقتصادی و همچنین، اطمینان از فرایند کونزوگاسیون پایدار و بررسی ایمنی‌زایی آن در نوزاد رت بود. در مطالعات انجام شده، برای به دلیل بازده بالای محیط اصلاح شده‌ی GC broth در مقایسه با محیط‌های دیگر از جمله **Brain-heart infusion (BHI)**، **Tryptic soy broth (TSB)** و لوییتال، از این محیط استفاده گردید.

همچنین، بین سویه‌های جدا شده از کودکان مبتلا به مننژیت، از سویه‌ی **Atf2** بالاترین مقدار کپسول از کشت فرمانتوری به دست آمد (۱۱-۱۲). میزان **PRP** تخلیص شده و مقدار بازیافت آن در مقایسه با سایر پژوهش‌ها، مقدار مشابهی بوده است که خود دلیلی بر دستیابی این تحقیق به فن آوری تخلیص **PRP** از باکتری هموفیلوس آنفلوانزا می‌باشد (۱۳). واکسن‌های اولیه علیه **Hib** که تنها حاوی **PRP** بود، به دلیل ماهیت فیزیکی و شیمیایی خود قادر به تحریک کمتر ایمنی سلولی و لنفوسیت **T** بود (۱۴). بنا بر این، توانایی ایجاد مصنوعیت در مقابل مننژیت هموفیلوس نوزادان را نداشت. کانزوگاسیون **PRP** مربوط به **Hib** با پروتئین کزاز، به عنوان حامل پروتئینی، ایمنی‌زایی و تولید آنتی‌بادی اختصاصی در بدن میزبان را افزایش می‌دهد. در فرایند کانزوگاسیون، بعد از فعال نمودن کپسول پلی‌ساکاریدی و توکسوئید کزاز،

در این مطالعه، جداسازی محصول کونزوگه از غیر کونزوگه با استفاده از ستون کروماتوگرافی ژل سفارز **CL-4B** که یک نوع ژل فیلتراسیون است و بر اساس وزن مولکولی انجام شد. در سیستم ژل سفارز **CL-4B** مولکول‌های درشت‌تر، زودتر خارج می‌شوند و تنها پروتئین‌ها در این سیستم جذب دارند. از این رو، **PRP** که ساختار پروتئینی ندارد، فاقد جذب در **Ultraviolet (UV)** است؛ بنا بر این، پیک اول و بلندتر نمودار شدت جذب را به خود اختصاص می‌دهد و پیک بعدی که شدت جذب کمتری را نشان می‌دهد، نمایانگر پروتئین غیر کونزوگه مطابق با شکل ۴ می‌باشد.



شکل ۴. نمودار جداسازی محصول کونزوگه در ستون کروماتوگرافی

سفارز **CL-4B**، پس از بررسی جذب نوری آن‌ها در ۲۶۰ نانومتر. پیک اول محصول کونزوگه و پیک دوم پروتئین‌هایی را که در واکنش شرکت نکردند، نشان می‌دهد.

فراکسیون‌های ۱۹-۱۱ جمع‌آوری شده به عنوان محصول کونزوگه مورد استفاده قرار گرفت. علاوه بر محصول کونزوگه، مشتقاتی از جمله پروتئین‌های آزاد و **PRP** غیر کونزوگه ('Derivatives') وجود دارد. مقدار **PRP** کونزوگه شده با **TT** پس از استفاده از **DOC** به عنوان نشانگر جدا کننده‌ی محصول کونزوگه از سایر مشتقات ۵۸ درصد برآورد شد (**Recovery**). در ۳۶ میکروگرم در ۱۰۰ میکرولیتر موجود در هر ول بود و جذب نوری آنتی‌بادی به دست آمده از سرم نوزاد رت با توجه به شکل ۵، برای **PRP** استاندارد ۰/۷ و برای **PRP** تخلیص شده ۰/۸ بود. همچنین، تیر آنتی‌بادی برای محصول کونزوگه ۱/۸ به دست آمد.

آزمایشگاه رازی در مقایسه‌ی جذب نوری به دست آمده از پلیت ELISA به وسیله‌ی ELISA reader را نشان می‌دهد (۱۶). در نهایت، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که واکسن کونژوگه‌ی تولید شده که توانایی تحریک سلول‌های ایمنی را دارد، امکان استفاده از روش‌های پیش‌گفته را برای تولید واکسن آزمایشی Hib در مقیاس بزرگ‌تر مهیا می‌کند. این تحقیق، در راستای اهداف بلند پایه‌ی WHO مبنی بر کاهش میزان شیوع مننژیت باکتریال در جهان انجام شد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح شماره‌ی ۲۱۸۱۸۹۰۰۴۱ مصوب مؤسسه‌ی واکسن و سرم‌سازی رازی کرج می‌باشد. بدین وسیله، نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از مدیریت و پرسنل محترم این مؤسسه جهت تأمین منابع مالی و امکانات مورد نیاز این پژوهش اعلام می‌دارند.

از رابط ADH به منظور اتصال PRP و پروتئین حامل استفاده شد. طبق تحقیقات انجام شده، اتصال ADH به پلی‌ساکارید، پیوند پایدارتری نسب به اتصال به پروتئین ایجاد می‌کند (۱۵). در این تحقیق، ADH بعد از فعال شدن PRP به آن متصل و سپس با پروتئین کونژوگه گردید.

در این مطالعه، اثر ایمنی‌زایی واکسن کونژوگه‌ی آزمایشی هموفیلوس آنفلوانزا بررسی شد و همچنین، نتایج ELISA همان‌طور که در شکل ۵ دیده می‌شود، در بالاترین رقت از آنتی‌بادی در غلظت برابر برای آنتی‌ژن‌های مختلف شباهت معنی‌داری بین PRP استاندارد و PRP تهیه شده از سویه‌ی محلی Atf2 نشان داد که این شباهت در مقدار تیتراژ آنتی‌بادی، حاکی از شباهت خلوص بین PRP استاندارد و PRP استخراج شده در این آزمایشگاه است.

به دلیل کونژوگه بودن PRP با پروتئین کزاز، که قابلیت تحریک بیشتر سلول‌های ایمنی را دارد، تیتراژ آنتی‌بادی بالاتری نسبت به PRP استاندارد (تهیه شده از NIBSC) و PRP استخراج شده در

### References

- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick and Adelberg's medical microbiology. 24<sup>th</sup> ed. New York, NY: McGraw-Hill Medical; 2007.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2005.
- Hilleman MR, Tai JY, Tolman RL, Vella PP. Coupled H. influenzae type b vaccine [US Patent 4,459,286]. 1984.
- Marburg S, Kniskern PJ, Tolman RL. Covalently-modified bacterial polysaccharides, stable covalent conjugates of such polysaccharides and immunogenic proteins with big eneric spacers and methods of preparing such polysaccharides and conjugates and of confirming covalency. [US Patent: Registration No. 4 882 317]. 1989.
- Davey PG, Cruikshank JK, McManus IC, Mahood B, Snow MH, Geddes AM. Bacterial meningitis--ten years experience. J Hyg (Lond ) 1982; 88(3): 383-401.
- Barbour ML, Mayon-White RT, Coles C, Crook DW, Moxon ER. The impact of conjugate vaccine on carriage of Haemophilus influenzae type b. J Infect Dis 1995; 171(1): 93-8.
- Kelly DF, Moxon ER, Pollard AJ. Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines. Immunology 2004; 113(2): 163-74.
- Granoff DM, Cates KL. Haemophilus influenzae type b polysaccharide vaccines. J Pediatr 1985; 107(3): 330-6.
- Eskola J, Ward J, Dagan R, Goldblatt D, Zepp F, Siegrist CA. Combined vaccination of Haemophilus influenzae type b conjugate and diphtheria-tetanus-pertussis containing acellular pertussis. Lancet 1999; 354(9195): 2063-8.
- Mawas F, Bolgiano B, Rigsby P, Crane D, Belgrave D, Corbel MJ. Evaluation of the saccharide content and stability of the first WHO International Standard for Haemophilus influenzae b capsular polysaccharide. Biologicals 2007; 35(4): 235-45.
- Afshar M, Esmaily F, Aminian M, Asli E, Haadi E, Torabi M, et al. A study on Haemophilus influenzae type b growth rate and capsule production in different media. Archves of Razi Institute 2012; 67(1): 7-12.
- Esmaily F, Aminian M, Tavangar AR, Hadi A. Comparison of bacterial biomass and PRP production between different isolates of Haemophilus influenza type b (Hib) under different culture conditions. Archives of Razi Institute 2011; 66(1): 43-9.
- Takagi M, Lima RB, Albani SM, Zangirolami TC, Tanizaki MM, Cabrera-Crespo J. Purification of capsular polysaccharide produced by Haemophilus influenzae type b through a simple, efficient and suitable method for scale-up. J Ind Microbiol Biotechnol 2008; 35(11): 1217-22.
- Peltola H. Worldwide Haemophilus influenzae type b disease at the beginning of the 21<sup>st</sup> century: Global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. Clin Microbiol Rev 2000; 13(2): 302-17.
- Chu C, Schneerson R, Robbins JB, Rastogi SC. Further studies on the immunogenicity of Haemophilus influenzae type b and pneumococcal type 6A polysaccharide-protein conjugates. Infect Immun 1983; 40(1): 245-56.
- Madore DV, Anderson P, Baxter BD, Carlone GM, Edwards KM, Hamilton RG, et al. Interlaboratory study evaluating quantitation of antibodies to Haemophilus influenzae type b polysaccharide by enzyme-linked immunosorbent assay. Clin Diagn Lab Immunol 1996; 3(1): 84-8.

## Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay (ELISA) for Measurement of Antibody against Polyribosylribitol Phosphate Polysaccharide Capsule Extracted from Haemophilus Influenza Type-B Strain-Atf2

Shafagh Khademi<sup>1</sup>, Farhad Esmaily<sup>2</sup>, Mehdi Aminian<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Haemophilus influenzae type b (Hib) is an encapsulated bacterium cause meningitis in infants worldwide. The capsular Polysaccharide antigen of this organism is a polymer made of ribosylribitol phosphate and is the most important virulence factor and the causative agent of many infections in children under 2 up to 5 years of age. The capsular Polysaccharide conjugated to a carrier protein is effective in the prevention of such infections.

**Methods:** In this study Hib strain Atf<sub>2</sub> which was isolated and identified from a child with meningitis (previous studies), was cultured in a bioreactor (13-L Bio flo 2000 (New Bruns Wick Scientific Co. USA)) containing Giolitti-Cantoni broth (GC broth). The culture was inactivated and polyribosylribitol phosphate (PRP) was extracted by various methods from the bacterial pellet and ultimately filtered through 0.25 µm filter. The filtrate was conjugated with tetanus toxoid (TT) as protein carrier and injected in to sepharos CL-4B gel. Fractions between 11 to 19 was pooled and used as a conjugate product (PRP-TT).

**Findings:** The amount of 402 µg PRP was extracted from 10<sup>9</sup>cfu/ml of bacteria. The amount of protein and nucleic acid was under 1% which is the amount recommended by World Health Organization (WHO). The PRP recovery after conjugation which was measured by sodium deoxycholate (DOC) was 58%. The antibody response against PRP-TT raised in infant rats showed the highest titer against itself compare to extracted PRP in our own lab and the PRP purchased from National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). The similarity between standard PRP and extracted PRP, was shown by antibody titer in 1/200 dilution.

**Conclusion:** The amount of 402 µg PRP was extracted from 10<sup>9</sup>cfu/ml of bacteria. The amount of protein and nucleic acid was under 1% which is the amount recommended by World Health Organization (WHO). The PRP recovery after conjugation which was measured by DOC was 58%. The antibody response against PRP-TT raised in infant rats showed the highest titer against itself compare to extracted PRP in our own lab and the PRP purchased from NIBSC. The similarity between standard PRP and extracted PRP, was shown by antibody titer in 1/200 dilution.

**Keywords:** Haemophilus influenza type b, Polyribosylribitol phosphate, Conjugation, Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay (ELISA)

**Citation:** Khademi Sh, Esmaily F, Aminian M. **Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay (ELISA) for Measurement of Antibody against Polyribosylribitol Phosphate Polysaccharide Capsule Extracted from Haemophilus Influenza Type-B Strain-Atf2.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(375): 238-44

1- Department of Microbiology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

2- Associate Professor, Director of Hib Project, Department of Human Vaccines, Razi institute of Vaccine and Serum, Hesarak, Karaj, Iran

3- Assistant Professor, Department of Biochemistry, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Farhad Esmaily, Email: fesmaily@yahoo.com

## مقایسه‌ی معیار جدید آناتومی سطحی قفسه‌ی سینه Acromio-Axillo-Suprasternal Notch Index (AASI) با چهار روش متداول دیگر جهت پیش‌بینی لارنگوسکوپی مشکل

سید محمدرضا صفوی<sup>۱</sup>، عظیم هنرمند<sup>۱</sup>، غزاله شیخانی<sup>۲</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** تعیین لارنگوسکوپی و لوله‌گذاری مشکل، از مهم‌ترین وظایف متخصص بیهوشی است. از این رو، هدف از انجام این مطالعه، پیش‌بینی دو وضعیت پیش‌گفته، از طریق مقایسه‌ی ۵ روش نسبت قد به فاصله‌ی تیرومنتال (RHTMD یا Ratio of height to thyromental distance)، روش گاز گرفتن لب فوقانی (ULBT یا Upper lip bite test)، روش مالامپاتی تغییر یافته (MMT یا Modified Mallampati test) و محیط دور گردن با Acromio-axillo-suprasternal notch index (AASI) حین اعمال جراحی با بیهوشی عمومی بود.

**روش‌ها:** تعداد ۲۲۸ بیمار بالغ که کاندیدای جراحی انتخابی و انجام بیهوشی عمومی با لوله‌گذاری تراشه بودند، وارد مطالعه شدند. بررسی راه هوایی پیش از عمل با روش‌های AASI، RHTMD، ULBT، MMT و نسبت محیط گردن به فاصله‌ی تیرومنتال (NC/TMD یا Neck circumference to thyromental distance) انجام شد. بعد از القای بیهوشی، دید لارنگوسکوپی با معیار Cormack-Lehane نیز ثبت شد. نمودار Receiver operating characteristic (ROC) و مقادیر حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی برای ارزیابی قدرت روش‌ها محاسبه گردید.

**یافته‌ها:** دید مشکل حنجره در لارنگوسکوپی، در ۲/۹ درصد بیماران وجود داشت. بهترین نقطه جهت جداسازی احتمال دید حنجره در  $AASI \leq 0.6$  بود که مقدار آن نسبت به بقیه‌ی روش‌ها بالاترین مقدار بود. AASI بیشترین ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی را دارد. RHTMD کمترین حساسیت را داشت. MMT، AASI، NC/TMD بیشترین حساسیت را نسبت به بقیه‌ی روش‌ها داشتند.

**نتیجه‌گیری:** AASI می‌تواند آزمون غربالگری مفیدی برای پیش‌بینی لارنگوسکوپی مشکل در اعمال جراحی با بیهوشی عمومی باشد.

**واژگان کلیدی:** لارنگوسکوپی مشکل، لوله‌گذاری مشکل، Acromio-axillo-suprasternal notch index، Modified Mallampati test

**ارجاع:** صفوی سید محمدرضا، هنرمند عظیم، شیخانی غزاله. مقایسه‌ی معیار جدید آناتومی سطحی قفسه‌ی سینه Acromio-Axillo-Suprasternal Notch Index (AASI) با چهار روش متداول دیگر جهت پیش‌بینی لارنگوسکوپی مشکل. مجله دانشکده پزشکی اصفهان

۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۷۵): ۲۴۵-۲۵۰

### مقدمه

تراشه‌ی مشکل، حدود ۲-۱/۵ درصد است (۶-۵). پیش‌بینی لارنگوسکوپی مشکل، هنوز یکی از معضلات متخصصین بیهوشی حین اعمال جراحی با بیهوشی عمومی می‌باشد. شناخت و پیش‌بینی موقعیت‌ها و بیماران در معرض مشکلات راه هوایی، کلیدی جهت مراقبت مناسب برای بیماران است و در مقالات زیادی نیز مورد توجه قرار گرفته است (۸-۵).

روش جدیدی در مطالعه‌ی کامران‌منش و همکاران با Acromio-axillo-suprasternal notch index (AASI) معرفی

لوله‌گذاری اندوتراکتال یک اقدام ضروری در بیهوشی عمومی می‌باشد (۱). پیش‌بینی لارنگوسکوپی مشکل، حین اعمال جراحی یک بخش ضروری جهت اداره‌ی مشکلات راه هوایی است؛ به طوری که ۸۵ درصد ناتوانی‌های حفظ راه هوایی، منجر به آسیب مغزی و بیش از ۳۰ درصد منجر به مرگ می‌شود (۳-۲). لارنگوسکوپی مشکل، به صورت دید ضعیف گлот تعریف می‌شود که مترادف با لوله‌گذاری داخل تراشه‌ی مشکل حین جراحی است (۴). شیوع لوله‌گذاری داخل

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

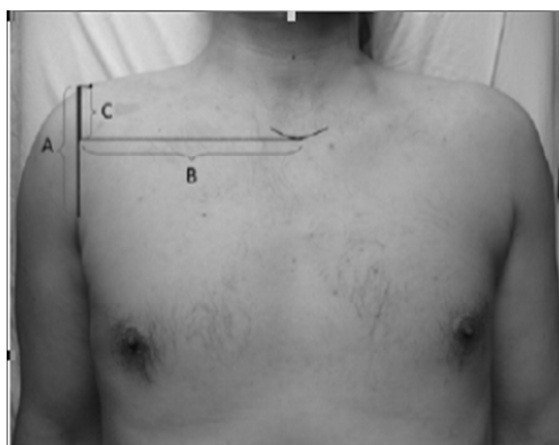
۲- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: غزاله شیخانی

Email: dr.ghazal1990@gmail.com

یک پرسش‌نامه نیز برای هر بیمار قبل از بیهوشی تکمیل شد که شامل سن، وزن، قد و شاخص توده‌ی بدنی بود. یک متخصص بیهوشی ماهر با سابقه‌ی حداقل پنج ساله در بیهوشی که هیچ گونه اطلاعی از شاخص‌های پیش‌گفته نداشت، لارنگوسکوپي را انجام داد و سختی نمای لارنگوسکوپي ارزیابی کرد.

پنج روش پیش‌بینی کننده روی همی بیماران انجام شد: AASI-1 (خطی به موازات محور طولی بدن از ناحیه‌ی آکرومیون به چین فوقانی آگزیرلا کشیده و آن را خط A می‌نامیم. B) خطی دیگری عمود بر خط A، به گونه‌ای رسم می‌شود که از قسمت تحتانی قوس سوپراسترنال بگذرد و آن را خط B می‌نامیم. C) بخشی از خط A را که بین آکرومیون و تقاطع B قرار می‌گیرد، قطعه‌ی C می‌نامیم (۹) (شکل ۱).



شکل ۱. روش اندازه‌گیری Acromio-axillo-suprasternal (AASI) notch index

A) خطی به موازات محور طولی بدن از ناحیه‌ی آکرومیون به چین فوقانی آگزیرلا کشیده و آن را خط A می‌نامیم. B) خطی دیگری عمود بر خط A، به گونه‌ای رسم می‌شود که از قسمت تحتانی قوس سوپراسترنال بگذرد و آن را خط B می‌نامیم. C) بخشی از خط A را که بین آکرومیون و تقاطع B قرار می‌گیرد، قطعه‌ی C می‌نامیم. شاخص AASI، به صورت C تقسیم بر A تعریف می‌شود (C/A).

شاخص AASI، به صورت C تقسیم بر A تعریف می‌شود (C/A).

۲- RHTMD: فاصله‌ی تیرومنتال از قسمت استخوانی چانه در Extention کامل گردن با دهان بسته اندازه‌گیری شد. سپس نسبت قد به TMD حساب شد (۱۲).

۳- NC/TMD: نسبت محیط دور گردن در محاذات غضروف کریکوتئید به فاصله‌ی تیرومنتال از قسمت استخوانی چانه در Extention کامل گردن با دهان بسته محاسبه گردید (۱۵، ۱۳).

۴- ULBT: روش گاز گرفتن لب فوقانی درجات ۱-۳

شد که ارزش اخباری بیشتری نسبت به روش مالمپاتی تغییر یافته (MMT یا Modified Mallampati test) دارد و قادر به پیش‌بینی لارنگوسکوپي مشکل، با حساسیت ۷۸/۹ درصد و ویژگی ۸۹/۴ درصد می‌باشد (۹).

علاوه بر این، روش‌های پیش‌بینی کننده‌ی متعددی برای لارنگوسکوپي مشکل (Difficult visualization of the larynx یا DVL) وجود دارد. این سؤال طرح است که «آیا فاصله‌ی تیرومنتال (TMD یا Thyromental distance)، به عنوان یک پیش‌بینی کننده به تنهایی حساسیت یا ویژگی کافی دارد؟».

مطالعه‌ی خان و همکاران نشان داد که روش گاز گرفتن لب فوقانی (ULBT یا Upper lip bite test) با ارزش اخباری منفی ۹۸/۳ درصد، یک روش قابل اعتماد برای پیش‌بینی لارنگوسکوپي مشکل می‌باشد (۱۰). MMT که توسط Samsoun و Young اصلاح شده بود، نیز به عنوان یک پیش‌بینی کننده به تنهایی حساسیت و ویژگی کافی را نداشت (۱۱).

نسبت قد به فاصله‌ی تیرومنتال (RHTMD یا Ratio of height to thyromental distance) در مطالعه‌ی Schmitt و همکاران، مقدار P قابل اعتمادتری نسبت به TMD دارد (۱۲).

نسبت محیط دور گردن به فاصله‌ی تیرومنتال (NC/TMD یا Neck circumference to thyromental distance) که در مطالعه‌ی Kim و همکاران توصیف شد، شاخص ارجح در دید مشکل حنجره در بیماران چاق بود و مطالعه‌ی هیرمن‌پور و همکاران نیز آن را در بیماران باردار اثبات کرد (۱۳-۱۴).

برای کاهش خطر لارنگوسکوپي و لوله‌گذاری مشکل، همی متخصصین بیهوشی باید بتوانند از یک روش پیش‌بینی کننده‌ی خوب استفاده کنند. بنا بر این، مطالعه‌ی حاضر به صورت آینده‌نگر و دو سو کور طراحی گردید تا ارزش اخباری شاخص AASI را نسبت به روش‌های دیگر مقایسه کند و روش‌های پیش‌بینی کننده در ارزیابی راه هوایی برای لارنگوسکوپي و لوله‌گذاری را گسترش دهد.

## روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر، مطالعه‌ی آینده‌نگر، دو سو کور و مشاهده‌ای بود که بعد از تصویب در کمیته‌ی اخلاق و پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، در بیمارستان آیت‌اله کاشانی انجام شد. ابتدا از همی بیماران شرکت کننده، رضایت گرفته شد. بیماران تحت بیهوشی عمومی با درجه‌ی ASA (American Society of Anesthesiologists) یک و دو وارد مطالعه شدند. بیماران با مالفورماسیون‌های راه هوایی، پاتولوژی ناحیه‌ی گردنی و صورت، محدودیت حرکتی گردن و مندیبل و بیماران نیازمند به لوله‌گذاری در حالت هوشیاری، وارد این مطالعه نشدند.



درجه‌ی ۱: دندان‌های ثنایای تحتانی، به طور کامل روی مخاط لب فوقانی را می‌پوشانند.

درجه‌ی ۲: دندان‌های ثنایای تحتانی، تنها لب فوقانی را لمس می‌کنند، اما روی مخاط آن را نمی‌پوشانند.

درجه‌ی ۳: دندان‌های ثنایای تحتانی به لب فوقانی نمی‌رسند (۱۰).  
5- MMT: طبقه‌بندی مالمپاتی تغییر یافته که توسط Samsoon و Young تعریف شد (۱۱). نمای اوروفارنکس بر طبق MMT به درجات ۱ (مشاهده‌ی کام نرم، زبان کوچک، ستون‌های لوزه‌ای)، ۲ (مشاهده‌ی کام نرم و زبان کوچک و نامشخص بودن ستون‌های لوزه‌ای)، ۳ (مشاهده‌ی کام نرم و قاعده‌ی زبان کوچک) و ۴ (عدم مشاهده‌ی کام نرم) طبقه‌بندی می‌شود (۱۶-۱۷).

بعد از ورود هر بیمار به اتاق عمل، همه‌ی بیماران تحت مراقبت و پایش قلبی، چک فشار خون و پالس اکسی‌متری قرار گرفتند. بعد از اکسیژن‌دهی اولیه به مدت پنج دقیقه با اکسیژن ۱۰۰ درصد، بیهوشی عمومی با فنتانیل ۲ میکروگرم/کیلوگرم، تیوپنتال سدیم ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و آتراکوریوم ۰/۶ میلی‌گرم/کیلوگرم القا شد. بعد از ۹۰ ثانیه با بگ و ماسک اکسیژن، بیماران توسط متخصص بیهوشی اینتوبه شدند. نمای لارنگوسکوپي بیمار به صورت یکی از چهار درجه‌ی Cormack-Lehane (CL) شامل «مشاهده‌ی کامل طناب‌های صوتی»، «مشاهده‌ی قسمت تحتانی گلو»، «فقط مشاهده‌ی اپی‌گلو» و «عدم مشاهده‌ی اپی‌گلو» تعریف شد (۱۸).

DVL با درجات ۳ و ۴ CL و لارنگوسکوپي با نمای آسان (EVL یا Easy visualization of the larynx) با درجات ۱ و ۲ در لارنگوسکوپي مستقیم تعریف می‌شود. اطلاعات بیماران به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نشان داده شد و ارزش پیش‌بینی کننده‌های راه هوایی، با استفاده از آزمون Mann Whitney U برای MMT و ULBT و نیز آزمون t برای سایر متغیرها مقایسه شد.

حجم زیر نمودار (AUC یا Area under the ROC curve) به عنوان نقطه‌ی کلیدی مطالعه استفاده شد تا با توجه به آن، تعیین شود که روش مورد نظر، از نظر بالینی قابل استفاده است یا نه. حساسیت، ویژگی، نقطه‌ی برش (Cut of point) و سطح زیر منحنی با استفاده از نمودار Receiver operating characteristic (ROC) به دست آمد.

تفاوت‌های مقدار AUC برای همه‌ی روش‌های پیش‌بینی کننده به دست آمد و  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. داده‌های مطالعه پس از جمع‌آوری وارد رایانه شد و تفاوت‌های AUC روش‌ها با نرم‌افزار آماری Medscale نسخه‌ی 9.3.6.0 آنالیز گردید. داده‌های مطالعه با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰

### یافته‌ها

در مجموع، ۷۲۸ بیمار (۲۰۵ زن و ۵۲۳ مرد) وارد این مطالعه شدند. ۵ نفر درجه‌ی ۴ CL داشتند که با ویدیو لارنگوسکوپي اینتوبه شدند. جدول ۱، اطلاعات دموگرافیک بیماران شامل سن، قد، وزن و شاخص توده‌ی بدنی را نشان می‌دهد. در جدول ۲، توزیع فراوانی جنسیت، درجه‌بندی CL، MMT و ULBT آمده است. جدول ۳، تفاوت‌های آماری لارنگوسکوپي مشکل و لارنگوسکوپي آسان برای هر روش را نشان می‌دهد. در جدول ۴، مقدار P برای روش‌های MMT، AASI، NC، ULBT، RHTMD و NC/TMD آمده است.

جدول ۱. ویژگی‌های دموگرافیک شرکت کنندگان در مطالعه (n = ۷۲۸)

متغیرها	میانگین $\pm$ انحراف معیار
سن (سال)	۳۵/۷ $\pm$ ۱۶/۲
وزن (کیلوگرم)	۷۱/۸ $\pm$ ۱۳/۰
قد (سانتی‌متر)	۱۶۸/۸ $\pm$ ۱۱/۴
شاخص توده‌ی بدنی (کیلوگرم/مترمربع)	۲۵/۲ $\pm$ ۵/۳

AASI، بالاترین منحنی ROC را با تفاوت چشمگیری نسبت به سایر روش‌ها داشت (AUC = ۰/۷۹) (جدول ۴)؛ در حالی که سایر روش‌ها (MMT با AUC = ۰/۶۲، ULBT با AUC = ۰/۶۹، RHTMD با AUC = ۰/۵۳، NC با AUC = ۰/۵۶ و NC/TMD با AUC = ۰/۵۳) پایین‌تری داشتند.

جدول ۲. توزیع فراوانی جنس، درجه‌ی مالمپاتی، روش گاز گرفتن لب فوقانی و نمای لارنگوسکوپي در بیماران

متغیر	تعداد (درصد)
جنس	مرد ۵۲۳ (۷۱/۸)
	زن ۲۰۵ (۲۸/۲)
درجه‌ی مالمپاتی	I ۶۲۱ (۸۵/۳)
	II ۹۹ (۱۳/۶)
	III ۵ (۰/۷)
	IV ۳ (۰/۴)
روش گاز گرفتن لب فوقانی	I ۶۱۸ (۸۴/۹)
	II ۱۰۵ (۱۴/۴)
	III ۵ (۰/۷)
	IV ۳ (۰/۴)
نمای لارنگوسکوپي	I ۶۱۳ (۸۴/۲)
	II ۹۴ (۱۲/۹)
	III ۱۶ (۲/۲)
	IV ۵ (۰/۷)

جدول ۳. اختلاف آماری برای هر روش بین دو گروه لارنگوسکوپي با نمای آسان و لارنگوسکوپي با نمای مشکل

متغیر	لارنگوسکوپي با نمای مشکل (n = ۲۱)	لارنگوسکوپي با نمای آسان (n = ۷۰۷)	مقدار P
	میانگین $\pm$ انحراف معیار	میانگین $\pm$ انحراف معیار	
AASI	۰/۶۲ $\pm$ ۰/۷۲	۰/۵۶ $\pm$ ۰/۰۶	< ۰/۰۰۱
TMD	۸/۷۱ $\pm$ ۱/۱۵	۸/۸۵ $\pm$ ۴/۰۸	۰/۶۳۱
RHTMD	۱۹/۵۹ $\pm$ ۲/۷۲	۲۰/۰۱ $\pm$ ۶/۴۸	۰/۵۴۹
(cm) NC	۳۹/۴۵ $\pm$ ۴/۸۳	۳۸/۳۵ $\pm$ ۳/۵۳	۰/۳۳۹
NC/TMD	۴/۶۰ $\pm$ ۰/۸۴	۴/۵۴ $\pm$ ۱/۵۰	۰/۶۳۰

AASI: Acromio-axillo-suprasternal notch index; TMD: Thyromental distance; RHTMD: Ratio of height to thyromental distance; NC: Neck circumference; NC/TMD: Neck circumference to thyromental distance

P < ۰/۰۵۰ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

در مطالعه‌ی حاضر، نشان داده شد که AASI روش دقیق‌تری نسبت به سایر روش‌ها می‌باشد. در مطالعه‌ی کامران‌منش و همکاران (۹)، AASI مقدار P بالاتری نسبت به MMT با نقطه‌ی تمایز (Cut off) زیر ۰/۵ داشت. در این مطالعه، AASI با نقطه‌ی تمایز زیر ۰/۴۶ و  $AUC = ۰/۷۹$ ، قدرتمندترین و قابل اعتمادترین روش برای پیش‌بینی DVL است. نقطه‌ی تمایز زیر ۰/۴۶ نشان دهنده‌ی راحتی در لارنگوسکوپي و اعداد بالاتر با سختی در این فرایند همراه خواهد بود. همچنین، مطالعه‌ی حاضر نشان داد که AASI بیشترین ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی را داشته است. AASI وابسته به وضعیت بیمار نیست و یک روش ارزان است و به آسانی با ابزار ساده قابل محاسبه است. MMT یک روش قدیمی است که به طور وسیع استفاده می‌شود، اما مطالعه‌ی Lundstrom و همکاران نشان داد که یک روش، به تنهایی ناکافی است (۱۷).

همچنین، AASI بالاترین (۶۶/۶۷) حساسیت و RHTMD (۳۸/۱۰) و NC (۲۳/۸۱) کمترین حساسیت را داشتند. در آنالیزها:  $AASI \leq ۰/۴۶۷$ ،  $MMT > ۱$ ،  $NC > ۴۳$ ،  $RHTMD \leq ۱۸$  و  $ULBT > ۱$  به عنوان نقطه‌ی تمایز در پیش‌بینی لارنگوسکوپي مشکل در نظر گرفته شد.

### بحث

لارنگوسکوپي و لوله‌گذاری مشکل، اگر به خوبی کنترل نشوند، از عوامل اصلی مرگ و میر و ناخوشی می‌باشند. مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که شیوع DVL ۲/۹ درصد می‌باشد (۱۹، ۱۳). مطالعات هنرمند و همکاران (۱۵) و نیز Merah و همکاران (۲۰) به ترتیب شیوع DVL را ۱۰ و ۸/۶ درصد نشان داده است. این تفاوت‌ها، ممکن است ناشی از تفاوت‌های انسانی، وضعیت سر، درجه‌ی شل شدن عضلات و فشار وارده به کریکویید باشد.

جدول ۴. مقادیر پیش‌گویی به دست آمده در روش‌های مورد مطالعه برای بروز لارنگوسکوپي مشکل بر اساس طبقه‌بندی (CL) Cormack-Lehane

روش	MMT	ULBT	RHTMD	NC/TMD	AASI	NC
حجم زیر منحنی نمودار ROC	۰/۶۲۶	۰/۶۹۰	۰/۵۳۸	۰/۵۳۱	۰/۷۹۰	۰/۵۶۳
ارزش اخباری منفی (درصد)	۹۸/۱	۹۸/۴	۹۷/۷	۹۷/۸	۹۹/۰	۹۷/۷
ارزش اخباری مثبت (درصد)	۶/۵	۱۰/۰	۴/۸	۴/۸	۵۶/۰	۱۳/۲
-LR (نسبت احتمالی منفی)	۰/۶۶	۰/۵۵	۰/۸۰	۰/۷۶	۰/۳۴	۰/۸۰
+LR (نسبت احتمالی مثبت)	۲/۳۲	۳/۷۴	۱/۶۸	۱/۷۱	۴۲/۸۵	۵/۱۰
محدوده‌ی اطمینان ۹۵٪	۸۲/۴-۷۶/۳	۸۸/۵-۸۳/۲	۸۰/۴-۷۴/۱	۷۸/۱-۷۱/۶	۹۹/۲-۹۷/۲	۹۶/۸-۹۳/۵
ویژگی (درصد)	۷۹/۴۹	۸۵/۹۸	۷/۳۴	۷۴/۹۳	۹۸/۴۴	۹۵/۳۳
محدوده‌ی اطمینان ۹۵٪	۷۰/۲-۲۵/۷	۷۴/۳-۲۹/۸	۶۱/۵-۱۸/۲	۶۶/۲-۲۱/۹	۸۵/۴-۴۳/۰	۴۷/۲-۸/۳
حساسیت (درصد)	۴۷/۶۲	۵۲/۳۸	۳۸/۱۰	۴۲/۸۶	۶۶/۶۷	۲۳/۸۱
مقدار P	۰/۰۵۶	۰/۰۰۳	۰/۵۴۹	۰/۶۳۰	۰/۰۰۰۱	۰/۳۳۹

ROC: Receiver operating characteristic; MMT: Modified Mallampati test; ULBT: Upper lip bite test; RHTMD: Ratio of height to thyromental distance; NC/TMD: Neck circumference to thyromental distance; AASI: Acromio-axillo-suprasternal notch index; NC: Neck circumference; +LR: Positive likelihood ratio; -LR: negative likelihood ratio

جمعیت‌های مختلف توصیه می‌شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای غزاله شیخانی به شماره‌ی طرح ۳۹۳۳۶۱ مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد که با حمایت مالی معاونت پژوهشی این دانشگاه به انجام رسیده است. از این رو، نویسندگان از این معاونت محترم، تمامی پزشکان و تکنسین بیهوشی اتاق عمل مرکز آموزشی-درمانی آیت‌اله کاشانی، بیماران و خانواده‌ی محترم آنان که در انجام این تحقیق همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌نمایند.

ULBT نیز روش مناسبی برای لارنگوسکوپی با نمای مشکل نیست؛ احتمال می‌رود که علت آن تعداد کم بیماران با ULBT درجه‌ی ۳ (۰/۷ درصد در مطالعه‌ی حاضر) باشد.

صحت NC و NC/TMD در مطالعات Kim و همکاران (۱۴) و نیز Gonzales و همکاران (۲۱) نشان داده شد. در مطالعه‌ی حاضر نیز مشاهده شد که NC/TMD با  $AUC = 0/53$  قدرت زیادی برای پیش‌بینی لارنگوسکوپی مشکل دارد.

به طور کلی، مطالعه‌ی حاضر نشان داد که شاخص AASI یک روش قدرتمند برای پیش‌بینی لارنگوسکوپی و لوله‌گذاری در جمعیت عمومی می‌باشد. مطالعات بیشتر با تعداد نمونه‌های بیشتر در

### References

- Lapinsky SE. Endotracheal intubation in the ICU. Crit Care 2015; 19: 258.
- Cook TM, MacDougall-Davis SR. Complications and failure of airway management. Br J Anaesth 2012; 109(Suppl 1): i68-i85.
- Nolan JP, Kelly FE. Airway challenges in critical care. Anaesthesia 2011; 66(Suppl 2): 81-92.
- Oates JD, Macleod AD, Oates PD, Pearsall FJ, Howie JC, Murray GD. Comparison of two methods for predicting difficult intubation. Br J Anaesth 1991; 66(3): 305-9.
- Rocke DA, Murray WB, Rout CC, Gouws E. Relative risk analysis of factors associated with difficult intubation in obstetric anesthesia. Anesthesiology 1992; 77(1): 67-73.
- Chou HC, Wu TL. Thyromental distance--shouldn't we redefine its role in the prediction of difficult laryngoscopy? Acta Anaesthesiol Scand 1998; 42(1): 136-7.
- Turkan S, Ates Y, Cuhruk H, Tekdemir I. Should we reevaluate the variables for predicting the difficult airway in anesthesiology? Anesth Analg 2002; 94(5): 1340-4, table.
- Bilgin H, Ozyurt G. Screening tests for predicting difficult intubation. A clinical assessment in Turkish patients. Anaesth Intensive Care 1998; 26(4): 382-6.
- Kamranmanash MR, Jafari A, Gharaee B, Agha Mohammadi H, Poorzamani M, Kashi AH. Comparing the new acromio-axillo-suprasternal notch index with modified Mallampati test in the prediction of difficult laryngeal exposure. J Iran Society Anaesthesiol Intensive Care 2012; 34(79): 7-14. [In Persian].
- Khan ZH, Mohammadi M, Rasouli MR, Farrokhnia F, Khan RH. The diagnostic value of the upper lip bite test combined with sternomental distance, thyromental distance, and interincisor distance for prediction of easy laryngoscopy and intubation: a prospective study. Anesth Analg 2009; 109(3): 822-4.
- Samsoon GL, Young JR. Difficult tracheal intubation: a retrospective study. Anaesthesia 1987; 42(5): 487-90.
- Schmitt HJ, Kirmse M, Radespiel-Troger M. Ratio of patient's height to thyromental distance improves prediction of difficult laryngoscopy. Anaesth Intensive Care 2002; 30(6): 763-5.
- Hirmanpour A, Safavi M, Honarmand A, Jabalameli M, Banisadr G. The predictive value of the ratio of neck circumference to thyromental distance in comparison with four predictive tests for difficult laryngoscopy in obstetric patients scheduled for caesarean delivery. Adv Biomed Res 2014; 3: 200.
- Kim WH, Ahn HJ, Lee CJ, Shin BS, Ko JS, Choi SJ, et al. Neck circumference to thyromental distance ratio: a new predictor of difficult intubation in obese patients. Br J Anaesth 2011; 106(5): 743-8.
- Honarmand A, Safavi M, Ansari N. A comparison of between hyomental distance ratios, ratio of height to thyromental, modified Mallampati classification test and upper lip bite test in predicting difficult laryngoscopy of patients undergoing general anesthesia. Adv Biomed Res 2014; 3: 166.
- Etezadi F, Ahangari A, Shokri H, Najafi A, Khajavi MR, Daghigh M, et al. Thyromental height: a new clinical test for prediction of difficult laryngoscopy. Anesth Analg 2013; 117(6): 1347-51.
- Lundstrom LH, Vester-Andersen M, Moller AM, Charuluxananan S, L'hermite J, Wetterslev J. Poor prognostic value of the modified Mallampati score: a meta-analysis involving 177 088 patients. Br J Anaesth 2011; 107(5): 659-67.
- Krage R, van Rijn C, van Groeningen D, Loer SA, Schwarte LA, Schober P. Cormack-Lehane classification revisited. Br J Anaesth 2010; 105(2): 220-7.
- Practice guidelines for obstetric anesthesia: an updated report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Obstetric Anesthesia. Anesthesiology 2007; 106(4): 843-63.
- Merah NA, Foulkes-Crabbe DJ, Kushimo OT, Ajayi PA. Prediction of difficult laryngoscopy in a population of Nigerian obstetric patients. West Afr J Med 2004; 23(1): 38-41.
- Gonzalez H, Minville V, Delanoue K, Mazerolles M, Concina D, Fourcade O. The importance of increased neck circumference to intubation difficulties in obese patients. Anesth Analg 2008; 106(4): 1132-6, table.

## Comparing “Acromio-Axillo-Suprasternal Notch Index (AASI)” as a New Screening Test for Predicting Difficult Laryngoscopy with Four Commonly Used Tests

Seyed Mohammad Reza Safavi<sup>1</sup>, Azim Honarmand<sup>1</sup>, Ghazaleh Sheikhani<sup>2</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Prediction of difficult laryngoscopy is an essential part of airway management in general anesthesia. The purpose of the present study was comparison of commonly used tests of prediction of difficult laryngoscopy and endotracheal intubation ratio of height to thyromental distance (RHTMD), Modified Mallampati test (MMT), upper lip bite test (ULBT), ratio of neck circumference to thyromental distance (NC/TMD) with acromio-axillo-suprasternal notch index (AASI) in general anesthesia.

**Methods:** A total of 728 patients scheduled for surgery under general anesthesia with endotracheal intubation were enrolled in this study. The dimensional predictive test measurements (AASI, ULBT, RHTMD, NC/TMD, MMT) were accomplished on all patients. The laryngoscopic view was graded with Cormack-Lehane (CL) grading system. Receiver operating characteristic (ROC) curve, Sensitivity, specificity, and Positive predictive value (PPV) were used to compare the tests.

**Findings:** Our study showed that the incidence of difficult view laryngoscopy (DVL) is about 2.9%. AASI had the highest specificity, positive likelihood ratio, PPV and NPV in comparison with the other predictive tests. AASI with cutoff point  $\leq 0.6$  had the higher cut off point. AASI has the highest ROC with significant difference to other prediction tests. RHTMD had the least sensitivity.

**Conclusion:** Our study showed that AASI can be a good screening test to predict difficult laryngoscopy in general anesthesia.

**Keywords:** Difficult laryngoscopy, Endotracheal intubation, Acromio-axillo-suprasternal notch index (AASI), Modified Mallampati test (MMT),

**Citation:** Safavi SMR, Honarmand A, Sheikhani G. Comparing “Acromio-Axillo-Suprasternal Notch Index (AASI)” as a New Screening Test for Predicting Difficult Laryngoscopy with Four Commonly Used Tests. J Isfahan Med Sch 2016; 34(375): 245-50

1- Professor, Department of Anesthesiology, 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

**Corresponding Author:** Ghazale Sheikhani, Email: dr.ghazal1990@gmail.com

## بررسی مقایسه‌ی تأثیر درجات مختلف بالا بردن اندام تحتانی بر پیش‌گیری از افت فشار خون ناشی از بیهوشی اسپینال در اعمال جراحی پایین شکم

میترا جبل‌عاملی<sup>۱</sup>، محسن منصوری<sup>۲</sup>، عفت‌السادات حسینی<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** امروزه، بیهوشی اسپینال به طور وسیعی در جراحی‌های ژنیکولوژی و ارتوپدی استفاده می‌شود. از طرفی، افت فشار خون در طول اعمال جراحی که با بی‌حسی نخاعی انجام می‌شود، بسیار فراوان اتفاق می‌افتد و به این علت، روش‌های مختلفی نظیر روش‌های فیزیکی مثل بانداز اندام تحتانی و یا بالا بردن ساق پا، به عنوان پیش‌گیری و درمان پیشنهاد شده‌اند، که تأثیر این روش‌ها همچنان مورد تردید است. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تأثیر روش بالا بردن ساق پا بر میزان افت فشار خون به انجام رسید.

**روش‌ها:** در این مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی، تعداد ۱۰۵ بیمار کاندیدای عمل جراحی اندام تحتانی که تحت بیهوشی به روش اسپینال قرار گرفتند، به صورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند و تأثیر روش بالا آوردن غیر فعال یا (Passive lumbar extension یا PLE) بر تغییرات نبض و فشار خون بیماران مورد بررسی قرار گرفت. در بیماران گروه اول، پای بیمار بالا آورده نشد. پای بیماران، در گروه دوم به میزان ۱۵ درجه و در گروه سوم به میزان ۳۰ درجه بالا برده شد. با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری ANOVA، تغییرات مورد بررسی و تجزیه و تحلیل و مقایسه قرار گرفت.

**یافته‌ها:** بررسی فشار خون بیماران از قبل از القای بی‌حسی تا دقیقه‌ی ۶۰ در سه گروه پای صاف، زاویه‌ی ۱۵ درجه و زاویه‌ی ۳۰ درجه نشان داد که فشار خون سیستول، دیاستول و ضربان قلب در طی مدت بررسی در هر سه گروه به میزان مشابهی کاهش پیدا کرد، اما بر حسب آزمون One-way ANOVA، تفاوت معنی‌داری بین سه گروه، در هیچ یک از زمان‌ها وجود نداشت. میانگین فشار خون سیستول در قبل از عمل در سه گروه پای صاف، زاویه‌ی ۱۵ درجه و زاویه‌ی ۳۰ درجه، در قبل از عمل به ترتیب  $136/2 \pm 24/4$ ،  $132/0 \pm 32/0$  و  $131/5 \pm 25/3$  بود ( $P = 0/24$ ). همچنین، میانگین فشار سیستول در دقیقه‌ی ۶۰، در سه گروه پیش‌گفته به ترتیب  $119/3 \pm 109/8$ ،  $118/5 \pm 118/6$  و  $116/8 \pm 114/4$  بود ( $P = 0/64$ ).

**نتیجه‌گیری:** برابر نتایج مطالعه‌ی حاضر، بالا بردن اندام تحتانی در پیش‌گیری از افت فشار خون در بیماران تحت بیهوشی اسپینال، تأثیر قابل توجه و معنی‌داری نداشت، اما با توجه به نتایج سایر مطالعات، احتمال می‌رود بالا بردن پا، در پیش‌گیری از افت فشار خون کمک کننده باشد. از این رو، لازم است مطالعات بیشتری در خصوص اثبات یا رد تأثیر این روش انجام گیرد.

**واژگان کلیدی:** بالا بردن پا، بی‌حسی نخاعی، عمل جراحی پایین شکم

**ارجاع:** جبل‌عاملی میترا، منصوری محسن، حسینی عفت‌السادات. بررسی مقایسه‌ی تأثیر درجات مختلف بالا بردن اندام تحتانی بر پیش‌گیری از

افت فشار خون ناشی از بیهوشی اسپینال در اعمال جراحی پایین شکم. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۷۵): ۲۵۱-۲۵۸

سمپاتیک وسیع همراه با کاهش مقاومت عروقی محیط و بازگشت وریدی می‌شود و می‌تواند به علت برادی‌کاردی، روی خروجی قلبی-عروقی تأثیر بگذارد. همچنین، افت فشار خون می‌تواند با تهوع و استفراغ همراه شود که ممکن است خطرات شدیدی برای بیمار (کاهش سطح هوشیاری، آسپیراسیون ریوی، ارست قلبی و دپرشن

### مقدمه

افت فشار خون در طول عمل جراحی که با بی‌حسی نخاعی انجام شود، بسیار شایع است و اگر پیش‌گیری صورت نگیرد، شایع‌ترین عارضه محسوب می‌گردد (۹۰-۵۰ درصد) (۱-۳)؛ به ویژه در اعمالی که بلوک باید به طرف سر تا سطح T<sub>4</sub> انجام شود، که این باعث بلوک

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

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

۳- سرپرستار بیهوشی، مرکز آموزشی-درمانی الزهرا (س)، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

## روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه ی کارآزمایی بالینی یک سو کور بود که در سال ۱۳۹۲ بر روی بیماران کاندیدای اعمال جراحی پایین شکم انتخابی مراجعه کننده به مرکز پزشکی الزهرای (س) اصفهان انجام شد.

معیارهای ورود به مطالعه شامل بیماران کاندیدای اعمال جراحی پایین شکم انتخابی، American Society of Anesthesiologists (ASA) یک و دو، عدم ابتلا به بیماری سیستمیک، نداشتن منع انجام بیهوشی اسپینال مثل افزایش فشار داخل جمجمه، عفونت محل تزریق و کواگولوپاتی و موافقت بیمار برای شرکت در مطالعه بود. همچنین، شکست در انجام بیهوشی اسپینال و بروز هر گونه حادثه جراحی مثل پارگی عروق و یا خونریزی سنگین که مانع از تداوم انجام مطالعه گردد، به عنوان معیارهای خروج از مطالعه در نظر گرفته شد.

حجم نمونه ی مورد نیاز مطالعه با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مقایسه ی میانگین ها و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، توان آزمون ۸۰ درصد، انحراف معیار فشار خون که به میزان ۱/۱۷ در نظر گرفته شد؛ همچنین، حداقل تفاوت معنی داری بین گروه ها که به میزان ۰/۸ در نظر گرفته شد، به تعداد ۳۳ بیمار در نظر گرفته شد که برای اطمینان بیشتر ۳۵ بیمار در هر گروه مورد مطالعه قرار گرفتند.

روش انجام کار بدین صورت بود که ۱۰۵ بیمار پس از حصول شرایط ورود به مطالعه و اخذ رضایت‌نامه‌ی کتبی به روش تصادفی سازی بلوکی در سه گروه ۳۵ نفره توزیع شدند.

در گروه اول، پس از انجام بیهوشی اسپینال، اندام تحتانی در زاویه ی صفر درجه، در گروه دوم به مدت ۱۰ دقیقه در زاویه ی ۱۵ درجه و در گروه سوم، به مدت ۱۰ دقیقه در زاویه ی ۳۰ درجه قرار گرفت.

در همه ی بیماران، بیهوشی اسپینال در وضعیت نشسته در فضای L<sub>4</sub>-L<sub>5</sub> و یا L<sub>4</sub>-L<sub>5</sub> با استفاده از سوزن ۲۵ نوع اسپینال با بوپروکائین ۰/۵ درصد ساخت کارخانه ی کورازان با دز ۲/۵ میلی لیتر بوپروکائین صورت گرفت.

همه ی بیماران از آغاز ورود به اتاق عمل تا خروج از ریکاوری، تحت پایش های تعیین فشار خون به صورت غیر تهاجمی، پالس اکسی متری، (ECG) Electrocardiography، حجم خونریزی و حجم ادرار قرار گرفتند. قبل از بیهوشی اسپینال، برای بیمار ۷ سی سی بر کیلوگرم مایع درمانی شروع شد و در صورت سقوط فشار خون، بیش از ۲۰ درصد فشار خون اولیه، ۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم افدرین داخل وریدی با فاصله ی زمانی هر ۵ دقیقه یک بار تا رفع سقوط فشار خون و همچنین، در صورت بروز تهوع و استفراغ حین عمل، از آتروپین ۰/۵ میلی گرم به صورت وریدی استفاده شد.

تنفسی) داشته باشد (۲). از این رو، افت فشار خون در جریان عمل جراحی که با بی حسی نخاعی انجام می شود، باید به طور سیستماتیک و دقیق، بدون تأخیر، شناسایی، پی گیری و درمان شود (۳).

تکنیک هایی که به طور رایج برای پیش گیری از افت فشار خون انجام می شوند شامل هیدراتاسیون از طریق مایعات داخل وریدی، استفاده از داروهای سمپاتومیمتیک و نیز روش های فیزیکی مثل وضعیت دادن به بیمار و بستن و کمپرس پاها می باشند.

با وجود تأثیر روش های پیش گیرانه ی دیگر، همچنین کلوتیدها، افدرین، فیل افدرین و کمپرس اندام تحتانی در پیش گیری از افت فشار خون، همچنان هیچ کدام از این ها در مقایسه با موارد شاهد نتوانسته اند نیاز به درمان افت فشار خون ناشی از بی حسی نخاعی در طی جراحی عمل جراحی را حذف کنند (۲)

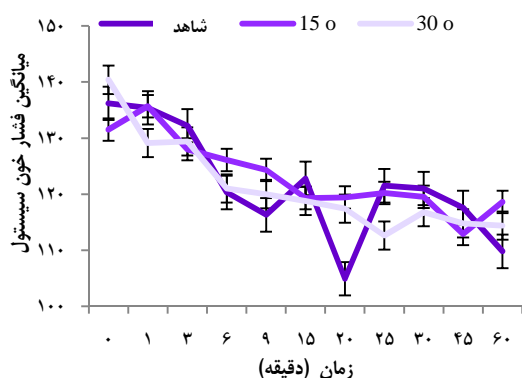
بلند کردن غیر فعال پاها (Passive leg elevation یا PLE) شایع ترین مانوری است که در مواردی برای آماده کردن فیلداستریل در اکثر جراحی های اختصاصی (جراحی عروق کرونری، جراحی های عروقی و ارتوپدی) و نیز برای سهولت جراحی باز (جراحی های زنان و اورولوژی) یا برای درمان کم فشاری خون حاد انجام می شود. به خوبی مشخص است که این تغییر وضعیت، با گردش خون از پاها به سمت جریان خون مرکزی از طریق افزایش بازگشت وریدی و یا بهبود سیستم همودینامیک، باعث تغییرات همودینامیک می شود (۴).

از راهبردهای مورد استفاده به عنوان پیش گیری از کم فشاری خون بعد از بلوک ساب آراکتوئید، بستن و پیچاندن پاها یا بلند کردن پاها و یا وضعیت Trendelenburg می باشد، اما وضعیت Trendelenburg می تواند سطح بی حسی نخاعی را افزایش بدهد و فشار خون را حتی بیشتر در بی حسی نخاعی کاهش دهد؛ در حالی که بالا بردن ساده ی پاها بدون افزایش سرعت انتشار رو به بالا، می تواند جایگزین وضعیت Trendelenburg برای پیش گیری و کنترل افت فشار خون در طی بی حسی نخاعی شود (۵).

روش های بسیار مختلفی پیشنهاد شده است که به تنهایی و یا در ترکیب با هم، به عنوان پیش گیری و درمان کم فشاری خون استفاده شود. با وجود این که پیش گیری و درمان کم فشاری خون دو مقوله ی متفاوت هستند و هر کدام باید جداگانه مطالعه شوند، اما در مطالعات انجام شده، تفاوت آشکاری قایل نشده اند و این دو مقوله، با هم بررسی شده اند؛ ضمن این که اغلب مطالعات بر روی عمل سزارین انجام شده است.

علاوه بر این، مطالعاتی که مقایسه ی بین روش های فیزیکی دیگر که انجام شده کوچک و حدود بوده تا اثر مطلوب را نشان بدهد. از این رو، مطالعه ی حاضر با هدف بررسی تأثیر روش بالا بردن ساق پا بر میزان افت فشار خون در اعمال جراحی پایین شکم به انجام رسید.

حسی در سه گروه اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0/001$ ). بررسی فشار خون بیماران از قبل از القای بی‌حسی تا دقیقه‌ی ۶۰ در سه گروه با پا در زاویه‌ی صفر، ۱۵ و ۳۰ درجه نشان داد که فشار خون سیستول در طی مدت بررسی در هر سه گروه، به میزان مشابهی کاهش پیدا کرد، اما بر حسب آزمون One-way ANOVA، تفاوت معنی‌داری بین سه گروه، در هیچ یک از زمان‌ها وجود نداشت. از طرف دیگر، بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA، روند تغییرات فشار خون سیستول نیز در بین سه گروه اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲ و شکل ۱).



شکل ۱. میانگین فشار خون سیستول از قبل از عمل تا دقیقه‌ی ۶۰ در سه گروه

در جدول ۳، میانگین و انحراف معیار فشار خون دیاستول از قبل از القای بی‌حسی تا دقیقه‌ی ۶۰ در سه گروه آمده است. همان‌طور که این جدول نشان می‌دهد، فشار خون دیاستول نیز در طی مدت عمل در هر سه گروه به طور متوازن کاهش داشت و اختلاف معنی‌داری بین سه گروه مشاهده نشد. همچنین، فشار خون دیاستول در هیچ یک از زمان‌های بررسی شده در بین سه گروه متفاوت نبود. آزمون Repeated measures ANOVA نیز نشان داد روند تغییرات فشار خون دیاستول در سه گروه، اختلاف معنی‌دار نداشت (شکل ۲).

بعد از انجام بیهوشی اسپینال، یک نفر با گذاشتن خط کش به موازات پای مریض به این صورت که با خط افقی تخت مریض زاویه درست بکند و با استفاده از نقاله، زاویه‌ی مطلوب را تعیین می‌کرد و بر اساس آن، به بیمار وضعیت ۰، ۱۵ و یا ۳۰ درجه می‌داد. شخص دیگری که از نحوه و هدف مطالعه اطلاعی نداشت، تغییرات همودینامیک بیمار را تعیین و در پرسش‌نامه ثبت می‌کرد.

همه‌ی اطلاعات مربوط به فشار خون سیستول، دیاستول و متوسط شریانی و نبض بیماران در لحظه‌ی ورود به اتاق عمل، بلافاصله پس از انجام بیهوشی اسپینال و سپس هر سه دقیقه تا ۱۰ دقیقه‌ی اول پس از انجام بیهوشی اسپینال و سپس هر ۵ دقیقه تا دقیقه‌ی ۳۰ و سپس در دقایق ۴۵ و ۶۰ تعیین و در پرسش‌نامه ثبت گردید. فاصله‌ی زمانی بین انجام بیهوشی اسپینال تا بروز افت فشار خون بر اساس معیار تعریف شده در هر بیمار تعیین و ثبت شد. همچنین، موارد بروز تهوع و استفراغ در پرسش‌نامه، از طریق مصاحبه و شرح حال بیمار، مشخص و ثبت گردید.

مدت زمان کم‌فشاری خون، کل میزان نیاز به آفدرین و موارد مصرف آتروپین در هر بیمار تعیین و در پرسش‌نامه ثبت شد.

در پایان، داده‌های به دست آمده وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, SPSS Inc., Chicago, IL) شد و با آزمون‌های آماری One-way ANOVA،  $\chi^2$  و Repeated measures ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### یافته‌ها

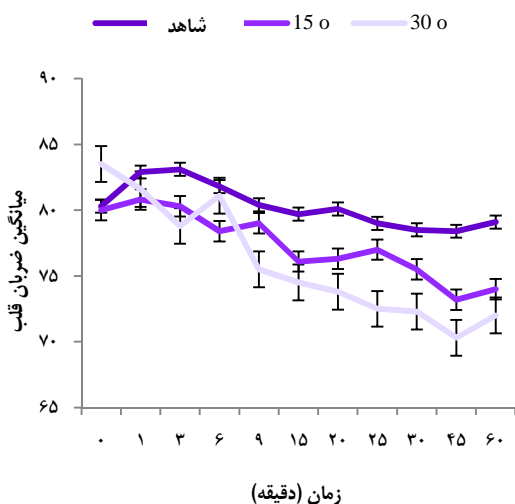
در این مطالعه، ۱۰۵ بیمار کاندیدای اعمال جراحی پایین شکم تحت بی‌حسی نخاعی در سه گروه ۳۵ نفره مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند که در جدول ۱، توزیع متغیرهای دموگرافیک آن‌ها آمده است. بر حسب آزمون One-way ANOVA، میانگین سن و وزن بیماران سه گروه اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین، بر حسب آزمون  $\chi^2$  توزیع جنسی سه گروه نیز از نظر آماری متفاوت نبود ( $P = 0/64$ )، اما سطح بلوک

جدول ۱. توزیع متغیرهای دموگرافیک در سه گروه بیماران با زاویه‌های متفاوت پا

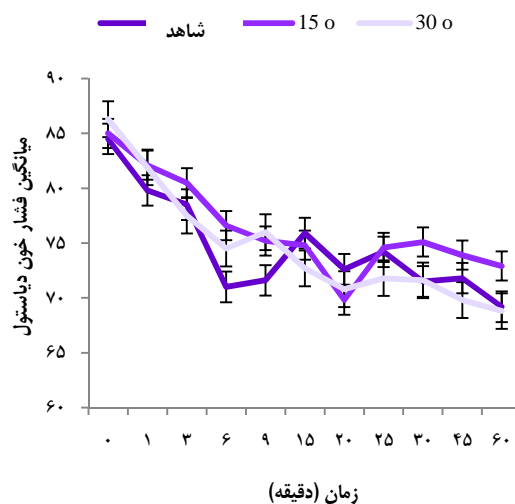
متغیر	زاویه‌ی پای بیمار	صفر درجه	۱۵ درجه	۳۰ درجه	مقدار P
سن (سال)		۶۵/۸ ± ۱۳/۰	۶۱/۲ ± ۱۴/۲	۶۳/۱ ± ۱۲/۵	۰/۳۲
(میانگین ± انحراف معیار)					
وزن (کیلوگرم)		۶۷/۳ ± ۸/۶	۶۵/۴ ± ۷/۱	۶۴/۶ ± ۶/۴	۰/۳۱
(میانگین ± انحراف معیار)					
جنس	مرد	۳۰ (۸۵/۷)	۲۹ (۸۲/۹)	۲۷ (۷۷/۱)	۰/۶۴
تعداد (درصد)	زن	۵ (۱۴/۳)	۶ (۱۷/۱)	۸ (۲۲/۹)	
سطح بلوک حسی	T <sub>10</sub>	۳۵ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	< ۰/۰۰۱
تعداد (درصد)	T <sub>8</sub>	۰ (۰)	۳۵ (۱۰۰)	۰ (۰)	
	T <sub>6</sub>	۰ (۰)	۰ (۰)	۳۵ (۱۰۰)	

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار فشار خون سیستول از قبل از القای بی‌حسی تا دقیقه ۶۰

زمان (دقیقه)	گروه	زاویه‌ی پا صفر صاف	زاویه‌ی پا ۱۵ درجه	زاویه‌ی پا ۳۰ درجه	مقدار P
دقیقه‌ی ۰		۱۳۶/۲ ± ۲۴/۴	۱۳۱/۵ ± ۳۲/۰	۱۴۰/۴ ± ۲۵/۳	۰/۲۴
دقیقه‌ی ۱		۱۳۵/۴ ± ۲۴/۶	۱۳۵/۷ ± ۱۹/۸	۱۲۹/۱ ± ۱۵/۴	۰/۳۴
دقیقه‌ی ۳		۱۳۲/۲ ± ۲۴/۱	۱۲۸/۰ ± ۱۹/۴	۱۲۹/۴ ± ۲۰/۹	۰/۱۸
دقیقه‌ی ۶		۱۲۰/۳ ± ۱۹/۶	۱۲۶/۱ ± ۲۲/۴	۱۲۱/۰ ± ۱۶/۲	۰/۴۰
دقیقه‌ی ۹		۱۱۶/۳ ± ۱۵/۰	۱۲۴/۴ ± ۲۲/۷	۱۲۰/۰ ± ۲۵/۹	۰/۷۲
دقیقه‌ی ۱۵		۱۲۲/۸ ± ۱۱/۹	۱۱۹/۴ ± ۱۹/۹	۱۱۸/۸ ± ۱۴/۱	۰/۴۶
دقیقه‌ی ۲۰		۱۰۴/۹ ± ۴۳/۵	۱۱۹/۴ ± ۱۶/۹	۱۱۷/۴ ± ۲۱/۷	۰/۳۳
دقیقه‌ی ۲۵		۱۲۱/۵ ± ۱۵/۴	۱۲۰/۲ ± ۱۶/۷	۱۱۲/۶ ± ۱۱/۴	۰/۶۰
دقیقه‌ی ۳۰		۱۲۱/۰ ± ۱۹/۱	۱۱۹/۵ ± ۱۸/۱	۱۱۶/۸ ± ۲۲/۶	۰/۷۱
دقیقه‌ی ۴۵		۱۱۷/۶ ± ۱۷/۳	۱۱۲/۹ ± ۲۸/۳	۱۱۵/۴ ± ۱۴/۳	۰/۵۰
دقیقه‌ی ۶۰		۱۰۹/۸ ± ۱۹/۳	۱۱۸/۶ ± ۱۸/۵	۱۱۴/۴ ± ۱۶/۸	۰/۶۴
		< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	P**
			۰/۹۲		P***



شکل ۳. میانگین ضربان قلب از قبل از عمل تا دقیقه ۶۰ در سه گروه



شکل ۲. میانگین فشار خون دیاستول از قبل از عمل تا دقیقه ۶۰ در سه گروه

در طی مدت بررسی، به ۲ نفر از بیماران، اتروپین تزریق شد که یک نفر آن‌ها از گروه زاویه‌ی ۱۵ درجه و ۱ نفر از گروه زاویه‌ی ۳۰ درجه بود و طبق آزمون Fisher's exact، اختلاف معنی‌داری بین سه گروه مشاهده نشد ( $P = ۰/۹۹$ ). قابل ذکر است در حین مطالعه، هیچ بیماری دچار افت فشار خون، برادی کاردی، تهوع و استفراغ نشد و نیز هیچ بیماری نیاز به دریافت افرین پیدا نکرد.

در جدول ۴، میانگین و انحراف معیار ضربان قلب از قبل از القای بی‌حسی تا دقیقه ۶۰ در سه گروه آمده است. ضربان قلب نیز در طی مدت عمل در هر سه گروه به طور مشابه کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری بین سه گروه مشاهده نشد. همچنین، ضربان قلب در هیچ یک از زمان‌های بررسی شده در بین سه گروه متفاوت نبود. آزمون Repeated measures ANOVA نیز نشان داد که روند تغییرات ضربان قلب در سه گروه، اختلاف معنی‌داری ندارد (شکل ۳).



جدول ۳. میانگین و انحراف معیار فشار خون دیاستول از قبل از القای بی‌حسی تا دقیقه ۶۰

زمان (دقیقه)	گروه	زاویه‌ی پا صفر درجه	زاویه‌ی پا ۱۵ درجه	زاویه‌ی پا ۳۰ درجه	مقدار P*
دقیقه ۰		۸۷/۵ ± ۱۱/۹	۸۴/۰ ± ۱۱/۴	۸۶/۹ ± ۱۲/۹	۰/۴۲
دقیقه ۱		۸۶/۶ ± ۱۲/۲	۸۱/۸ ± ۱۱/۸	۸۵/۱ ± ۱۴/۰	۰/۲۹
دقیقه ۳		۸۲/۴ ± ۱۲	۸۰ ± ۱۴/۸	۸۲/۵ ± ۱۱/۸	۰/۶۶
دقیقه ۶		۷۸/۳ ± ۱۱/۱	۷۷ ± ۱۵/۸	۸۰/۶ ± ۱۲/۶	۰/۵۳
دقیقه ۹		۷۷/۳ ± ۱۰/۵	۷۶/۴ ± ۱۴/۴	۷۹/۷ ± ۱۲/۱	۰/۵۳
دقیقه ۱۵		۷۷/۹ ± ۸/۶	۷۵/۴ ± ۱۰/۳	۷۷/۳ ± ۱۰/۸	۰/۳۱
دقیقه ۲۰		۷۵/۴ ± ۱۰/۱	۷۱/۷ ± ۱۵/۴	۷۶/۷ ± ۱۵/۰	۰/۷۱
دقیقه ۲۵		۷۶/۸ ± ۸/۸	۷۴/۵ ± ۱۱/۶	۷۵/۳ ± ۹/۱	۰/۸۹
دقیقه ۳۰		۷۴/۰ ± ۹/۷	۷۵/۶ ± ۱۲/۳	۷۵/۳ ± ۱۱/۷	۰/۹۱
دقیقه ۴۵		۷۲/۳ ± ۸/۷	۷۳/۹ ± ۱۲/۸	۷۳/۳ ± ۸/۷	۰/۵۶
دقیقه ۶۰		۶۹/۸ ± ۹	۷۲/۹ ± ۱۳/۰	۶۸/۸ ± ۹/۱	۰/۶۴
		< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	P**
			۰/۹۲		P***

\* اختلاف بین سه گروه در هر مقطع زمانی بر حسب آزمون One-way ANOVA: \*\* مقایسه‌ی تغییرات درون هر گروه بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA: \*\*\* مقایسه‌ی تغییرات بین سه گروه بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA

جدول ۴. میانگین و انحراف معیار ضربان قلب از قبل از القای بی‌حسی تا دقیقه ۶۰

زمان (دقیقه)	گروه	زاویه‌ی پا صفر درجه	زاویه‌ی پا ۱۵ درجه	زاویه‌ی پا ۳۰ درجه	مقدار P*
دقیقه ۰		۸۰/۳ ± ۱۲/۱	۸۰/۰ ± ۱۴/۵	۸۳/۵ ± ۱۰/۲	۰/۸۱
دقیقه ۱		۸۲/۹ ± ۱۲/۷	۸۰/۸ ± ۱۴/۹	۸۱/۶ ± ۱۵/۱	۰/۵۳
دقیقه ۳		۸۳/۰ ± ۱۰/۵	۸۰/۳ ± ۱۳/۱	۷۸/۸ ± ۱۳/۷	۰/۶۹
دقیقه ۶		۸۱/۸ ± ۱۱/۲	۷۸/۴ ± ۱۴/۴	۸۱/۱ ± ۱۵/۲	۰/۹۷
دقیقه ۹		۸۰/۴ ± ۹/۳	۷۹/۰ ± ۱۴/۶	۷۵/۵ ± ۱۵/۰	۰/۶۲
دقیقه ۱۵		۷۹/۷ ± ۱۰/۱	۷۶/۱ ± ۱۴/۶	۷۴/۵ ± ۱۴/۹	۰/۶۹
دقیقه ۲۰		۸۰/۱ ± ۱۱/۹	۷۶/۳ ± ۱۳/۳	۷۳/۸ ± ۱۳/۵	۰/۶۴
دقیقه ۲۵		۷۹/۰ ± ۱۱/۲	۷۷/۰ ± ۱۲/۸	۷۲/۵ ± ۱۴/۰	۰/۲۵
دقیقه ۳۰		۷۸/۵ ± ۱۰/۴	۷۲/۳ ± ۱۴/۴	۷۲/۳ ± ۱۴/۴	۰/۳۵
دقیقه ۴۵		۷۸/۴ ± ۱۲/۳	۷۳/۲ ± ۱۳/۴	۷۰/۳ ± ۱۳/۸	۰/۴۹
دقیقه ۶۰		۷۹/۱ ± ۱۱/۲	۷۴/۰ ± ۱۲/۵	۷۲/۰ ± ۱۳/۴	۰/۳۲
		< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	P**
			۰/۶۳		P***

\* اختلاف بین سه گروه در هر مقطع زمانی بر حسب آزمون One-way ANOVA: \*\* مقایسه‌ی تغییرات درون هر گروه بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA: \*\*\* مقایسه‌ی تغییرات بین سه گروه بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA

## بحث

هنوز توضیح کافی در مورد مکانیسم افت فشار خون ناشی از بیهوشی اسپینال وجود ندارد، اما معمول‌ترین علتی که برای آن پذیرفته شده است، بلوک اتونوم فیبرهای عصبی وازوکانستریکتوری است که به وسیله‌ی تزریق ایترانکال پروکائین صورت می‌گیرد. نتیجه‌ی این

بلوک بر فشار خون، بستگی به وسعت بلوک فیبرهای وازوکانستریکتور اتونومیک و درجه‌ی تون انقباضی عروق قبل از بلوک دارد (۶).

جهت پیش‌گیری از افت فشار خون ناشی از بیهوشی اسپینال، از روش‌های مختلفی مانند مایع‌درمانی و وضعیت Lateral tilt و

می‌یابد و در ترکیب با بالا بردن پا و یا کمپرس کردن پا، می‌تواند به حفظ برون‌ده قلب و فشار خون کمک کند، اما در مواردی که بازگشت وریدی افزایش نیافته است، افزایش ضربان قلب به تنهایی برای جلوگیری از افت فشار خون کافی نیست. عدم افزایش قابل ملاحظه‌ی ضربان قلب، در بیمارانی که پای آن‌ها بالا گرفته شده، در شروع افت فشار خون را می‌توان با اختلاف سطح بلوک اتونوم در بین گروه‌ها توجیه کرد (۱۴).

هدف کلی از انجام این مطالعه، مقایسه‌ی تأثیر درجات مختلف بالا بردن اندام تحتانی بر پیش‌گیری از افت فشار خون ناشی از بیهوشی اسپینال در اعمال جراحی پایین شکم بود. افت فشار خون و برادی‌کاردی، یکی از مشکلات شایع در بی‌حسی اسپینال محسوب می‌گردد و به منظور حفظ فشار خون و ضربان قلب مطلوب در طی مدت عمل، تاکنون مطالعات مختلفی انجام و روش‌های گوناگونی برای آن ارائه شده است که استفاده از روش پیش‌گیری دارویی، یکی از شایع‌ترین این روش‌ها می‌باشد. از سوی دیگر، تزریق دارو با اثر پیش‌گیرنده، در تمامی بیمارانی که اندیکاسیون ندارد و به ویژه در بیمارانی سالمند و بیمارانی مبتلا به بیماری‌های زمینه‌ای مانند دیابت، این قبیل داروها کمتر اندیکاسیون مصرف دارند؛ از این رو، تلاش در جهت پیش‌گیری از عوارض ناشی از بیهوشی اسپینال از طرق غیر دارویی همچنان ادامه دارد.

در پایان چنین نتیجه‌گیری می‌شود که بالا بردن پا بر روی فشار خون و ضربان قلب بیمارانی و همچنین در جلوگیری از افت فشار خون تأثیر معنی‌داری نداشت و بیمارانی هر سه گروه، به طور متوازی به درجات خفیفی از افت فشار خون دچار شدند؛ اما این کاهش، در حد اختلاف بین سه گروه نبود. یکی از مهم‌ترین دلایلی که منجر به عدم تأثیر معنی‌دار بالا بردن پا در مطالعه‌ی حاضر شد، می‌تواند کم بودن تعداد نمونه، کم بودن مدت زمان پی‌گیری، نوع عمل جراحی و درجه‌ی بالا بردن پا باشد. از این رو، پیشنهاد می‌گردد که مطالعه‌ی مشابهی با حجم نمونه‌ی بالاتر و در سطح وسیع‌تری به انجام برسد و درجات بیشتری از بالا بردن پا مورد بررسی قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر، برگرفته از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای عمومی آقای محسن منصوری است که با شماره‌ی ۳۹۳۱۵۵ در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی به تصویب رسید و با حمایت‌های این معاونت انجام شد. بنا بر این، نویسندگان، از حمایت‌های بی‌دریغ ایشان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

داروهای وازوپرسور استفاده می‌شود. مایع‌درمانی و Lateral tilt به طور کامل در پیش‌گیری از کم‌فشاری خون مؤثر نمی‌باشد و به طور معمول، در نسبت بالایی از بیمارانی که درمان دارویی غیر ضروری است، تجویز وازوپرسورها به عنوان پیش‌گیری صورت می‌گیرد. مشکل اصلی همودینامیک در این بیماران، بازگشت وریدی ناکافی می‌باشد (۷).

یک مطالعه‌ی اولیه مطرح کرده است که ۲۰-۱۶ درصد از حجم کل خون بدن در طول بیهوشی اسپینال در پاها وجود دارد (۸). تعداد زیادی از محققین اثرات PLE بر روی همودینامیک را با تکنیک‌های مختلف بررسی کرده‌اند. Wong و همکاران، با استفاده از یک بیو‌امپدینس سینه‌ای، نشان دادند که یک افزایش کم اما قابل ملاحظه‌ای در شاخص قلبی (Cardiac index) بعد از PLE در بیماران هوشیار تحت اعمال جراحی انتخابی اتفاق می‌افتد (مطابق با ASA ۲ و ۳) (۹).

Rutlen و همکاران، با استفاده از سایتوگرافی هسته‌ای، گزارش کردند که بعد از بلند کردن پاها، ۱۵۰ سی‌سی یا مقدار کمتری خون به فضاهای داخل عروقی منتقل می‌شود (۱۰). در حین بیهوشی اسپینال، ظرفیت تورم‌پذیری عروق ساق پا، ۱۷ درصد افزایش می‌یابد (۱۱).

بر این اساس، انتظار می‌رود که بالا آوردن پا شدت و شیوع کم‌فشاری خون را کاهش دهد. مزیت بالا بردن پا یا کمپرس کردن پا در حین تزریق اسپینال، افزایش بازگشت وریدی در زمان ضرورت و سریع‌تر از انفوزیون وریدی است (۱۲). Prystowsky و Assali گزارش کرده‌اند که بالا آوردن پاها به تنهایی در جلوگیری از افت فشار خون در عمل سزارین مؤثر بوده است (۱۳).

Bhagwanjee و همکاران بیان کردند که بعید است بالا بردن پا به تنهایی، به طور قابل ملاحظه‌ای سود بخش باشد (۷). مطالعه‌ی دیگری نیز نشان داده است که بالا بردن پاها همراه با پیچاندن و فشردن پاها یا پیچاندن و فشردن پاها به تنهایی، می‌تواند شیوع کم‌فشاری خون را کاهش دهد (۱۴).

همچنین، در Cochrane review انجام شده، کمپرس کردن پاها در جلوگیری از افت فشار خون در مقایسه با گروه شاهد بسیار مؤثر بوده است؛ در حالی که مقایسه‌ی بین سایر روش‌های فیزیکی از قبیل وضعیت، مؤثر بودن آن را نشان نداده است، اما این مطالعات اغلب کوچک و بنا بر این برای تشخیص اثرات واقعی این روش‌ها ضعیف بوده‌اند (۲). همچنین، اغلب مطالعات صورت گرفته در زمینه‌ی تأثیر بالا بردن پا در جلوگیری از افت فشار خون ناشی از بیهوشی اسپینال در عمل جراحی سزارین صورت گرفته است.

آشکار است که به دنبال بیهوشی اسپینال، ضربان قلب افزایش

## References

1. Bjornestad E, Rosseland LA. Anaesthesia for caesarean section. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2010; 130(7): 748-51. [In Turkish].
2. Cyna AM, Andrew M, Emmett RS, Middleton P, Simmons SW. Techniques for preventing hypotension during spinal anaesthesia for caesarean section. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; (4): CD002251.
3. Mercier FJ, Bonnet MP, De la Dorie A, Moufouki M, Banu F, Hanaf A, et al. Spinal anaesthesia for caesarean section: fluid loading, vasopressors and hypotension. *Ann Fr Anesth Reanim* 2007; 26(7-8): 688-93. [In French].
4. Bertolissi M, da Broi U, Soldano F, Bassi F. Influence of passive leg elevation on the right ventricular function in anaesthetized coronary patients. *Crit Care* 2003; 7(2): 164-70.
5. Lee SC, Hong MG, Lee KW. The effect of lower extremities elevation on anesthetic level and vital signs during spinal anesthesia. *Korean J Anesthesiol* 1995; 28(3): 440-6.
6. Neumann C, Foster AD, Rovenstine EA. The importance of compensating vasoconstriction in unanesthetized areas in the maintenance of blood pressure during spinal anesthesia. *J Clin Invest* 1945; 24(3): 345-51.
7. Bhagwanjee S, Rocke DA, Rout CC, Koovarjee RV, Brijball R. Prevention of hypotension following spinal anaesthesia for elective caesarean section by wrapping of the legs. *Br J Anaesth* 1990; 65(6): 819-22.
8. Asmussen E, Christensen EH, Nielsen M. The regulation of circulation in different postures. *Surgery* 1940; 8(4): 604-16.
9. Wong DH, Tremper KK, Zaccari J, Hajduczek J, Konchigeri HN, Hufstedler SM. Acute cardiovascular response to passive leg raising. *Crit Care Med* 1988; 16(2): 123-5.
10. Rutlen DL, Wackers FJ, Zaret BL. Radionuclide assessment of peripheral intravascular capacity: A technique to measure intravascular volume changes in the capacitance circulation in man. *Circulation* 1981; 64(1): 146-52.
11. Shimosato S, Etsten BE. The role of the venous system in cardiocirculatory dynamics during spinal and epidural anesthesia in man. *Anesthesiology* 1969; 30(6): 619-28.
12. Rout CC, Akoojee SS, Rocke DA, Gouws E. Rapid administration of crystalloid preload does not decrease the incidence of hypotension after spinal anaesthesia for elective caesarean section. *Br J Anaesth* 1992; 68(4): 394-7.
13. Assali NS, Prystowsky H. Studies on autonomic blockade. II. Observations on the nature of blood pressure fall with high selective spinal anesthesia in pregnant women. *J Clin Invest* 1950; 29(10): 1367-75.
14. Rout CC, Rocke DA, Gouws E. Leg elevation and wrapping in the prevention of hypotension following spinal anaesthesia for elective caesarean section. *Anaesthesia* 1993; 48(4): 304-8.

## Comparing the Effect of different Degrees Elevation of Lower Limb in the Prevention of Hypotension Following Spinal Anesthesia for lower Abdominal Operation

Mitra Jabalameli<sup>1</sup>, Mohsen Mansouri<sup>2</sup>, Effatossadat Hoseini<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Today, gynecologic and orthopedic surgeries under spinal anesthesia are widely used in the world but hypotension during anesthesia is abundantly accrued. Hence, several methods are prescribed to cure and prevent hypotension. Physical method such as leg wrapping or elevation of lower limb during surgery is one of the used methods, but its effects are suspected yet. Thus, the aim of this study was comparing the effects of different degrees of elevation of lower limb to prevent hypotension in patients under lower abdomen surgery with spinal anesthesia.

**Methods:** In a clinical trial study, 105 candidates for lower abdomen surgery were selected and randomly divided in three groups. In the first group, patients' legs were not elevated but in the second and third groups, they were elevated for 15 and 30 degrees, respectively and incidence of hypotension was compared between the three groups. The SPSS software was used for data analysis.

**Findings:** According to the results of this study, systolic and diastolic blood pressure and heart rate in the above three groups was decreased to the same extent. And according to one way ANOVA, no statistically difference between the three groups was seen. The mean of systolic blood pressure before anesthesia were  $136.2 \pm 24.4$ ,  $131.5 \pm 32.0$  and  $140.4 \pm 25.3$ , respectively in the three groups ( $P = 0.24$ ). Also the mean of systolic blood pressure in 60<sup>th</sup> min were  $109.8 \pm 19.3$ ,  $118.6 \pm 18.5$  and  $114.4 \pm 16.8$ , respectively in the three groups ( $P = 0.64$ ).

**Conclusion:** According to results of our study, elevation of patients' legs during surgery under spinal anesthesia does not prevent hypotension but according to other studies, this action may help to prevent hypotension during spinal anesthesia; thus, other studies are need to approve this method.

**Keywords:** Leg elevation, Spinal anesthesia, Lower abdomensurgery

**Citation:** Jabalameli M, Mansouri M, Hoseini E. Comparing the Effect of different Degrees Elevation of Lower Limb in the Prevention of Hypotension Following Spinal Anesthesia for lower Abdominal Operation. J Isfahan Med Sch 2016; 34(375): 251-8

1- Professor, Department of Anesthesiology, Anesthesiology and critical Care Research Center, Isfahan, Iran

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

3- Head Nurs of Anesthesia, Alzahra Hospital, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Mohsen Mansouri, Email: mohsen.med87@yahoo.com

## کاربردهای بالینی فن آوری کپسولاسیون سلولی در انتقال دارو و سلول

رضا قویمی<sup>۱</sup>، وجیهه اکبری<sup>۲</sup>

## مقاله مروری

## چکیده

**مقدمه:** کپسوله کردن سلول، روشی است که به منظور محبوس کردن سلول‌ها در داخل پلیمرهای نیمه‌تراوا استفاده می‌شود. به دلیل نیمه‌تراوا بودن این پلیمرها، اکسیژن و مواد مغذی مورد نیاز سلول‌ها می‌تواند عبور کنند، اما سلول‌های سیستم ایمنی که می‌توانند سبب رد سلول‌های پیوند شده شوند، قادر به عبور نمی‌باشند. از زمان ابداع مفهوم کپسولاسیون سلولی، بسیاری از دانشمندان از این فن‌آوری بیوتکنولوژی به عنوان یک جایگزین امیدوار کننده برای محافظت از سلول‌های پیوندی در مقابل پاسخ ایمنی میزبان یاد می‌کنند. انگیزه‌ی اصلی ایجاد این روش، غلبه بر مشکلات موجود در رد پیوند است و در نتیجه، نیاز به استفاده‌ی طولانی مدت از داروهای سرکوب کننده‌ی سیستم ایمنی پس از پیوند عضو کاهش می‌یابد. در این مقاله، با جستجو در مقالات منتشر شده سعی شد مرور گزارایی بر تکنولوژی کپسولاسیون سلولی و کاربردهای آن در زمینه‌ی انتقال دارو و سلول جهت کاربردهای درمانی انجام شود.

**روش‌ها:** جستجوی سایت Pubmed به منظور یافتن مقالات مرتبط انجام شد. تنها از مقالات انگلیسی استفاده شد.

**یافته‌ها:** جنبه‌های مختلف تکنیک کپسولاسیون سلول در زمینه‌ی درمان بیماری‌ها، پیش‌زمینه‌ی تاریخی، یافته‌های پژوهشی و پارامترهای مهم دخیل در این روش، به صورت اجمالی بررسی شده است.

**نتیجه‌گیری:** ویژگی‌های فن‌آوری کپسوله کردن سلول‌ها این اجازه را می‌دهد که بتوان از این فن‌آوری زیستی برای دارورسانی یا تحویل سلول استفاده کرد. در فن‌آوری کپسولاسیون سلولی، سلول‌های کپسوله شده، به عنوان کارخانه‌های سنتز کننده‌ی مولکول‌های درمانی مورد نظر عمل می‌کنند. با نگاه به آینده، انتظار می‌رود سلول‌درمانی با استفاده از کپسوله کردن سلول‌ها در داخل پلیمرهای نیمه‌تراوا، به طور قابل توجهی پیشرفت نماید. پتانسیل ذاتی و اثربخشی این تکنیک در زمینه‌ی محبوس‌سازی سلول‌ها با رونق گرفتن مهندسی بافت و پزشکی احیا کننده، به طور چشم‌گیری افزایش خواهد یافت.

**واژگان کلیدی:** کپسولاسیون سلول، دارورسانی، انتقال سلول، پزشکی بازساختی

**ارجاع:** قویمی رضا، اکبری وجیهه. کاربردهای بالینی فن‌آوری کپسولاسیون سلولی در انتقال دارو و سلول. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۷۵): ۲۶۹-۲۵۹

## مقدمه

را که برای متابولیسم سلولی ضروری‌اند و همچنین، انتشار مواد زاید و پروتئین‌های درمانی را به سمت بیرون فراهم می‌کند.

پیشینه‌ی فن‌آوری کپسولاسیون سلولی به سال ۱۹۳۳ می‌رسد. زمانی که Bisceglie (۳) اثر فرایند کپسوله کردن را بر روی بقای سلول‌های توموری در حفره‌ی شکمی خوک مورد مطالعه قرار دادند. Bisceglie نشان داد که با قرار دادن سلول‌ها در غشایی که عملکرد حفاظتی در برابر سیستم ایمنی دارد، می‌توان بقای طولانی مدت سلول‌ها را تضمین کرد.

در سال ۱۹۵۰، Algire و همکاران مفهوم محفظه‌ی انتشار (Diffusion chamber) را برای پیوند (Graft) یا کاشت سلول‌های

امروزه، استفاده از سامانه‌های نوین دارورسانی در ابعاد میکرون و نانو، برای انتقال هدفمند و آزادسازی کنترل شده‌ی عوامل درمانی بسیار مورد توجه است (۱-۲). چگونگی انتقال سلول‌ها، نسل جدید عوامل درمانگر، به عنوان یک چالش در سلول‌درمانی در نظر گرفته می‌شود. سامانه‌های مختلفی برای انتقال سلول پیشنهاد شده است که در این میان، کپسوله کردن سلول‌ها با موفقیت بیشتری همراه بوده است. فن‌آوری کپسولاسیون سلولی (Cell encapsulation) شامل محبوس کردن سلول‌ها درون یک غشای پلیمری نیمه‌تراوا است که اجازه‌ی انتشار دو طرفه‌ی مولکول‌هایی مانند اکسیژن، مواد مغذی و عوامل رشد

۱- دانشجوی دکتری، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: وجیهه اکبری

Email: v\_akbari@pharm.mui.ac.ir

می‌باشد که مقادیر بالایی از مواد مغذی، برای ساخت یک گرایان انتشار کافی برای نفوذ مواد مغذی مورد نیاز خواهد بود. مانع دیگر، این است که برای تضمین فراهمی مواد مغذی مورد نیاز سلول‌ها، تراکم سلولی در داخل ماکروکپسول‌ها باید بسیار کم باشد. در اغلب موارد، تراکم سلول نباید از ۱۰-۵ درصد کسر حجمی (Volume fraction) تجاوز کند. بنا بر این، اگر تعداد زیادی از سلول‌ها برای درمان بیمار مورد نیاز باشند، باید دستگاه‌های متعدد و یا بزرگ کاشته شود (۱۴).

کپسول‌هایی در محدوده‌ی ۱/۵-۰/۳ میلی‌متر به عنوان میکروکپسول شناخته می‌شوند. اندازه‌ی به نسبت کوچک آن‌ها (نسبت بزرگ سطح به حجم)، از منظر حمل و نقل توده‌ی سلولی یک عامل سودمند است و این اجازه را می‌دهد تا در تماس نزدیک به جریان خون کاشته شده و لانه‌گزینی نمایند که می‌تواند قابلیت بقای طولانی مدت سلول‌های محصور در داخل میکروکپسول‌ها را افزایش دهد.

علاوه بر این، میکروکپسول‌ها به طور معمول نسبت به ماکروکپسول‌ها با دوام‌ترند و مقاومت مکانیکی در آن‌ها بالا می‌باشد. شکل کروی میکروکپسول‌ها، از دیدگاه انتقال جرم، نوعی مزیت محسوب می‌شود؛ چرا که یک نسبت مطلوب سطح به حجم برای انتشار پروتئین و مواد مغذی فراهم می‌کند. در نتیجه، با بهبود انتقال اکسیژن و افزایش نفوذپذیری مواد مغذی، وضعیت زنده ماندن سلول‌ها بهبود می‌یابد. میکروکپسول‌ها، یک محیط مناسب برای رشد، تکثیر و زنده ماندن سلول‌ها فراهم می‌کنند. می‌توان با اضافه کردن پلی‌اتیلن گلیکول (PEG یا Polyethylene glycol) به سطح میکروکپسول‌ها، یک حالت ژله‌ای و هیدروفوبی ایجاد کرد که می‌تواند سبب کاهش پاسخ التهابی، جلوگیری از تشکیل فیبروز و افزایش کارایی میکروکپسول‌ها شود (۱۵).

### عوامل کلیدی که باید در فن‌آوری کپسولاسیون سلولی مد نظر قرار گیرند

تعدادی از ویژگی‌های مهم و ضروری که باید در هنگام ساخت کپسول‌ها لحاظ شود، در این قسمت آمده است.

#### عملکرد و کارایی سلول‌های کپسوله شده

پیش نیاز فن‌آوری کپسولاسیون سلولی این است که کپسول و یا محتوای به کار رفته در ساختار آن، نباید با قابلیت زنده ماندن سلول (Cellular viability) تداخلی داشته باشد. بنا بر این، روش‌ها و پلیمرهای به کار رفته در این فن‌آوری باید فاقد سمیت سلولی باشند. همچنین، یک سیستم انکپسولاسیون مناسب باید دارای عملکرد بهینه و کارآمدی نیز باشد. سلول‌هایی که با استفاده از این روش برای درمان بیماری‌ها پیشنهاد می‌شوند، باید این ویژگی را داشته باشند که

درمانی مورد استفاده قرار دادند. Algire و همکاران همچنین، اولین افرادی بودند که بر روی نقش و اهمیت استفاده از پلیمرهای زیست‌سازگار با خواص قابل پیش‌بینی و ثابت به عنوان یک پیش‌نیاز برای کاربردهای درمانی تأکید داشت (۴). همچنین، کپسول‌های نیمه‌تراوا در سال ۱۹۶۴ توسط Chang به منظور کپسوله کردن آنزیم‌ها استفاده شده است (۵). او اصطلاح سلول‌های مصنوعی (Artificial cells) را برای توصیف کپسولاسیون سلولی به کار گرفت. این فن‌آوری، با موفقیت در سال‌های ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰ به مرحله‌ی عملیاتی در آمد که طی آن، سلول‌های جزایر لانگرهانس با هدف کنترل قند خون در مدل‌های حیوانی کوچک مبتلا به دیابت کپسوله شدند (۶). از آن زمان به بعد، بسیاری از گروه‌های مطالعاتی، از این فن‌آوری برای درمان انواع مختلف بیماری‌ها استفاده کردند. تعدادی از بیماری‌هایی که با استفاده از کپسولاسیون سلولی قابل درمان هستند، شامل هموفیلی (۷)، آنمی (۸)، نقایص کبدی (۹)، نارسایی‌های کلیوی (۱۰)، اختلالات هیپوفیز (۱۱)، نارسایی سیستم عصبی مرکزی (۱۲) و دیابت (۶) می‌باشند. در این مقاله، جنبه‌های مختلف تکنیک کپسولاسیون سلول در زمینه‌ی درمان بیماری‌ها، یافته‌های تحقیقاتی و پارامترهای مهم دخیل در این روش به صورت اجمالی آمده است.

### ماکروکپسولاسیون و میکروکپسولاسیون

فن‌آوری کپسوله کردن سلول‌های زنده را می‌توان در دو حیطه‌ی کلی شامل ماکروکپسول (Macrocapsule) و میکروکپسول (Microcapsule) قرار داد. در ماکروکپسول‌ها، سلول‌های زنده در محفظه‌ی انتشار به نسبت بزرگ با خواص نیمه‌تراوا قرار می‌گیرند. محفظه‌های انتشار در اشکال ورق‌های مسطح و رشته‌های توخالی و دیسکی شکل تولید می‌شوند. ماکروکپسول‌ها، به صورت ساختارهای داخل و یا خارج عروقی وجود دارند. در ساختارهای داخل عروقی، سلول‌ها به صورت شانت (Shunt) با گردش خون ارتباط دارند. استفاده از این ساختارهایی که در مجاورت نزدیک با جریان خون هستند، سبب تبادل سریع مولکول‌های درمانی و مواد مغذی و اکسیژن می‌گردد (۱۳). نقطه‌ی ضعف اصلی این سیستم، این است که ممکن است با استفاده‌ی طولانی مدت از این ساختارها، ترومبوز رخ دهد. به همین دلیل، استفاده از عوامل ضد انعقاد در حین درمان با ماکروکپسول‌ها ضروری است.

گزارش‌های متعددی در مورد استفاده‌ی موفق از ماکروکپسول‌ها در حیوانات آزمایشگاهی و انسان ارائه شده است. با این وجود، اشکالاتی نیز در این سیستم وجود دارد. ماکروکپسول‌ها در مقایسه با میکروکپسول‌ها، دارای نسبت کم سطح به حجم هستند؛ این بدان معنا

گرفته است. این واکنش، از طریق قرار گرفتن در معرض Ultraviolet (UV) و یا نور مرئی آغاز می‌شود و می‌تواند به سرعت و حتی در حضور سلول‌ها و مولکول‌های فعال از نظر بیولوژیکی انجام شود. خواص مکانیکی هیدروژل‌هایی را که به واسطه‌ی نور کراس لینک شده‌اند، می‌توان به راحتی و با تغییر در میزان نور، کنترل کرد (۱۹).

#### پوشش دهی

پوشش مورد استفاده برای تشکیل غشای نیمه‌تراوا، نیازمند توجهات ویژه است؛ چرا که احتمال می‌رود مهم‌ترین عامل محدود کننده در طراحی ساختارهای زیستی مناسب برای کاشت در داخل بدن باشد. تعداد زیادی از روش‌ها برای فرایند پوشش‌دهی کپسول‌ها ارائه شده‌اند. برخی از نمونه‌ها عبارت از پلی (متیلن گوانیدین) (۲۰)، کیتوزان (۲۱)، الیگو کیتوزان (۲۲) و مواد زیستی پلیمریزه شده با نور (۲۳) هستند. امروزه، پلی‌کاتیون‌هایی مانند پلی-ال-لیزین (PLL) یا Poly-L-Lysine و پلی-ال-اورنیتین (PLO) یا Poly-L-Ornithine، با این که در مورد آن‌ها شواهد متعددی از عدم استحکام مکانیکی، سازگاری زیستی کم و فقدان ثبات دراز مدت در داخل بدن وجود دارد، هنوز هم به طور گسترده در کارآزمایی‌های بالینی استفاده می‌شوند (۲۴).

#### عملکرد بیولوژیک

امروزه، دیدگاهی که در گذشته نسبت به مواد زیستی وجود داشت و آن‌ها را تنها به عنوان داربست بی‌اثری در نظر می‌گرفت که سلول‌ها در آن محبوس می‌شوند، پشت سر گذاشته شده است. سؤال مهم‌تر، این است که چگونه این مواد باید با سلول تعامل و برهم‌کنش داشته باشند. به عبارت دیگر، بتوانند همچون ماتریکس خارج سلولی (Extracellular matrix) عمل کنند. بنا بر این، مواد زیستی باید قادر به جلوگیری از فرایند مرگ سلولی (Anoikis) در سلول‌های وابسته به چسبندگی، همچنین بهبود عملکرد سلول و کنترل بهتر رفتار سلولی و تسهیل انتشار ترکیبات درمانی باشند. چسبندگی سلولی، اتصالات متقاطع اضافی در طول شبکه‌ی پلیمری را فراهم می‌کند. در نتیجه، سبب تقویت پایداری مکانیکی کپسول می‌شود (۲۵).

ماتریس‌های دارای عملکرد بیولوژیک (Biofunctional) ممکن است با استفاده از مولکول‌های طبیعی مشتق شده از Extracellular matrix (ECM) از قبیل کلاژن (۲۶)، ژلاتین و یا فیبرین (۲۷)، یا با استفاده از ترکیبی از این مولکول‌ها به اضافه‌ی آلزینات (۲۸) تولید شوند. از سوی دیگر، با استفاده از مهندسی پروتئین، می‌توان نواحی عملکردی مولکول‌های ECM بزرگ را جدا کرد و آن‌ها را به سویستراهای خنثی متصل نمود. بنا بر این، ممکن است اپی‌توپ‌هایی ایجاد شود که با استفاده از پپتیدهای سنتتیک

متابولیت‌های مورد نیاز در آن‌ها دقیقه به دقیقه تنظیم شود. به عنوان مثال، در حال حاضر بیماران مبتلا به دیابت با دزهای متعدد روزانه از انسولین آگروژن درمان می‌شوند. در این روش درمانی، به دلیل وجود تغییرات روزانه در مقدار قند خون، فرد بیمار دوره‌های پیاپی از هایپر و هیپوگلیسمی را تجربه خواهد کرد که می‌تواند در بلند مدت سبب بروز عوارض مرتبط با دیابت، عدم هوشیاری به دلیل کاهش یافتن قند خون و یا حتی نقص در اندام‌هایی مانند کلیه‌ها شود. فقط می‌توان زمانی از این مشکلات جلوگیری کرد که یک منبع قابل اطمینان از انسولین وجود داشته باشد که بتواند دقیقه به دقیقه سطح قند خون را تنظیم کند. کپسول‌های حاوی سلول‌های جزایر لانگرهانس، برای این منظور پیشنهاد شده‌اند. با این حال، پیاده کردن سیستمی مشابه شرایط داخل بدن برای سلول‌های کپسوله شده بسیار مشکل است (۱۶).

#### نوع مواد زیستی یا پلیمر استفاده شده

انتخاب یک پلیمر مناسب، اولین مرحله‌ی کلیدی در طراحی ساختارهای محبوس‌سازی سلول‌ها است. موفقیت کاشت کپسول‌ها در بدن، بستگی به هر دو ویژگی پایداری و زیست‌سازگاری ساختارهای کپسوله شده دارد و این خواص، به طور مستقیم با کیفیت پلیمرهای به کار رفته در کپسول‌ها مرتبط است. در طی چند دهه‌ی گذشته، مطالعات نشان داده‌اند که پلیمرهای واجد شرایط برای کپسوله کردن سلول‌ها، باید دارای خاصیت زیست‌سازگاری باشند. زیست‌سازگاری، اغلب به عنوان توانایی یک ماده‌ی زیستی در جهت تعامل مناسب با پاسخ‌های میزبان در نظر گرفته می‌شود. ویژگی دیگری که یک سیستم کپسوله کردن سلول باید دارا باشد، قابلیت تحمل زیستی است که به عنوان توانایی یک ماده برای اقامت در داخل بدن برای مدت زمان طولانی و القای کمترین واکنش‌های التهابی تعریف می‌شود (۱۷).

#### عوامل کراس لینکر

استحکام مکانیکی کپسول‌های آلزیناتی، اغلب توسط ارتباط یونی بین آلزینات و یون دو ظرفیتی (به طور معمول کلسیم) کنترل می‌شود. با این حال، یکی از اشکالات کلسیم آلزینات، کاهش پایداری دراز مدت آن در مایعات فیزیولوژیک و یا زمانی است که در بدن کاشته می‌شوند؛ چرا که این هیدروژل، به دلیل نفوذ پذیری بالا، ناپایداری و در نهایت، تخریب شدن ماتریس، دچار تورم اسمزی می‌شود. علاوه بر این، یون‌های کلسیم منتشر شده از کپسول‌ها، ممکن است سبب القای هموستاز و تجمع گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها شود که ممکن است برای بسیاری از اهداف در نظر گرفته شده، غیر قابل قبول باشد (۱۸).

این محدودیت‌ها منجر به افزایش علاقه نسبت به ماتریس‌های آلزیناتی شده است که به صورت کووالانسی کراس لینک شده‌اند. روش القای پلیمریزاسیون به واسطه‌ی نور نیز بسیار مورد توجه قرار

توانند در چسبندگی سلول مداخله کنند. شاید شناخته شده‌ترین این پپتیدها، آرژنین-گلیسین اسپارتیک اسید (Arginylglycylaspartic acid) یا RGD مشتق شده از فیبرونکتین و تیروزین-ایزولوسین-گلیسین-سیرین-آرژنینین (Tyrosine-Isoleucine-Glycine-Serine-Arginine) یا YIGSR مشتق شده از لامینین باشند (۲۹).

### منبع سلول

از زمان پایه‌گذاری تکنیک میکرو انکپسولاسیون سلول تا به امروز، بیشترین منابع سلولی استفاده شده، اغلب شامل سلول‌های جزایر لوزالمعده بوده‌اند که انسولین تولید می‌کنند. علاوه بر آن، انواع متعددی از رده‌های سلولی اصلاح شده‌ی ژنتیکی برای طیف گسترده‌ای از مطالعات استفاده شده‌اند (۳۰). رده‌های سلولی (Cell lines) که هنوز هم در بسیاری از روش‌های کپسولاسیون سلول حضور دارند، مقاوم هستند و دستکاری و مهندسی آن‌ها آسان است، اما ممکن است رفتار نامنظم و غیر قابل پیش‌بینی را نشان دهند (۳۱).

در مقابل، سلول‌های اولیه (Primary cell) اگر چه بسیار حساس‌اند، اما استفاده از آن‌ها برای فرایند کپسوله کردن، ایمن و مناسب‌تر است. این سلول‌ها طول عمر محدودتری دارند و انجام فرایندهای مهندسی ژنتیک در آن‌ها مشکل‌تر است. یکی دیگر از عوامل مهم عدم دستیابی به کاربرد بالینی، ایمنی‌زایی ناشی از استفاده از سلول‌های غیر اتولوگ می‌باشد. حتی اگر این سلول‌ها از دسترسی سیستم ایمنی خارج شوند، کموکاین‌های ترشح شده از سلول‌های غیر اتولوگ، در نهایت باعث القای پاسخ ایمنی و شروع شدن فرایندهای التهابی می‌شوند که در نهایت، به شکست پیوند منجر خواهد شد (۳۲). برای غلبه بر این مشکل، سلول‌های سرتولی (Sertoli) که به دلیل ترشح عوامل تعدیل‌کننده‌ی سیستم ایمنی شناخته می‌شوند، با انواع دیگر سلول‌ها، به صورت مشترک با هم کپسوله می‌شوند تا این که پاسخ ایمنی تخفیف پیدا کند (۳۳).

بنا بر این، با توجه به فنوتیپ مقاوم آن‌ها در برابر ایمنی، سلول‌های سرتولی هنوز هم به تنهایی در تعدادی از پیوندهای سلول‌های Xenolog (Xenotransplantations) جهت تولید عوامل درمانی (۳۴) و یا به منظور تعدیل واکنش‌های سیستم ایمنی (۳۵) استفاده می‌شوند. علاوه بر منابع سلولی که ذکر شد، سلول‌های بنیادی نیز به علت خواص متعدد و ویژگی مصونیت ایمنی (Immune-privileged) در روش‌های کپسوله کردن سلول کاربرد دارند. سلول‌های بنیادی جنینی، سلول‌های پرتوانی (Pluripotent) هستند که قادرند به طور نامحدود تکثیر شوند و به هر یک از انواع سلول‌های جنینی و بالغ تمایز یابند (۳۶).

امروزه، سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) یا

### ایمنی زیستی و پایش

اگر چه سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دلیل مزیت‌هایی که دارند، به عنوان سلول انتخابی برای اهداف کپسوله‌سازی سلول استفاده می‌شوند، اما پتانسیل تومورزایی در مورد انواع مختلف سلول‌های بنیادی باید همیشه مد نظر قرار گیرد (۳۹).

در هنگام استفاده از سلول‌های به دست آمده از منابع مختلف، مانند رده‌های سلولی، چنین خطری برجسته‌تر می‌شود. گسترش ذرات در خارج از منطقه‌ی کپسول کاشته شده و عدم امکان بازیابی کل قسمت‌های ایمپلنت پیوند شده، از مشکلات دیگر میکرو انکپسولاسیون سلول‌ها می‌باشد (۴۰). بنا بر این، تأیید بالینی درمان از طریق کپسوله کردن سلول، در پیاده‌سازی سیستم‌های ایمنی زیستی و پایش نهفته است تا بر روی عملکرد ایمپلنت، کنترل شدیدی اعمال شود. برای کاربردهای بالینی، تکنیک‌های تصویربرداری غیر تهاجمی وجود دارند که ابزارهای مناسبی برای پی‌گیری وضعیت و موقعیت کپسول‌های پیوند زده شده می‌باشند (۴۱).

بنا بر این، امکان تعیین محل دقیق داربست حاوی سلول‌های درمانی در داخل بدن با استفاده از روش‌هایی همچون MRI (Magnetic resonance imaging)، CT/X-ray، (Computed tomography) و یا سونوگرافی (۴۲-۴۳) وجود دارد. عوامل ایجادکننده‌ی کنتراست در داخل کپسول اضافه می‌شوند که با این روش، عمل برچسب زدن برای شناسایی کپسول‌ها پس از کاشت در بدن انجام می‌شود. همچنین، باید توجه شود که استفاده از این تکنیک، نمی‌تواند زنده بودن و عملکرد سلول محبوس شده را ارزیابی کند. برای این منظور، قرار دادن ژن‌های گزارشگر (Reporter gene) لازم است که بر اساس ویژگی‌های فلورسانس یا بیولومینسانس عمل می‌کنند و برای انجام تصویربرداری کمی و غیر تهاجمی، مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴۴، ۴۰).

علاوه بر پایش، بعد از این که هدف درمانی تحقق یافت و یا در صورت وجود اثرات زیان‌بار و نامطلوب ناشی از کپسول‌ها، امکان



پذیرش بیماران، دانشمندان به دنبال ارایه‌ی راه‌کارهای جدید مثل انسولین خوراکی، استنشاقی و پیوند سلول‌های پانکراس بودند (۴۹). پیوند جزایر لانگرهانس، به عنوان یک روش مقطعی بی‌خطر و مؤثر برای درمان بیماران مبتلا به دیابت وابسته به انسولین پیشنهاد شده است. در سال ۱۹۸۰ Lim و Sun سلول‌های Xenograft جزایر لانگرهانس را به موش‌های مبتلا به دیابت پیوند زدند و این سلول‌های جزایر لانگر هانس کپسوله شده، توانستند برای چند هفته حالت دیابتیک در موش‌ها را اصلاح کنند (۶).

پس از آن، پیشرفت‌های قابل توجهی در جهت درک نیازهای بیولوژیک لازم برای پیوند موفقیت‌آمیز کپسول در مدل‌های حیوانی، از جمله جوندگان و پستانداران غیر پرمات به دست آمد. ساختارهای مصنوعی (کپسول‌ها) که برای محبوس‌سازی سلول‌های جزایر استفاده می‌شوند، باید طوری طراحی شوند که بعد از استفاده از آن‌ها نیاز به داروهای سرکوبگر سیستم ایمنی کاهش یابد. استفاده از کپسول، مشکل کمبود اهداکننده‌ی عضو را به طور کامل می‌تواند برطرف نماید؛ چرا که با این فن‌آوری، می‌توان از سلول‌های جزایر لانگرهانس حیوانات و یا سلول‌های اصلاح ژنتیک شده، که قابلیت تولید انسولین را دارند، استفاده کرد (۵۰).

#### نقایص استخوان و غضروف

مشکلات استخوانی ناشی از تروما و یا پس از برداشتن تومور، به طور معمول شایع هستند. بافت استخوان توانایی ترمیم بالایی دارد، اما زمانی که اندازه‌ی ضایعه بیش از حد بزرگ باشد، در اکثر موارد تلاش‌ها برای ترمیم آسیب ایجاد شده بی‌ثمر خواهد بود. در حال حاضر، بافتی که برای درمان استفاده می‌شود، سلول‌های بافت اتولوگ است که به طور معمول از ستیغ لگن خاصره‌ی بیمار برداشته می‌شود. اگر چه روش Autograft اصلی‌ترین روش برای درمان این آسیب‌ها می‌باشد، اما محدودیت‌هایی نظیر درد بیمار، هزینه‌ی بالا و کمبود منابع را نیز در بر دارد. یک روش جایگزین که مورد بررسی قرار گرفته است، امکان استفاده از روش Allograft (با توجه به منابع فراوان آن) است. با این حال، اشکالاتی از جمله عدم اطمینان از سازگاری و احتمال انتقال بیماری، استفاده از آن را محدود کرده است (۵۱).

برای غلبه بر این مشکلات، محققان درمان‌های جایگزینی را پیشنهاد می‌کنند که در آن، از MSCs استفاده می‌شود. به تازگی، برخی از مطالعات نشان داده‌اند که میکروکپسول‌ها، می‌توانند یک آشیانه‌ی مناسبی را برای رشد و تمایز سلول‌های بنیادی ایجاد کنند. در این رابطه، Endres و همکاران (۵۲) تأیید کرده‌اند که MSCs در شرایط آزمایشگاهی زمانی که در داخل میکروکپسول‌هایی از جنس کلسیم آلزینات محصور بودند، توانستند به رده‌ی غضروف‌ساز (Chondrogenic lineage) تمایز یابند. کلسیم آلزینات، می‌تواند

غیر فعال کردن ایمپلنت، باید به عنوان یک جزء ضروری در کاربردهای بالینی مد نظر قرار گیرد. پیشرفت‌های بزرگی از طریق اضافه کردن ژن‌های خودکشی (Suicide gene) در ژنوم سلول‌های محصور در کپسول‌ها انجام شده است که با اضافه کردن و تجویز یک داروی خارجی، با القای آپوپتوز می‌توانند این مشکل را برطرف نمایند. دستیابی به چنین سیستم‌هایی به احتمال زیاد هر گونه خطر بالقوه در زمینه‌ی شکل‌گیری سرطان ناشی از سلول‌های محصور شده در کپسول را مرتفع می‌کند. این امر، ایمنی زیستی در مورد استفاده از این تکنیک بیوتکنولوژی در درمان انسان را تضمین می‌کند (۴۵).

#### روش‌های تجویز

چنانچه گفته شد، برخی از چالش‌های اصلی که در استفاده از این روش وجود دارند، شامل گسترش ذرات در بدن خارج از منطقه‌ی کاشته شده و مشکل بازیابی تمام ایمپلنت است. علاوه بر این، ناحیه‌ای که سلول‌های کپسوله شده در داخل بدن کاشته می‌شود، یک محیط به شدت هایپوکسیک و کم اکسیژن و حاوی سایتوکاین‌های التهابی است که به طور چشم‌گیری ممکن است بقای کپسول‌های کاشته شده را محدود کند. بنا بر این، شیوه‌نامه‌هایی به منظور بهینه‌سازی و بهبود مدت زمان بقای ساختارهای کاشته شده باید وجود داشته باشد تا التهابی که پس از کاشت کپسول حاوی سلول‌ها در ناحیه‌ی مورد نظر ایجاد می‌شود، کاهش یابد. علاوه بر این، روش‌های اجرایی در نهایت می‌توانند چگونگی بازیابی و حذف میکروکپسول‌ها از بدن را تحت تأثیر قرار دهند. به منظور غلبه بر برخی از این موانع، برخی از گروه‌ها، بسته‌بندی کپسول در داخل یک کیسه‌ی توری از جنس پلیمری دارای خواص زیست‌سازگاری و قابل بازیافت را پیشنهاد می‌دهند (۴۶، ۳۸). جایگزین‌های دیگری که در این زمینه وجود دارد، شامل استفاده از داربست‌های تزریقی مانند سمیت کلسیم فسفات (CPC یا Calcium phosphate cement) (برای بازسازی استخوان) (۴۷) و یا داربست‌های مبتنی بر هیدروژل (برای تحویل دارو) می‌باشند (۴۸).

#### کاربردهای درمانی تکنیک کپسوله کردن سلول

در این بخش از مقاله، مثال‌هایی از درمان با فن‌آوری کپسوله کردن سلول‌ها بر روی بیماری‌های مختلف ارایه شده است.

#### دیابت

دیابت، یک اختلال متابولیک است که با افزایش قند خون ناشی از نقص در ترشح و یا عملکرد انسولین مشخص می‌شود. در حال حاضر، سمت و سوی اکثر درمان‌های دیابت نوع ۱ به سمت روش‌هایی پیش می‌رود که بتوانند مقادیر انسولین را در بدن در حد طبیعی تنظیم کنند. با توجه به عوارض انسولین تزریقی و عدم

آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن سرطانی و یا مولکول درگیر در پاتوژنز سرطان انجام می‌شود (۵۸-۵۹). یکی از روش‌های جذاب برای درمان سرطان‌های متاستاتیک، افزایش ایمنی‌زایی سلول‌های توموری است که نتیجه‌ی آن مرگ سلول‌های توموری با واسطه‌ی ایمنی سیستمیک است. در شرایط بالینی، محصولات مختلفی همچون سایتوکاین‌ها، مورد سنجش قرار گرفته‌اند که با استفاده از آن‌ها، ایمنی‌زایی افزایش یافته و قابلیت ایجاد تومور کمتر شده است. به عنوان مثال،

Interleukin-12 (IL-12) و Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) محصور شده در پلی‌اسید لاکتیک به صورت داخل توموری در مدل فیروسارکوم تجربی (رده‌ی سلولی MCA205) کپسوله شدند و در نتیجه، القای پاسخ سیستمیک ضد تومور توانست سلول‌های توموری را نابود نماید (۶۰).

با این حال، نقطه‌ی ضعف عمده‌ی این ساختارهای پلیمری زیست‌تخریب‌پذیر، در این واقعیت نهفته است که برای حفظ روند انتقال مداوم، کپسول‌های متعدد مورد نیاز خواهد بود. برای غلبه بر این مشکل، استفاده از میکروکپسول‌های حاوی سلول‌های ترشح‌کننده‌ی سایتوکاین پیشنهاد شده است.

یکی دیگر از کانون‌های مورد علاقه در درمان سرطان، مهار رگ‌زایی است به این ترتیب، می‌توان رشد تومور را متوقف کرد. در سال ۲۰۰۱ دو گروه مستقل، سرطان گلیوما را با کپسوله‌سازی رده‌های سلولی Xenogen اصلاح ژنتیک شده که قادر به ترشح اندوستاتین بودند، درمان کردند. اندوستاتین، یکی از قوی‌ترین داروهای ضد رگ‌زایی است که می‌تواند باعث مرگ سلول‌های توموری شود. هر دو گروه گزارش دادند که تحویل موضعی اندوستاتین توانسته است به طور قابل توجهی سبب مهار رشد تومور گردد. با این وجود، تحویل موضعی دارو، ممکن است در درمان بسیاری از تومورها به ویژه در موارد وجود متاستاز، عملی نباشد (۶۱). در این رابطه، Teng و همکاران (۶۲)، سلول‌های تخمدان هامستر چینی (CHO یا Chinese hamster ovary) مهندسی ژنتیک شده را که قادر به ترشح اندوستاتین بودند، در میکروکپسول APA کپسوله کردند و سپس در داخل حفره‌ی صفاقی موش‌های دچار ملانوم قرار دادند. نتایج نشان داد که سلول‌های کپسوله شده و قرار گرفته در داخل صفاق، به صورت قابل توجهی می‌توانند مانع از رشد ملانوما در موش شوند.

تحویل هم‌زمان سایتوکاین‌ها و داروهای ضد رگ‌زایی نیز برای درمان سرطان مورد بررسی قرار گرفته است. Cirone و همکاران (۶۳) یک فیوژن پروتئین متشکل از IL-2 (ایمونوتراپی) و آنژیوستاتین (Angiostatin) (درمان ضد رگ‌زایی) را به صورت هم‌زمان کپسوله کردند تا اثر هم‌افزایی آن‌ها در سرکوب تومور را مطالعه کنند. دو روش مختلف استفاده شد: کپسول‌هایی ساخته شد که مخلوطی از هر

سلول‌ها را در برابر نیروهای برشی که در طول فرایند تزریق ایجاد می‌شود، محافظت نماید. علاوه بر این، می‌توان با هدف بیان پروتئین مورد نظر، تغییرات ژنتیک ویژه‌ای را در MSCs اعمال کرد. مطالعات قبلی، نشان داده‌اند که پروتئین مورفوژنتیک استخوان (BMPs یا Bone morphogenetic proteins)، به ویژه BMP-2 در القای مورفوژنز کامل استخوان مؤثر هستند (۵۳).

### بیماری‌های مغز و اعصاب

اختلالات عصبی انسان مانند بیماری پارکینسون، بیماری هانتینگتون، اسکروز آمیوتروفیک جانبی (Amyotrophic lateral sclerosis یا ALS)، سکنه‌ی مغزی، آلزایمر و آسیب نخاعی به دلیل از دست رفتن سلول‌های عصبی و سلول‌های گلیال در مغز یا طناب نخاعی ایجاد می‌شوند. در سال‌های اخیر، پیوند سلول به مغز و یا نخاع از طریق فن‌آوری کپسولاسیون سلولی به عنوان یک درمان قطعی بالقوه برای طیف گسترده‌ای از بیماری‌های مغز و اعصاب انسان مطرح شده است (۵۴-۵۵).

یک منبع از سلول‌های قابل پیوند، شبکه‌ی کورویید (CPE یا Choroid plexus epithelium) است. Choroid plexus (CP)ها، علاوه بر نقشی که در تولید مایع نخاعی و حفظ غلظت مایع خارج سلولی در سراسر مغز دارند، قادرند عوامل نوروتروفیک درون‌زا را که پتانسیل درمانی بالایی دارند، ترشح نمایند. در حال حاضر، استفاده از فن‌آوری کپسولاسیون به منظور کپسوله کردن CPها در جهت درمان اختلالات عصبی تحت مطالعه قرار دارد (۵۶). یکی دیگر از کاربردهای استفاده از سلول‌های مهندسی شده، شامل محبوس‌سازی سلول‌های فیبروبلاست تولیدکننده‌ی عامل رشد برای تحویل محصولات درمانی در موارد آسیب نخاعی است. این آسیب، در نتیجه‌ی قطع ارتباط در آکسون صعودی و نزولی است که به از دست دادن عملکردهای حسی-حرکتی منجر می‌شود. راهبردهایی به منظور فراهم آوردن مولکول‌های تروفیک و ضد آپوپتوزی برای تغییر محیط آسیب دیده‌ی سیستم عصبی مرکزی اتخاذ شده است. در این رابطه، مطالعات مختلف به فیبروبلاست‌های اصلاح شده‌ی ژنتیک اشاره کرده‌اند که برای تولید عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF یا Brain-derived neurotrophic factor) در موش صحرایی نژاد Sprague-Dawley دچار قطع نخاع، استفاده شده است که طی آن، بازسازی و ترمیم نوروها صورت گرفته و عملکرد حرکتی بهبود یافته است (۵۷).

### سرطان

امروزه، درمان سرطان با استفاده از سیستم ایمنی بسیار مورد توجه است. ایمنی‌زایی به صورت فعال با استفاده از سلول‌های سرطانی و یا آنتی‌ژن‌های سرطانی و یا غیر فعال به وسیله‌ی آنتی‌بادی و قطعات

دچار انفارکتوس در موش صحرایی انتقال دادند. یافته‌ی اصلی که از این مطالعه به دست آمد، این بود که VEGF ترشح شده از سلول‌های کپسوله شده‌ی CHO، توانست سبب تقویت و افزایش رگ‌زایی و همچنین بهبود عملکرد قلب بعد از انفارکتوس شود. بنا بر این، نتایج نشان می‌دهد که ژن‌درمانی مبتنی بر سلول‌های کپسوله شده، ممکن است یک راهبرد جایگزین برای القای رگ‌زایی در بیماران دچار ایسکمی قلبی باشد.

#### کاربرد در حیطه‌ی پزشکی بازساختی و مهندسی بافت

پزشکی بازساختی (Regenerative medicine) رشته‌ای است که بر جایگزینی بافت‌ها و اندام از دست رفته تمرکز دارد. تحویل سلول‌های پستانداران از طریق کپسوله کردن، می‌تواند برای بازسازی اندام‌هایی مانند کبد، لوزالمعده، قلب و کلیه به کار رود. متأسفانه، در داخل بدن انتقال سلول‌های پستانداران با چالش‌های زیادی روبه‌رو می‌باشد. این مشکلات عبارت از رد سلول‌ها توسط سیستم ایمنی میزبان، از دست رفتن بقای سلول به دلیل تجمع و اختلال در تغذیه، اختلال در عملکرد سلولی به دلیل بیان ناکافی ژن و کمبود سلول اهدا کنندگان انسانی می‌باشند. با توجه به کمبود اهدا کننده‌ی انسانی، پژوهش‌های حاضر به منظور تأمین سلول‌های لازم برای پیوند، به سمت استفاده از سلول‌های پستانداران غیر انسان سوق پیدا کرده است. با توجه به این نکات، تکنیک کپسوله کردن سلول‌ها، می‌تواند یک روش جایگزین در جهت حل و فصل این موانع باشد (۷۰-۶۹).

#### چشم‌انداز آینده

همان‌طور که در این مقاله شرح داده شد، کپسوله‌سازی یک فن‌آوری پزشکی با پتانسیل درمانی قابل توجهی است که می‌تواند برای درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها استفاده شود. فرایند کپسوله‌سازی را می‌توان برای محبوس‌سازی انواع سلول‌ها از جمله سلول‌های میکروبی، سلول‌های پستانداران، داروها و موارد مشابه دیگر مورد استفاده قرار داد. کاربرد دیگر کپسوله‌سازی که به نظر می‌رسد امیدوار کننده باشد، کاربرد این فن‌آوری در توسعه‌ی مدل‌های بیماری، مانند مدل تومورها است که برای توسعه‌ی فرمولاسیون‌های دارویی می‌تواند مفید باشد (۷۲-۷۱).

دو نوع سلول را داشت و یا مخلوطی از کپسول‌های مختلف تهیه شد که هر یک حاوی یک نوع سلول واحد بود. بهترین نتایج در مورد سلول‌های ترشح کننده‌ی IL-2 و سلول‌های ترشح کننده‌ی آنژیوستاتین که در میکروکپسول محصور و در داخل تومور کاشته شده بودند، به دست آمد. بنا بر این، استفاده از راهبرد ترکیبی به همراه میکروکپسول‌های حاوی سلول‌های مهندسی شده جهت آزادسازی مولکول‌های مختلف با خواص ضد توموری، فرصت‌های جدیدی را در درمان سرطان مهیا کرده است (۶۴).

#### بیماری‌های قلبی

نارسایی قلبی، یکی از علل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است. علت اصلی نارسایی قلبی، ایسکمی میوکارد است که نتیجه‌ی آن، اختلال عملکرد و مرگ کاردیومیوسیت‌ها است. چند راه برای تحویل سلول به داخل بافت آسیب دیده‌ی قلب مورد بررسی قرار گرفته است، اما چالش عمده در چنین مواردی، امکان بقای سلول‌ها می‌باشد. به دلیل این که بافت قلب به طور مداوم در حال تپش است، سلول‌هایی که تزریق می‌شود، به دلیل فشاری که از طرف عضله‌ی قلب اعمال می‌شود، از داخل میوکارد خارج می‌شوند؛ به طوری که از کل سلول‌های تزریق شده، تنها ۱۵-۵ درصد در داخل میوکارد باقی می‌مانند. سلول‌های بنیادی کپسوله شده به دلیل ترشح عوامل رشد پاراکرین، ممکن است اثرات مثبتی بر روی بازسازی میوکارد داشته باشند. نتایج نشان می‌دهد که سلول‌های بنیادی کپسوله شده، در مقایسه با سلول‌های بنیادی غیر کپسوله شده، قابلیت بسیار بیشتری برای بازسازی قلب دارند (۶۵).

یکی دیگر از درمان‌های جالب مبتنی بر سلول در بازسازی بافت قلب، استفاده از عوامل رگ‌زایی است. شواهد نشان داده است که عوامل آنژیوژنیک، می‌توانند سبب تحریک رشد رگ‌های خونی جدید (نو رگ‌زایی) و ترمیم و یا بازگشت حالت پمپاژ در میوکارد آسیب دیده بر اثر ایسکمی شوند (۶۷-۶۶).

بنا بر این، استفاده از عوامل رگ‌زایی در مناطق دچار انفارکتوس، می‌تواند یک روش درمانی جایگزین باشد. با استفاده از این روش، Zhang و همکاران (۶۸) سلول CHO را که با دستکاری‌های ژنتیک قادر به بیان Vascular endothelial growth factor (VEGF) بود، در داخل پلیمرهای APA کپسوله کردند و سپس آن‌ها را به میوکارد

## References

1. Akbari V, Abedi D, Pardakhty A, Sadeghi-Aliabadi H. Ciprofloxacin nano-niosomes for targeting intracellular infections: An in vitro evaluation. J Nanopart Res 2013; 15: 1556.
2. Akbari V, Abedi D, Pardakhty A, Sadeghi-Aliabadi H. Release studies on ciprofloxacin loaded non-ionic surfactant vesicles. Avicenna J Med Biotechnol 2015; 7(2): 69-75.
3. Bisceglie V. Uber die antineoplastische Immunitat. J Cancer Res Clin Oncol 1934; 40(1): 122-40.

4. Algire GH, Weaver JM, Prehn RT. Growth of cells in vivo in diffusion chambers. I. Survival of homografts in immunized mice. *J Natl Cancer Inst* 1954; 15(3): 493-507.
5. Chang TM. Semipermeable microcapsules. *Science* 1964; 146(3643): 524-5.
6. Lim F, Sun AM. Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas. *Science* 1980; 210(4472): 908-10.
7. Liu HW, Ofosu FA, Chang PL. Expression of human factor IX by microencapsulated recombinant fibroblasts. *Hum Gene Ther* 1993; 4(3): 291-301.
8. Koo J, Chang TM. Secretion of erythropoietin from microencapsulated rat kidney cells: preliminary results. *Int J Artif Organs* 1993; 16(7): 557-60.
9. Uludag H, Sefton MV. Microencapsulated human hepatoma (HepG2) cells: In vitro growth and protein release. *J Biomed Mater Res* 1993; 27(10): 1213-24.
10. Cieslinski DA, David HH. Tissue engineering of a bioartificial kidney. *Biotechnol Bioeng* 1994; 43(7): 678-81.
11. Colton CK. Implantable biohybrid artificial organs. *Cell Transplant* 1995; 4(4): 415-36.
12. Aebischer P, Goddard M, Signore AP, Timpson RL. Functional recovery in hemiparkinsonian primates transplanted with polymer-encapsulated PC12 cells. *Exp Neurol* 1994; 126(2): 151-8.
13. de Vos P, Marchetti P. Encapsulation of pancreatic islets for transplantation in diabetes: the untouchable islets. *Trends Mol Med* 2002; 8(8): 363-6.
14. Haisch A, Groger A, Radke C, Ebmeyer J, Sudhoff H, Grasnack G, et al. Macroencapsulation of human cartilage implants: pilot study with polyelectrolyte complex membrane encapsulation. *Biomaterials* 2000; 21(15): 1561-6.
15. Sun ZJ, Lv GJ, Li SY, Yu WT, Wang W, Xie YB, et al. Differential role of microenvironment in microencapsulation for improved cell tolerance to stress. *Appl Microbiol Biotechnol* 2007; 75(6): 1419-27.
16. Fiorina P, Folli F, Maffi P, Placidi C, Venturini M, Finzi G, et al. Islet transplantation improves vascular diabetic complications in patients with diabetes who underwent kidney transplantation: a comparison between kidney-pancreas and kidney-alone transplantation. *Transplantation* 2003; 75(8): 1296-301.
17. Hilborn J, Bjursten LM. A new and evolving paradigm for biocompatibility. *J Tissue Eng Regen Med* 2007; 1(2): 110-9.
18. Morch YA, Donati I, Strand BL, Skjak-Braek G. Effect of Ca<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, and Sr<sup>2+</sup> on alginate microbeads. *Biomacromolecules* 2006; 7(5): 1471-80.
19. Jeon O, Bouhadir KH, Mansour JM, Alsberg E. Photocrosslinked alginate hydrogels with tunable biodegradation rates and mechanical properties. *Biomaterials* 2009; 30(14): 2724-34.
20. Orive G, Hernandez RM, Gascon AR, Igartua M, Pedraz JL. Encapsulated cell technology: from research to market. *Trends Biotechnol* 2002; 20(9): 382-7.
21. Haque T, Chen H, Ouyang W, Martoni C, Lawuyi B, Urbanska AM, et al. In vitro study of alginate-chitosan microcapsules: An alternative to liver cell transplants for the treatment of liver failure. *Biotechnol Lett* 2005; 27(5): 317-22.
22. de Castro M, Orive G, Hernandez RM, Bartkowiak A, Brylak W, Pedraz JL. Biocompatibility and in vivo evaluation of oligochitosans as cationic modifiers of alginate/Ca microcapsules. *J Biomed Mater Res A* 2009; 91(4): 1119-30.
23. Baroli B. Photopolymerization of biomaterials: issues and potentialities in drug delivery, tissue engineering, and cell encapsulation applications. *J Chem Technol Biotechnol* 2006; 81(4): 491-9.
24. Paul A, Cantor A, Shum-Tim D, Prakash S. Superior cell delivery features of genipin crosslinked polymeric microcapsules: Preparation, in vitro characterization and pro-angiogenic applications using human adipose stem cells. *Mol Biotechnol* 2011; 48(2): 116-27.
25. Orive G, de Castro M, Kong HJ, Hernandez RM, Ponce S, Mooney DJ, et al. Bioactive cell-hydrogel microcapsules for cell-based drug delivery. *J Control Release* 2009; 135(3): 203-10.
26. Chan BP, Hui TY, Yeung CW, Li J, Mo I, Chan GC. Self-assembled collagen-human mesenchymal stem cell microspheres for regenerative medicine. *Biomaterials* 2007; 28(31): 4652-66.
27. Ahmed TA, Dare EV, Hincke M. Fibrin: A versatile scaffolding for tissue engineering applications. *Tissue Eng Part B Rev* 2008; 14(2): 199-215.
28. Liu J, Zhou H, Weir MD, Xu HH, Chen Q, Trotman CA. Fast-degradable microbeads encapsulating human umbilical cord stem cells in alginate for muscle tissue engineering. *Tissue Eng Part A* 2012; 18(21-22): 2303-14.
29. Bellis SL. Advantages of RGD peptides for directing cell association with biomaterials. *Biomaterials* 2011; 32(18): 4205-10.
30. Salmons B, Brandtner EM, Hettrich K, Wagenknecht W, Volkert B, Fischer S, et al. Encapsulated cells to focus the metabolic activation of anticancer drugs. *Curr Opin Mol Ther* 2010; 12(4): 450-60.
31. Piller PE, Tomanin R, Salvalaio M, Friso A, Hortalano G, Marin O, et al. Encapsulated engineered myoblasts can cure Hurler syndrome: preclinical experiments in the mouse model. *Gene Ther* 2012; 19(4): 355-64.
32. de Groot M, Schuurs TA, van Schilfgaarde R. Causes of limited survival of microencapsulated pancreatic islet grafts. *J Surg Res* 2004; 121(1): 141-50.
33. Fallarino F, Luca G, Calvitti M, Mancuso F, Nastrozzi C, Fioretti MC, et al. Therapy of experimental type 1 diabetes by isolated Sertoli cell xenografts alone. *J Exp Med* 2009; 206(11): 2511-26.
34. Luca G, Calvitti M, Mancuso F, Falabella G, Arato I, Bellucci C, et al. Reversal of experimental Laron Syndrome by xenotransplantation of microencapsulated porcine Sertoli cells. *J Control Release* 2013; 165(1): 75-81.
35. Bistoni G, Calvitti M, Mancuso F, Arato I, Falabella G, Cucchia R, et al. Prolongation of skin allograft survival in rats by the transplantation of microencapsulated xenogeneic neonatal porcine Sertoli cells. *Biomaterials* 2012; 33(21): 5333-40.

36. Wilson JL, McDevitt TC. Stem cell microencapsulation for phenotypic control, bioprocessing, and transplantation. *Biotechnol Bioeng* 2013; 110(3): 667-82.
37. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science* 1997; 276(5309): 71-4.
38. Heile A, Brinker T. Clinical translation of stem cell therapy in traumatic brain injury: the potential of encapsulated mesenchymal cell biodelivery of glucagon-like peptide-1. *Dialogues Clin Neurosci* 2011; 13(3): 279-86.
39. Kauer TM, Figueiredo JL, Hingtgen S, Shah K. Encapsulated therapeutic stem cells implanted in the tumor resection cavity induce cell death in gliomas. *Nat Neurosci* 2012; 15(2): 197-204.
40. Santos E, Pedraz JL, Hernandez RM, Orive G. Therapeutic cell encapsulation: ten steps towards clinical translation. *J Control Release* 2013; 170(1): 1-14.
41. Massoud TF, Singh A, Gambhir SS. Noninvasive molecular neuroimaging using reporter genes: part I, principles revisited. *AJNR Am J Neuroradiol* 2008; 29(2): 229-34.
42. DiCamillo PA, Weiss CR. MR-guided delivery and tracking of cellular therapeutics. *Interventional magnetic resonance imaging*. New York, NY: Springer; 2012. p. 423-43.
43. Barnett BP, Arepally A, Karmarkar PV, Qian D, Gilson WD, Walczak P, et al. Magnetic resonance-guided, real-time targeted delivery and imaging of magnetocapsules immunoprotecting pancreatic islet cells. *Nat Med* 2007; 13(8): 986-91.
44. Catena R, Santos E, Orive G, Hernandez RM, Pedraz JL, Calvo A. Improvement of the monitoring and biosafety of encapsulated cells using the SFGNESTGL triple reporter system. *J Control Release* 2010; 146(1): 93-8.
45. Santos E, Larzabal L, Calvo A, Orive G, Pedraz JL, Hernandez RM. Inactivation of encapsulated cells and their therapeutic effects by means of TGL triple-fusion reporter/biosafety gene. *Biomaterials* 2013; 34(4): 1442-51.
46. Paek HJ, Campaner AB, Kim JL, Aaron RK, Ciombor DM, Morgan JR, et al. In vitro characterization of TGF-beta1 release from genetically modified fibroblasts in Ca(2+)-alginate microcapsules. *ASAIO J* 2005; 51(4): 379-84.
47. Chen W, Zhou H, Weir MD, Bao C, Xu HH. Umbilical cord stem cells released from alginate-fibrin microbeads inside macroporous and biofunctionalized calcium phosphate cement for bone regeneration. *Acta Biomater* 2012; 8(6): 2297-306.
48. Acarregui A, Pedraz JL, Blanco FJ, Hernandez RM, Orive G. Hydrogel-based scaffolds for enclosing encapsulated therapeutic cells. *Biomacromolecules* 2013; 14(2): 322-30.
49. Akbari V, Hendijani F, Feizi A, Varshosaz J, Fakhari Z, Morshedi S, et al. Efficacy and safety of oral insulin compared to subcutaneous insulin: a systematic review and meta-analysis. *J Endocrinol Invest* 2016; 39(2): 215-25.
50. Calafiore R, Basta G. Artificial pancreas to treat type 1 diabetes mellitus. *Methods Mol Med* 2007; 140: 197-236.
51. Stevens B, Yang Y, Mohandas A, Stucker B, Nguyen KT. A review of materials, fabrication methods, and strategies used to enhance bone regeneration in engineered bone tissues. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008; 85(2): 573-82.
52. Endres M, Wenda N, Woehlecke H, Neumann K, Ringe J, Erggelet C, et al. Microencapsulation and chondrogenic differentiation of human mesenchymal progenitor cells from subchondral bone marrow in Ca-alginate for cell injection. *Acta Biomater* 2010; 6(2): 436-44.
53. Yamamoto M, Takahashi Y, Tabata Y. Controlled release by biodegradable hydrogels enhances the ectopic bone formation of bone morphogenetic protein. *Biomaterials* 2003; 24(24): 4375-83.
54. Laguna GR, Tyers P, Barker RA. The search for a curative cell therapy in Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2008; 265(1-2): 32-42.
55. Winkler C, Kirik D, Bjorklund A. Cell transplantation in Parkinson's disease: how can we make it work? *Trends Neurosci* 2005; 28(2): 86-92.
56. Emerich DF, Skinner SJ, Borlongan CV, Vasconcelos AV, Thanos CG. The choroid plexus in the rise, fall and repair of the brain. *Bioessays* 2005; 27(3): 262-74.
57. Jin Y, Fischer I, Tessler A, Houle JD. Transplants of fibroblasts genetically modified to express BDNF promote axonal regeneration from supraspinal neurons following chronic spinal cord injury. *Exp Neurol* 2002; 177(1): 265-75.
58. Akbari V, Sadeghi HM, Jafarian-Dehkordi A, Abedi D, Chou CP. Improved biological activity of a single chain antibody fragment against human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) expressed in the periplasm of *Escherichia coli*. *Protein Expr Purif* 2015; 116: 66-74.
59. Akbari V, Mir Mohammad SH, Jafarian-Dehkordi A, Abedi D, Chou CP. Functional expression of a single-chain antibody fragment against human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in *Escherichia coli*. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2014; 41(6): 947-56.
60. Sabel MS, Arora A, Su G, Mathiowitz E, Reineke JJ, Chang AE. Synergistic effect of intratumoral IL-12 and TNF-alpha microspheres: systemic anti-tumor immunity is mediated by both CD8+ CTL and NK cells. *Surgery* 2007; 142(5): 749-60.
61. Read TA, Sorensen DR, Mahesparan R, Enger PO, Timpl R, Olsen BR, et al. Local endostatin treatment of gliomas administered by microencapsulated producer cells. *Nat Biotechnol* 2001; 19(1): 29-34.
62. Teng H, Zhang Y, Wang W, Ma X, Fei J. Inhibition of tumor growth in mice by endostatin derived from abdominal transplanted encapsulated cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2007; 39(4): 278-84.
63. Cirone P, Bourgeois JM, Chang PL. Antiangiogenic cancer therapy with microencapsulated cells. *Hum Gene Ther* 2003; 14(11): 1065-77.
64. Cirone P, Bourgeois JM, Shen F, Chang PL. Combined immunotherapy and antiangiogenic therapy of cancer with microencapsulated cells. *Hum Gene Ther* 2004; 15(10): 945-59.

65. Templin C, Kotlarz D, Faulhaber J, Schnabel S, Grote K, Salguero G, et al. Ex vivo expanded hematopoietic progenitor cells improve cardiac function after myocardial infarction: role of beta-catenin transduction and cell dose. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 45(3): 394-403.
66. Madeddu P. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration. *Exp Physiol* 2005; 90(3): 315-26.
67. Jacobs J. Combating cardiovascular disease with angiogenic therapy. *Drug Discov Today* 2007; 12(23-24): 1040-5.
68. Zhang H, Zhu SJ, Wang W, Wei YJ, Hu SS. Transplantation of microencapsulated genetically modified xenogeneic cells augments angiogenesis and improves heart function. *Gene Ther* 2008; 15(1): 40-8.
69. Teramura Y, Iwata H. Bioartificial pancreas microencapsulation and conformal coating of islet of Langerhans. *Adv Drug Deliv Rev* 2010; 62(7-8): 827-40.
70. Scanlon KJ. Cancer gene therapy: challenges and opportunities. *Anticancer Res* 2004; 24(2A): 501-4.
71. Gao L, Fei J, Zhao J, Cui W, Cui Y, Li J. pH- and redox-responsive polysaccharide-based microcapsules with autofluorescence for biomedical applications. *Chemistry* 2012; 18(11): 3185-92.
72. Ma MZ, Cheng DF, Ye JH, Zhou Y, Wang JX, Shi MM, et al. Microencapsulated tumor assay: evaluation of the nude mouse model of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2012; 18(3): 257-67.

## Clinical Applications of Cell Encapsulation Technology in Cell and Drug Delivery

Reza Ghavimi<sup>1</sup>, Vajihe Akbari<sup>2</sup>

### Review Article

#### Abstract

**Background:** Cell encapsulation is a method of entrapping cells in a semi-permeable polymer that allows influx of oxygen and nutrients, but effectively avoids immune cells and antibodies from reaching the graft, preventing rejection. Since the invention of cell encapsulation technology, many researchers bet on this biotechnology as a promising alternative to protect encapsulated cells from host immune response. The main purpose of technology is to solve the existing problem of transplant rejection and thus decrease the necessity of long-term use of immunosuppressant drugs after an organ transplant to reduce adverse effects. We carried out a search of published literature to review current information regarding cell encapsulation technology and how this technology could improve cell and drug delivery for therapeutic applications.

**Methods:** A computer-based literature search was performed using PubMed for relevant publications. Only English-language papers were considered.

**Findings:** Current concepts of cell encapsulation technology including a historical perspective, its application for the treatment of diseases, research findings, and important parameters involved in this technique were discussed.

**Conclusion:** Different features of this technique would allow widening the applications from drug delivery to cell delivery. In this way, enclosed cells work as customized factories, synthesizing and releasing the desired therapeutic factor. Looking forward to the future, this technology is expected to evolve significantly. The substantial potential of cell encapsulation has increased with the boom in regenerative medicine and tissue engineering.

**Keywords:** Cell encapsulation, Drug delivery, Cell delivery, Regenerative medicine

**Citation:** Ghavimi R, Akbari V. **Clinical Applications of Cell Encapsulation Technology in Cell and Drug Delivery.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(375): 259-69

1- PhD Student, Department of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

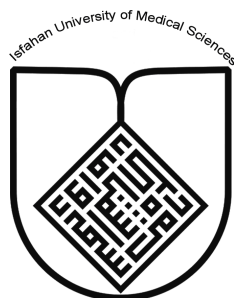
2- Assistant Professor, Department of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Vajihe Akbari, Email: v\_akbari@pharm.mui.ac.ir

### ***Editorial Board (In alphabetical order)***

1. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
2. **Ali Akhavan** MD, Assistant Professor of Radiotherapy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3. **Mohammadreza Akhlaghi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, 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. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Majid Berekatain** MD, Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Ken Bassett** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
10. **Ahmad Chitsaz** MD, Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
11. **Afsoon Emami** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12. **Shahin Emami** PhD, Department of Biochemistry, Saint Antoine Hospital, French Institute of Health and Medical Research, Paris, France
13. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
14. **Faramarz Esmaeilbeigi** MD, Professor of Endocrinology, School of Medicine, California, USA
15. **Ahmad Esmaeilzadeh** PhD, Professor of Nutrition, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
16. **Ziba Farajzadegan** MD, Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
17. **Aziz Gahari** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
18. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Mostafa Hashemi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
20. **Saied Morteza Heidari** MD, Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
21. **Ali Hekmatnia** MD, Professor of Radiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
22. **Fariba Iraj** MD, Professor of Dermatology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
24. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics & Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
25. **Parvin Mahzooni** MD, Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. **Marjan Mansourian** PhD, Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
27. **Mohammad Mardani** MD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. **Mehdi Modares** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
29. **Etiye Moghisi** MD, Professor of Endocrinology, Endocrine and Metabolism Research Center, USA
30. **Mohammadreza Nourbakhsh** PhD, Professor of Physiotherapy, Georgia, USA
31. **Farzin Pourfarzad** PhD, Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands
32. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
33. **Maryam Radahmadi** PhD, Assistant Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
34. **Hassan Razmj** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
35. **Reza Rouzbahani** MD, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. **Masih Saboori** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
37. **Mohammad Reza Safavi** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
38. **Rasoul Salehi** PhD, Assistant Professor of Genetics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
39. **Mansour Sholevar** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. **Mohammadreza Sharifi** MD, PhD, Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran





## JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 34, No. 375, 3<sup>rd</sup> Week May 2016

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

Associate Editor: **Maryam Radahmadi PhD**

---

### 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 31 37922291

E-mail: [jims@med.mui.ac.ir](mailto:jims@med.mui.ac.ir)

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

Executive Manager: Ali Moradi, Office Secretary: Golnaz Rajabi

### Copy edit, Layout edit, Proof Reading, Design, Print and Online Support:

Farzanegan Radandish Publications

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

<http://www.farapub.com>

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.