



### مقاله های پژوهشی

مقایسه‌ی تأثیر دو عامل (TGF-β1) Transforming Growth Factor Beta1 و پیاسکلیدین بر بیان ژن‌های کلاژن X و II و آگريکان در روند کندروژنز سلول‌های بنیادی مشتق از چربی انسان در داربست کامپوزیتی فیبرین آلژینات ..... ۱۵۷  
هادی دیده‌ور، فرهاد گلشن ایران‌پور، علی والیانی، بتول هاشمی بنی، مجتبی اسماعیلی

کاربرد روش تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی در بخش‌بندی اتوماتیک شش لایه‌ی زیرین شبکه در تصاویر Optical Coherence Tomography (OCT) ..... ۱۶۶  
لیلا نیکنام، حسین ربانی

تعیین ژنوتایپ گونه‌های مایکوباکتریوم غیر توپر کلوزیس موجود در نمونه‌های شیر دام‌های اصفهان به روش تعیین توالی ژن 16S rRNA ..... ۱۶۶  
محمد حسین رضائیان، سید اصغر هوایی، شراره مقیم، فاطمه ریاحی، حسینعلی راهدار، میثم روزبهانی، بهرام نصر اصفهانی

بومی‌سازی راهنمای تشخیص، درمان و پی‌گیری بالینی بیماران دچار ضربه‌ی مغزی جهت استفاده در مراکز درمانی و بیمارستان‌های استان اصفهان ..... ۱۸۲  
محمدعلی عطاری، حامد دهستانی اردکانی

### مقاله کوتاه

بررسی تأثیر دو وضعیت مفصل شانه (وضعیت ۹۰ و صفر درجه‌ی Abduction) حین عمل بای‌پس عروق کرونر بر سرعت هدایت اعصاب در بیماران مبتلا به دیابت ..... ۱۹۰  
محمد حسینی فر، زین‌العابدین مجاهد، محسن میر محمد صادقی، حمید آزاده

### Original Articles

Comparing the Effects of Transforming Growth Factor Beta1 (TGF-β1) and Piascledine on the Expression of Collagen II, X and Aggrecan Genes in Chondrogenesis of human Adipose-Derived Stem Cells in Fibrin Alginate Composite Scaffold ..... 165  
Hadi Didehvar, Farhad Golshan-Iranpoor, Ali Valiani, Batool Hashemibeni, Mojtaba Esmaeeli

Morphological Component Analysis for Automatic Segmentation of Six Lower Retina Layers in Optical Coherence Tomography Images ..... 174  
Leila Niknam, Hosein Rabbani

Determination of Nontuberculosis Mycobacteria Species Genotypes Present in Cattle Milk Samples Using 16S rRNA Gene Direct Sequencing ..... 181  
Mohammad Hosein Rezaeyan, Seyed Asghar Havaei, Sharareh Moghim, Fatemeh Riyahi, Hoseinali Rahdar, Meysam Rouzbahani, Bahram Nasr-Esfahani

Nativation of Diagnosis, Treatment and Clinical Prevention of Head Trauma Guideline for Using in Isfahan Hospitals ..... 189  
Mohammadali Attari, Hamed Dehestani-Ardakani

### Short Communication

Effects of Zero and 90 Degree Abduction of Glenohumeral Joint on the Upper Extremity Nerve Conduction Velocity (NCS) in Diabetic Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Graft Surgery ..... 196  
Mohammad Hosseinifar, Zeinolabedin Mojahed, Mohsen Mirmohammad-Sadeghi, Hamid Azadeh



## مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و چهارم، شماره (۳۷۳)، بهمنه اول 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 شکل یا جدولی از مرجع دیگری اخذ شده است، شماره مرجع در آخر عنوان جدول یا شکل نوشته شود و مشخصات مأخذ در بخش مراجع درج شود. -تقدیر و تشکر: در این بخش تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند مورد تقدیر قرار گیرند؛ از جمله کسانی که کمک‌های فنی، نوشتاری و مالی داده و همچنین سرپرستان و مدیران بخش‌های محل انجام مطالعه که در امر پشتیبانی‌های عمومی در اجرای تحقیق فعالیت داشته‌اند. همچنین ذکر نام سازمان(های) حمایت‌کننده یا تأمین‌کننده مالی پژوهش در این بخش ضروری است.

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

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

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

-اگر منبع مورد نظر مقاله است:

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان مقاله (.) مخفف نام مجله (بر اساس Medline) (فاصله) سال انتشار (:) 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 مسؤول 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 مسؤول ارسال نخواهد شد و شماره های مجله از طریق سایت برای نویسندگان و خوانندگان قابل دسترسی می باشد.





## فهرست مطالب

### مقاله‌های پژوهشی

مقایسه‌ی تأثیر دو عامل **(TGF-β1) Transforming Growth Factor Beta1** و پیاسکلیدین بر بیان ژن‌های کلاژن II، X و اگریکان در روند کندروژنز سلول‌های بنیادی مشتق از چربی انسان در داربست کامپوزیتی فیبرین آلژینات.....۱۵۷  
هادی دیده‌ور، فرهاد گلشن ایران‌پور، علی والیانی، بتول هاشمی بنی، مجتبی اسماعیلی

کاربرد روش تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی در بخش‌بندی اتوماتیک شش لابه‌ی زیرین شبکه در تصاویر **(OCT) Optical Coherence Tomography**.....۱۶۶  
لیلا نیکنام، حسین ربانی

تعیین ژنوتایپ گونه‌های مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس موجود در نمونه‌های شیر دام‌های اصفهان به روش تعیین توالی ژن **16S rRNA**.....۱۷۵  
محمد حسین رضائیان، سید اصغر هوایی، شراره مقیم، فاطمه ریاحی، حسینعلی راهدار، میثم روزبهانی، بهرام نصر اصفهانی

بومی‌سازی راهنمای تشخیص، درمان و پی‌گیری بالینی بیماران دچار ضربه‌ی مغزی جهت استفاده در مراکز درمانی و بیمارستان‌های استان اصفهان...۱۸۲  
محمدعلی عطاری، حامد دهستانی اردکانی

### مقاله کوتاه

بررسی تأثیر دو وضعیت مفصل شانه (وضعیت ۹۰ و صفر درجه‌ی **Abduction**) حین عمل بای‌پس عروق کرونر بر سرعت هدایت اعصاب در بیماران مبتلا به دیابت.....۱۹۰  
محمد حسینی‌فر، زین‌العابدین مجاهد، محسن میر محمد صادقی، حمید آزاده

## مقایسه‌ی تأثیر دو عامل Transforming Growth Factor Beta1 (TGF-β1) و پیاسکلیدین بر بیان ژن‌های کلاژن II، X و اگریکان در روند کندروژنز سلول‌های بنیادی مشتق از چربی انسان در داربست کامپوزیتی فیبرین آلژینات

هادی دیده‌ور<sup>۱</sup>، فرهاد گلشن ایران‌پور<sup>۲</sup>، علی والیانی<sup>۳</sup>، بتول هاشمی بنی<sup>۴</sup>، مجتبی اسماعیلی<sup>۱</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** آسیب‌های بافت غضروف در کشورهای پیشرفته، مهم‌ترین علت ناتوانی در سالمندان است. علاوه بر آن، غضروف مفصلی توانایی محدودی در ترمیم دارد. روش‌های درمانی رایج قادر به ترمیم این آسیب‌ها نمی‌باشد؛ چرا که منجر به ایجاد بافت فیبروزی در غضروف می‌شوند. سلول درمانی، یکی از روش‌های درمان است که در آن، سلول‌های بنیادی با کمک مهندسی بافت می‌توانند به کندروسیت تمایز یابند و جهت دستیابی به این هدف، از عوامل رشد و داربست‌ها استفاده می‌شود. به دلیل هایپرتروفه شدن بافت غضروف و عدم پایداری داربست‌ها، ضرورت دستیابی به عوامل القا کننده و داربست مناسب احساس می‌گردد. بر اساس مطالعات، فیبرین آلژینات از لحاظ پایداری و کشسانی (Elasticity) مناسب است و پیاسکلیدین، باعث افزایش بیان ژن‌های مخصوص غضروف می‌گردد. از این رو، در تحقیق حاضر، تأثیر پیاسکلیدین و Transforming growth factor beta1 (TGF-β1) بر القای کندروژنز سلول‌های بنیادی در داربست فیبرین آلژینات مورد مقایسه قرار گرفت.

**روش‌ها:** Adipose derived stem cells (ADSCs) از بافت چربی سه بیمار استخراج و تکثیر داده شد. سپس به مدت ۲۱ روز در داربست فیبرین آلژینات تحت تأثیر مدیوم کندروژنیک کشت داده شدند. میزان تکثیر و بقای سلول‌ها به روش MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide] و میزان بیان ژن‌های اگریکان، کلاژن II و X با استفاده از تکنیک Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** میزان تکثیر و بقا در داربست فیبرین آلژینات، در گروه حاوی پیاسکلیدین نسبت به سایر گروه‌ها، افزایش داشت؛ اما این افزایش به صورت معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). همچنین، پیاسکلیدین باعث افزایش میزان بیان ژن کلاژن II ( $P < 0.001$ ) و کاهش میزان بیان ژن کلاژن X در مقایسه با TGF-β1 گردید.

**نتیجه‌گیری:** احتمال می‌رود پیاسکلیدین در روند القای کندروژنز ADSCs در داربست فیبرین آلژینات مؤثر بوده و بر افزایش بیان ژن‌های ویژه غضروف تأثیر داشته باشد.

**واژگان کلیدی:** سلول بنیادی، پیاسکلیدین، کندروژنز، Transforming growth factor beta1

**ارجاع:** دیده‌ور هادی، گلشن ایران‌پور فرهاد، والیانی علی، هاشمی بنی بتول، اسماعیلی مجتبی. **مقایسه‌ی تأثیر دو عامل Transforming Growth Factor Beta1 (TGF-β1) و پیاسکلیدین بر بیان ژن‌های کلاژن II، X و اگریکان در روند کندروژنز سلول‌های بنیادی مشتق از چربی انسان در داربست کامپوزیتی فیبرین آلژینات.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۷۳): ۱۶۵-۱۵۷

ترمیم ضایعات غضروفی با محدودیت زیادی روبه‌رو است (۱-۲).

مهندسی بافت که ترکیبی از اصول مهندسی و دانش زیست‌شناختی است، به دنبال دستیابی به داربست‌ها و عوامل مناسب برای تحریک تولید غضروف مفصلی است که بتواند آن را به منظور درمان آسیب‌های مفصلی به بدن انتقال دهد (۳). در مهندسی بافت، از

### مقدمه

غضروف مفصلی، یکی از بافت‌های همبند اختصاصی است که شامل کندروسیت و ماتریکس خارج سلولی است و ممکن است به دلایل مختلف از جمله استئوآرتریت دچار آسیب شود. از آن جایی که در بافت غضروف، عروق خونی و اعصاب وجود ندارد و تغذیه‌ی سلول‌ها از طریق انتشار انجام می‌شود، از این رو،

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

۲- استادیار، گروه علوم تشریح، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

پیاسکلیدین تهیه شده از عصاره‌ی آواکادو و سویا به نسبت ۱ (آواکادو) به ۳ (سویا) به صورت غیر صابونی (ASU) یا (Avocado-soybean unsaponifiables)، در بیماری‌های مفصلی به ویژه استئوآرتریت برای کاهش درد و تورم مفصل استفاده می‌شود (۱۴). پیاسکلیدین، با اثر مهاري روی کلاژناز نوع II و پروستاگلاندین و اثر تحریکی روی سنتز پروتئوگلیکان‌ها و کلاژن و نیز کاهش سنتز فیرونکتین، به بازگرداندن ساختمان غضروف به حال طبیعی کمک می‌کند. به علاوه، پیاسکلیدین اثر مهاري بر Interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) دارد و سبب تحریک سنتز کلاژن II در کندروسیت‌ها می‌گردد (۱۵)؛ همچنین، تولید TGF- $\beta$ 1 را نیز تحریک می‌کند (۱۶).

از آن جایی که در روند کندروژنز اثرات منفی TGF- $\beta$ s و هایپرتروفه شدن بافت غضروفي و ضعیف بودن داربست‌ها مطرح است، در این تحقیق، تأثیر ترکیب گیاهی پیاسکلیدین بر روند القای کندروژنز سلول‌های بنیادی مشتق از چربی انسانی در داربست فیبرین آلژینات با عامل رشد TGF- $\beta$ 1 مورد مقایسه قرار گرفت.

### روش‌ها

بافت چربی زیر جلدی انسانی از سه نفر با سن ۲۵-۴۰ سال پس از اخذ رضایت کتبی از بیمارستان تهیه شد. پس از توزین، بافت تحت شرایط استریل به قطعات چند میلی‌متری تقسیم شد. جهت تجزیه بافت، از آنزیم کلاژناز نوع IA (Sigma) به میزان ۱/۵ میلی‌گرم به ازای هر گرم بافت چربی استفاده شد. پس از اضافه شدن مقدار مناسب آنزیم، نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند.

پس از تجزیه شدن کامل بافت، هم حجم محلول آنزیم، محیط کشت شامل Gibco Penicillin/Streptomycin (۱ درصد) + Gibco DMEM Dulbecco's Modified Eagle Medium (۱۰ درصد) + Gibco Fetal bovine serum (FBS) (Sigma) (۱۰ درصد) جهت خنثی کردن فعالیت آنزیم به سوسپانسیون سلولی اضافه شد. سپس، سوسپانسیون در لوله‌های فالكون ۱۵ میلی‌لیتری به مدت ۱۵ دقیقه با شتاب ۱۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و مایع رویی همراه با آدیپوسیت‌ها تخلیه گردید.

در پایان، رسوب سلولی حاصل در فلاسک ۲۵ سانتی‌متر مربع در محیط کشت Gibco Penicillin/Streptomycin (۱ درصد) + FBS (Sigma) (۱۰ درصد) + Gibco DMEM (۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، CO<sub>2</sub>) (۵ درصد) و رطوبت نسبی کشت داده شد (۱۵). با تعویض محیط کشت بعد از ۲۴ ساعت، سلول‌های اضافی تخلیه گردید (شکل ۱).

منابع سلولی مختلفی نظیر سلول‌های بنیادی مشتق از چربی و سلول‌های بنیادی مغز استخوان استفاده می‌شود.

در گذشته، سلول‌های بنیادی مشتق از مغز استخوان به عنوان اصلی‌ترین منبع، برای مهندسی بافت محسوب می‌شدند، اما امروزه سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی به دلیل روش دستیابی آسان و حالت تهاجمی کم و پتانسیل کندروژنیک بالا، به عنوان یکی از منابع سلول‌های بنیادی در مهندسی بافت به صورت گسترده استفاده می‌شوند (۴). بنا بر این، در مطالعه‌ی حاضر، سلول‌های بنیادی از بافت چربی زیر جلدی انسانی ناحیه‌ی شکم جدا و کشت گردید و برای القای کندروژنز مورد استفاده قرار گرفت.

مواد زیستی، نقش اساسی در مهندسی بافت دارند. جهت ترمیم یا درمان بافت‌ها، از داربست‌های طبیعی و مصنوعی استفاده می‌شود (۵). داربست باید زیست‌تخریب‌پذیر، زیست‌سازگار و متخلخل باشد و شرایط مناسب برای چسبندگی، تکثیر و مهاجرت سلولی را فراهم کند (۶-۷).

داربست کامپوزیتی فیبرین آلژینات، یکی از داربست‌های طبیعی است که از زیست‌سازگاری و پایداری مناسبی برخوردار است و تهیه‌ی آن نیز آسان است. این داربست، از ترکیب فیبرین و آلژینات به دست می‌آید (۸). داربست فیبرین از فیبرینوژن و ترومبین ساخته می‌شود و از لحاظ سازگاری زیستی، مناسب است و خاصیت ویسکو الاستیسیته‌ی (Viscoelasticity) منحصر به فردی دارد، اما از لحاظ پایداری ضعیف است و سریع تخریب می‌شود (۹).

با ترکیب این داربست با آلژینات، می‌توان پایداری داربست را افزایش داد. آلژینات، از جلبک‌های قهوه‌ای به دست می‌آید و در حالت ژل، دارای تخلخل است و انتشار ماکرومولکول‌ها را تسهیل می‌نماید، اما از لحاظ خاصیت کشسانی (Elasticity) ضعیف و شکننده است؛ با ترکیب این داربست با فیبرین، می‌توان کشسانی آن را افزایش داد (۱۰).

عوامل رشد، نقش مهمی را در تکثیر، آپوپتوز و تمایز سلولی و همچنین، تنظیم چرخه‌ی سلولی و سیستم ایمنی دارند. از میان این عوامل، می‌توان به خانواده‌ی Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) اشاره کرد که به طور وسیعی در مهندسی بافت غضروف استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده است، این عوامل موجب بیان یک سری از ژن‌ها از جمله کلاژن II و اگرکان و ساخت گلیکوز آمینو گلیکان‌ها می‌شوند (۱۱-۱۲). TGF- $\beta$ s اثر القا کننده در کندروژنز Bone marrow mesenchymal stem cells (BM-MSCs) و Adipose derived stem cells (ADSCs) دارند. با این حال، عوامل رشد علاوه بر قیمت زیاد و نیمه‌ی عمر کوتاه (۲۴-۷۲ ساعت)، بر هایپرتروفه شدن کندروسیت‌ها نیز تأثیر دارند (۱۳).

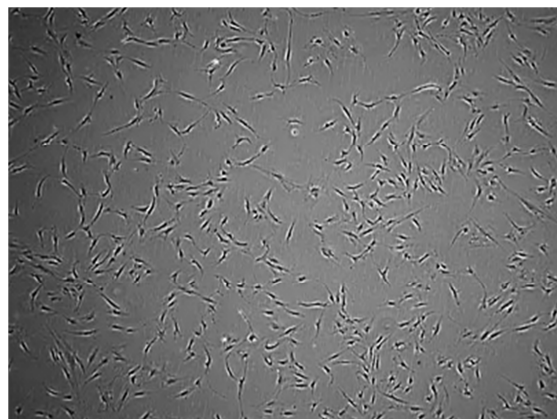
بانک خون استان اصفهان تهیه گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس سطح خارجی کیسه با الکل ۷۰ درصد ضد عفونی گردید و تحت شرایط استریل با استفاده از سرنگ ۱۰ سی‌سی، محتویات درون آن کشیده شد (۱۸).

تهیه‌ی آژینات: جهت تهیه‌ی آژینات، ۱/۵ گرم پودر آژینات (Sigma) در ۱۰۰ میلی‌لیتر کلرید سدیم ۰/۹ درصد حل گردید و سپس با فیلتر ۰/۲ میکرومتر استریل شد (۱۹).

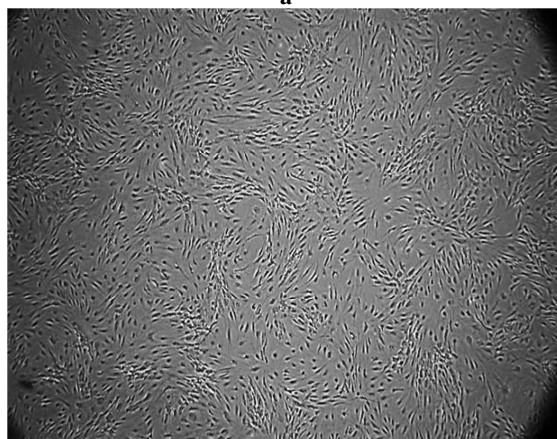
انتقال سلول‌ها به داربست فیبرین آژینات: پس از جدا کردن سلول‌های حاصل از پاساژ سوم از فلاسک‌ها، سوسپانسیون سلولی شمارش شد. به ازای هر ۵ میلیون سلول، ۱ سی‌سی آژینات ۱/۵ درصد اضافه شد. سپس، سوسپانسیون سلول-آژینات به آرامی از طریق نیدل Gauge ۲۳ به محلول ۱۰۲ میلی‌مولار کلسیم کلرید (Merck) موجود در پلیت ۲۴ خانه اضافه شد. پس از این که محلول را به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار دادیم، بیدهای آژینات تشکیل گردید. آن گاه، کلسیم کلرید خارج شد و بیدها سه مرتبه با استفاده از سدیم کلرید ۰/۹ درصد شستشو شدند (۱۹). سپس، به هر خانه ۳۰۰ میکرولیتر فیبرینوژن و ۳۰۰ میکرولیتر ترومبین اضافه گردید. پس از چند دقیقه، لخته‌ی فیبرین حاوی آژینات بید-سلول تشکیل شد.

تمایز کندروژنیک روی داربست فیبرین آژینات: تعداد  $1 \times 10^6$  سلول بنیادی کشت شده در داربست فیبرین آژینات تحت تأثیر محیط کشت القای کندروژنیک حاوی DMEM high glucose (Gibco)، Penicillin/Streptomycin ۱ درصد (Gibco)، ITS (Gibco)،  $10^{-8}$  Dexamethasone (Sigma)، (Selenium و Transferrin .Insulin) ۱ درصد (Sigma)، (BSA) Bovine serum albumin ۱ درصد (Sigma)، ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر Ascorbate 2 phosphate (ASP) (Sigma) و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر Linoleic acid (Sigma) به کندروسیت تمایز داده شد. در گروه اول محیط کشت کندروژنیک دارای ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر TGF- $\beta$ 1، در گروه دوم محیط کشت کندروژنیک دارای ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر Piasclidin و در گروه سوم محیط کشت کندروژنیک دارای هر دو عامل پیش‌گفته و مدت القای محیط کشت، ۲۱ روز بود.

روش انجام تکنیک MTT: در روز ۲۱، ابتدا محیط کشت چاهک‌ها تخلیه گردید و داربست با Phosphate buffered saline (PBS) شستشو داده شد. سپس ۴۰۰ میکرولیتر DMEM high glucose خالص و ۴۰ میکرولیتر محلول ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر [3 (4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5- diphenyltetrazolium-bromide] (MTT) (Sigma) اضافه شد و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور با حرارت ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و  $5\text{ CO}_2$  درصد قرار داده شد. سپس،



a



b

شکل ۱. تصویر میکروسکوپ اینورت از سلول‌های بنیادی مشتق از چربی زنده در کشت تک لایه‌ای در پاساژ سوم (بزرگ‌نمایی  $\times 40$ ) (a: روز دوم و b: روز ششم)

تهیه‌ی ترکیب گیاهی پیاسکلیدین: یک کپسول ۳۰۰ میلی‌گرمی محتوی ترکیب گیاهی پیاسکلیدین (پرایین پارس) در ۳۰ میلی‌لیتر اتانول خالص حل گردید تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان محلول ذخیره به دست آید. سپس جهت القای تمایز با استفاده از محیط کشت غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد.

تهیه‌ی ترومبین: جهت تهیه‌ی ترومبین، یک کیسه Fresh frozen plasma (FFP) از بانک خون استان اصفهان تهیه شد. سپس محتویات آن در داخل دستگاه بن ماری ذوب گردید. آن گاه، با سرنگ، محتویات داخل کیسه به داخل لوله‌ی فالکون ۵۰ میلی‌لیتری منتقل و به هر لوله‌ی فالکون ۱ و ۱۰ میلی‌لیتری آمپول گلوکونات کلسیم اضافه شد. پس از ۹۰-۶۰ دقیقه انکوباسیون، با شتاب ۱۴۰۰ به مدت ۸ دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول رویی حاوی ترومبین در حجم ۱ میلی‌لیتر الیکوت و در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۷).

تهیه‌ی فیبرینوژن: کیسه‌ی Cryoprecipitate به صورت آماده از

جدول ۱. ژن‌ها و پرایمرهای به کار رفته در

**(Real-time PCR) Real-time polymerase chain reaction**

نام ژن	توالی پرایمرها
Col II-F	CTGGTGATGATGGTGAAG
Col II-R	CCTGGATAACCTCTGTGA
Agre-F	GTGGGACTGAAGTTCTTG
Agre-R	GTTGTCATGGTCTGAAGTT
GAPDH-F	AAGCTCATTTCCTGGTATG
GAPDH-R	CTTCTCTTGTGCTCTTG
Col X-F	AGAATCCATCTGAGAATATGC
Col X-R	AGAATCCATCTGAGAATATGC

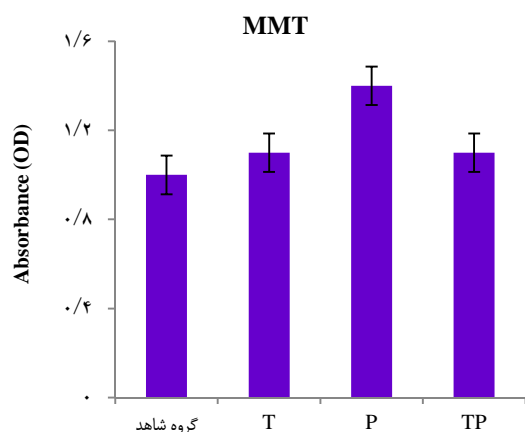
F: Forward; R: Revers; Col II: Type II Collagen; Agre: Aggrecan; Col X: Type X Collagen; GAPDH: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از آزمون Kolmogorov-Smirnov و برای آنالیز داده‌ها از آزمون‌های LSD post hoc و One-way ANOVA (Least significant difference) و نرم‌افزار آماری SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده گردید.

**یافته‌ها**

**بررسی نتایج بقا و تکثیر سلول‌های بنیادی**

به دنبال استفاده از محلول MTT، مشخص شد پیاسکلیدین، میزان تکثیر و بقای ADSCs تمایز یافته به کندروسیت را افزایش داد، اما تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها با گروه شاهد دیده نشد ( $P > 0.05$ ) (شکل ۲).



**شکل ۲. مقایسه‌ی نتایج MTT [4,5-dimethylthiazol-2-yl]-**

**2,5-diphenyltetrazolium-bromide** [2,5-diphenyltetrazolium-bromide] در گروه‌های مورد مطالعه؛

تفاوت معنی‌داری بین این گروه‌ها با گروه شاهد وجود ندارد

( $P > 0.05$ ).

T: TGF- $\beta_1$ ; P: Piasclidine; TP: TGF- $\beta_1$  + piasclidine

مایع تخلیه و ۴۰۰ میکرولیتر Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma) به چاهک‌ها اضافه گردید و به مدت دو ساعت در تاریکی و دمای اتاق قرار داده شد. در انتها، ۱۰۰ میکرولیتر از هر چاهک، به پلیت ۹۶ خانه منتقل و میزان جذب نوری (Optical density یا OD) با دستگاه (Hyperion MPR4) (Enzyme-linked immunosorbent assay) ELISA Reader طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. برای هر نمونه سه بار تکرار (Triplicate) صورت گرفت (۲۱-۲۰).

روش انجام تکنیک Real-time PCR: از روش Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) برای ارزیابی بیان ژن‌های مربوط به مولکول‌های ماتریکس ویژه‌ی غضروف استفاده شد. در روز ۲۱، ابتدا داربست فیبرین آلژینات با PBS شستشو داده شد. سپس، جهت تجزیه‌ی بیدهای آلژینات، ۵۵ میلی‌مولار سدیم سیترات ۱/۵ درصد (Sharlau) و ۰/۹ درصد سدیم کلرید (Merck) اضافه گردید و محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه و با شتاب ۱۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید.

سلول‌های حاصل، جهت استخراج RNA با کیت RNeasy mini kit (Qiagen, Cat. No. 74101) مورد استفاده قرار گرفتند. ساخت Complementary DNA (cDNA) با استفاده از پرایمرهای Oligo و RevertAid™ First Strand cDNA synthesis kit انجام شد؛ به این ترتیب که ۱۰ میکرولیتر RNA استخراج شده، ۱ میکرولیتر Ribonuclease inhibitor، Oligo، Deoxynucleoside triphosphate (dNTP) و آنزیم Reverstanscriptase به کار رفت. برای تکثیر cDNAهای ساخته شده، ۱۰ x buffer به میزان ۲/۵ میکرولیتر، dNTP ۱۰ میلی‌مولار به مقدار ۰/۵ میکرولیتر، FPrimer به میزان ۱ میکرولیتر، Rprimer به میزان ۱ میکرولیتر، نمونه‌ی DNA تهیه شده به میزان ۲ میکرولیتر، Taq polymerase enzyme به میزان ۰/۵ میکرولیتر و dd H<sub>2</sub>O افزوده شد تا حجم نهایی به ۲۵ میکرولیتر رسید.

سپس، تکثیر در چند برنامه انجام شد. برنامه‌ی اول برای Denaturation در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه شروع شد. Denaturation در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه، Annealing در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای یک دقیقه و Extension در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای یک دقیقه ادامه یافت. کل این فرایندها در ۴۰ چرخه صورت گرفت (۲۴-۲۲).

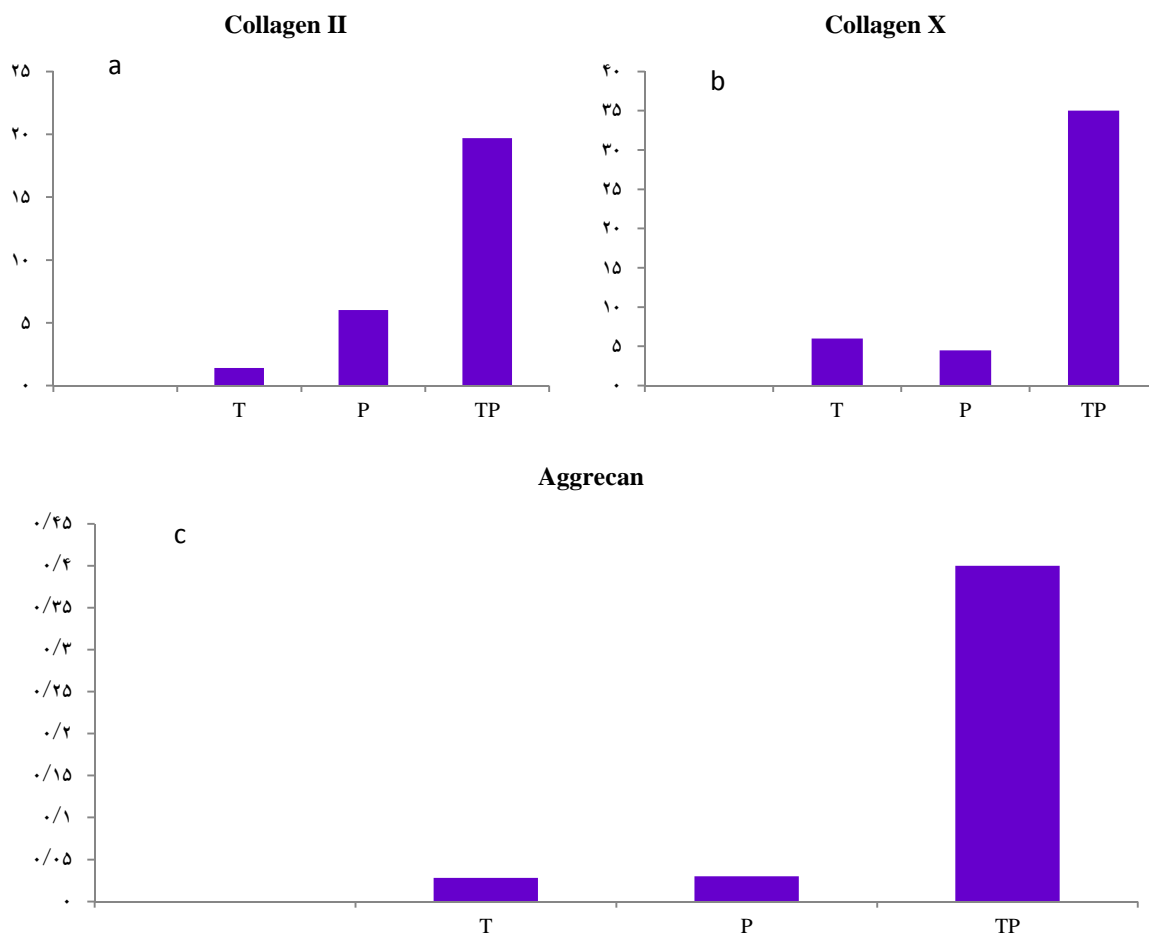
در پایان، منحنی ذوب (Melt curve) رسم شد. این برنامه برای هر سه ژن به کار رفت. همه‌ی پرایمرهای مورد استفاده در Real-time PCR، با به کارگیری نرم‌افزار Allele ID 7.6 طبق جدول ۱ طراحی شد.

## Real-time PCR

نتایج Real-time PCR نشان داد که بیان ژن کلاژن II در روز ۲۱ در گروه TGF-β1 + پیاسکلیدین نسبت به گروه TGF-β1 به تنهایی، حدود ۱۴ برابر و بیان این ژن در گروه پیاسکلیدین در مقایسه با گروه TGF-β1 حدود ۵ برابر بود ( $P < 0/001$ ) (شکل ۳-a). بیان ژن کلاژن X در گروه پیاسکلیدین کمتر از گروه TGF-β1 شد ( $P > 0/050$ ) (شکل ۳-b). همچنین، بیان ژن آگریکان در گروه TGF-β1 و گروه پیاسکلیدین به طور تقریبی با هم برابر شد و بیان این ژن در گروه TGF-β1 + پیاسکلیدین نسبت به گروه‌های TGF-β1 و پیاسکلیدین حدود ۱۳ برابر بیشتر گردید ( $P < 0/001$ ) (شکل ۳-c).

## بحث

در مهندسی بافت، جهت طراحی بافت غضروف وجود تراکم سلولی بالا و تعامل بین سلولی مناسب، ضروری است و از طریق کشت سلول‌ها بر روی داربست سه بعدی، می‌توان تعامل بین سلولی مناسب جهت القای کندروژنز را فراهم کرد. لازم به ذکر است که عوامل رشد نیز جهت القای کندروژنز ضروری هستند (۲۶-۲۵). جهت تمایز کندروژنیک، از داربست‌های گوناگونی استفاده شده است که هر یک، معایب و مزایایی دارند. داربست‌های مصنوعی، زیست‌سازگاری خوبی ندارند و تهیهی آن‌ها مشکل است، اما از لحاظ ویژگی‌های مکانیک مناسب هستند. داربست‌های طبیعی نیز دارای معایبی نظیر پایداری کم هستند (۲۸-۲۷).



شکل ۳. نتایج Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) برای ژن کلاژن II (a)، کلاژن X (b) و آگریکان (c) در روز ۲۱. مقادیر میانگین  $\pm$  انحراف معیار مربوط به سه آزمایش است.

علامت \*\*\* نشان دهندهی معنی‌دار بودن اختلاف گروه‌ها با یکدیگر است ( $P < 0/001$ )، (a): هر سه گروه نسبت به یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند. (b): اختلاف گروه پیاسکلیدین و TGF-β1 با دو گروه دیگر معنی‌دار است. (c): اختلاف گروه پیاسکلیدین و TGF-β1 با دو گروه دیگر معنی‌دار است. P: گروه تحت تأثیر پیاسکلیدین؛ T: گروه تحت تأثیر TGF-β1؛ TP: گروه تحت تأثیر پیاسکلیدین و TGF-β1. (RQ) Relative quantity: نشان دهندهی میزان نسبی بیان ژن‌ها است.

نسبت به گروه دارای TGF- $\beta$ 1 بیشتر می‌باشد و بیان ژن آگریکان در گروه حاوی پیاسکلیدین نسبت به گروه دارای TGF- $\beta$ 1 به طور تقریبی برابر است. لازم به ذکر است جهت دستیابی به غضروف هیالین، باید در شرایط القای کندروژنز سلول‌های بنیادی، بیان ژن کلاژن نوع X کاهش یابد تا از هایپرتروفه شدن جلوگیری به عمل آید.

در مطالعه‌ی حاضر مشخص شد که بیان این ژن در گروه پیاسکلیدین کمتر از گروه TGF- $\beta$ 1 بوده است. با مقایسه‌ی بیان ژن‌های آگریکان، کلاژن II و X، می‌توان به این نتیجه پی برد که پیاسکلیدین، قادر است بهتر و بیشتر از عامل رشد TGF- $\beta$ 1 در القای سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی مؤثر واقع شود. لازم به ذکر است در زمینه‌ی بررسی تأثیر پیاسکلیدین در تمایز سلول‌های بنیادی تا زمان اجرای مطالعه‌ی حاضر، مطالعه‌ی منتشر نشده بود.

همچنین، مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که TGF- $\beta$ 1 به همراه پیاسکلیدین در بیان ژن‌های کلاژن II و آگریکان تأثیر بسیار چشمگیری داشته است؛ به طوری که میزان بیان ژن کلاژن نوع II در گروه TGF- $\beta$ 1 به همراه پیاسکلیدین به میزان ۳ برابر بیشتر از گروه حاوی پیاسکلیدین و ۱۴ برابر بیشتر از گروه حاوی TGF- $\beta$ 1 است و همچنین، میزان بیان ژن آگریکان در گروه TGF- $\beta$ 1 به همراه پیاسکلیدین، به میزان ۱۳ برابر بیشتر از گروه‌های TGF- $\beta$ 1 و پیاسکلیدین است. بر اساس این نتایج، احتمال می‌رود پیاسکلیدین اثر تحریکی روی TGF- $\beta$ 1 داشته باشد. این یافته‌ها با نتایج مطالعه‌ی Altinel و همکاران همخوانی دارد (۳۵).

همراهی دو عامل TGF- $\beta$ 1 و پیاسکلیدین، همچنین باعث افزایش بیان ژن کلاژن X -عامل هایپرتروفه شدن کندروسیت‌ها- به میزان ۷ برابر نسبت به پیاسکلیدین شد که این اثر منفی نیز به دلیل وجود TGF- $\beta$ 1 می‌باشد.

از تحقیق حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی در داربست فیبرین آلژینات، تحت تأثیر پیاسکلیدین قابلیت تمایز به کندروسیت‌هایی را دارند که ژن‌های ویژه غضروف‌ساز مانند کلاژن نوع II و آگریکان را بیان می‌کنند. این نتایج نشان می‌دهد که این ترکیب گیاهی در مقایسه با عامل رشد TGF- $\beta$ 1 تأثیر بهتری در روند القای کندروژنز دارد.

### تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد هادی دیده‌ور با شماره‌ی ۳۹۴۲۶۳ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جهت حمایت و تأمین بودجه‌ی این طرح سپاسگزاری می‌گردد.

داربست کامپوزیتی فیبرین آلژینات، یکی از داربست‌های طبیعی است که از زیست‌سازگاری و پایداری مناسبی برخوردار است و تهیه‌ی آن نیز آسان است. این داربست، از ترکیب داربست فیبرین و آلژینات به دست می‌آید (۲۹). داربست فیبرین، از فیبرینوژن و ترومبین ساخته می‌شود و از لحاظ سازگاری زیستی، مناسب است و خاصیت ویسکوالاستیک منحصر به فردی دارد؛ اما از لحاظ پایداری ضعیف است و سریع تخریب می‌شود. با ترکیب این داربست با آلژینات، می‌توان پایداری داربست را افزایش داد (۳۰-۲۹).

آلژینات، از جلبک‌های قهوه‌ای یا از کپسول‌های پلی‌ساکاریدی باکتری‌ها به دست می‌آید. پلی‌ساکارید طبیعی آلژینات، در شرایط آزمایشگاه بدون نیاز به وجود حلال‌های آلی به راحتی به حالت ژل در می‌آید و تهیه‌ی آن نیاز به تغییر pH، حرارت یا فعال‌کننده‌های سمی ندارد و در حالت ژل، دارای تخلخل است و انتشار ماکرومولکول‌ها را تسهیل می‌نماید، اما از لحاظ خاصیت کشسانی ضعیف و شکننده است که با ترکیب این داربست با فیبرین، می‌توان کشسانی آن را افزایش داد (۳۳-۳۱).

در واقع، جهت ایجاد تعادل بین روند تخریب‌پذیری و خاصیت کشسانی، می‌توان از ترکیبی از فیبرین و آلژینات به عنوان ماده‌ی زمینه‌ی خارج سلولی بستری مناسب برای رشد سلول‌ها فراهم نمود. Ma و همکاران برای کندروژنز سلول‌های Bone marrow stromal cells (BMSCs) از داربست ترکیبی فیبرین آلژینات استفاده کردند و نشان دادند که فیبرین، قدرت کشسانی داربست و همچنین، تکثیر سلولی را افزایش می‌دهد و آلژینات، ثبات و بیان ژن‌های کندروسیت و تولید اجزای ماتریکس خارج سلولی را پس از تمایز افزایش می‌دهد (۳۴).

در مطالعه‌ی حاضر، زمانی که پیاسکلیدین، TGF- $\beta$ 1 و ترکیب هر دوی آن‌ها در سه محیط کشت جداگانه اضافه شدند، میزان تکثیر و بقا در گروه پیاسکلیدین نسبت به گروه‌های دیگر بیشتر گردید؛ اما این افزایش، معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ).

نتایج به دست آمده، مشابه نتایج مطالعات Shikanov و همکاران (۸) و نیز Ma و همکاران (۳۴) بود؛ آن‌ها مشخص نمودند که بقا و تکثیر BMSCs در داربست فیبرین آلژینات حفظ می‌شود.

در تحقیق حاضر، آنالیز Real-time PCR برای بیان ژن‌های کلاژن II و X و آگریکان برای سلول‌های بنیادی مشتق از چربی پس از کشت در محیط کشت کندروژنیک طی ۲۱ روز در داربست فیبرین آلژینات در حضور پیاسکلیدین، TGF- $\beta$ 1 و ترکیب هر دوی آن‌ها به صورت جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت، مشخص شد که بیان ژن کلاژن نوع II به میزان ۵ برابر در گروه حاوی پیاسکلیدین

## References

- Hardingham T, Tew S, Murdoch A. Tissue engineering: Chondrocytes and cartilage. *Arthritis Res* 2002; 4(Suppl 3): S63-S68.
- Mitchell N, Shepard N. The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforations through the subchondral bone. *J Bone Joint Surg Am* 1976; 58(2): 230-3.
- Mardani M, Hashemibeni B, Ansar MM, Zarkesh Esfahani SH, Kazemi M, Goharian V, et al. Comparison between chondrogenic markers of differentiated chondrocytes from adipose derived stem cells and articular chondrocytes in vitro. *Iran J Basic Med Sci* 2013; 16(6): 763-73.
- Colter DC, Sekiya I, Prockop DJ. Identification of a subpopulation of rapidly self-renewing and multipotential adult stem cells in colonies of human marrow stromal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(14): 7841-5.
- Breen A, Dockery P, O'Brien T, Pandit A. Fibrin scaffold promotes adenoviral gene transfer and controlled vector delivery. *J Biomed Mater Res A* 2009; 89(4): 876-84.
- Chen G, Ushida T, Tateishi T. A biodegradable hybrid sponge nested with collagen microsponges. *J Biomed Mater Res* 2000; 51(2): 273-9.
- Lahiji A, Sohrabi A, Hungerford DS, Frondoza CG. Chitosan supports the expression of extracellular matrix proteins in human osteoblasts and chondrocytes. *J Biomed Mater Res* 2000; 51(4): 586-95.
- Shikanov A, Xu M, Woodruff TK, Shea LD. Interpenetrating fibrin-alginate matrices for in vitro ovarian follicle development. *Biomaterials* 2009; 30(29): 5476-85.
- Zhou H, Xu HH. The fast release of stem cells from alginate-fibrin microbeads in injectable scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2011; 32(30): 7503-13.
- Morris VJ. Gelation of polysaccharides. In: Mitchell JR, Ledward DA, editors. *Functional properties of food macromolecules*. New York, NY: Elsevier; 1986. p. 121-8.
- Hashemibeni B, Razavi Sh, Esfandiary E, Karbasi S, Mardani M, Sadeghi F, et al. Effect of transforming growth factor- $\beta$ 3 and bone morphogenetic protein-6 growth factors on chondrogenic differentiation of adipose-derived stem cells in alginate scaffold. *J Isfahan Med Sch* 2010; 28(112): 607-20. [In Persian].
- Hashemibeni B, Razavi Sh, Esfandiary E, Karbasi S, Mardani M, Nasresfahani M. Induction of chondrogenic differentiation of human adipose-derived stem cells with TGF- $\beta$ 3 in pellet culture system. *Iran J Basic Med Sci* 2008; 11(1): 10-7.
- Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993; 260(5110): 920-6.
- Henrotin YE, Labasse AH, Jaspard JM, de Groote DD, Zheng SX, Guillou GB, et al. Effects of three avocado/soybean unsaponifiable mixtures on metalloproteinases, cytokines and prostaglandin E2 production by human articular chondrocytes. *Clin Rheumatol* 1998; 17(1): 31-9.
- Mauviel A, Daireaux M, Hartmann DJ, Galera P, Loyau G, Pujol JP. Effects of unsaponifiable extracts of avocado/soy beans (PIAS) on the production of collagen by cultures of synoviocytes, articular chondrocytes and skin fibroblasts. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1989; 56(2): 207-11. [In French].
- Hunter DJ. Pharmacologic therapy for osteoarthritis--the era of disease modification. *Nat Rev Rheumatol* 2011; 7(1): 13-22.
- Sadeghian M, Hashemibeni B, Mardani M, Amirpoor N, Aliakbari M. Comparing the effect of platelet rich plasma (PRP) and fetal bovine serum (FBS) on proliferation and survival of adipose-derived stem cells in fibrin scaffolds. *J Isfahan Med Sch* 2015; 32(317): 2299-2311. [In Persian].
- Yang SH, Wu CC, Shih TT, Chen PQ, Lin FH. Three-dimensional culture of human nucleus pulposus cells in fibrin clot: Comparisons on cellular proliferation and matrix synthesis with cells in alginate. *Artif Organs* 2008; 32(1): 70-3.
- Valiani A, Hashemibeni B, Esfandiary E, Ansar MM, Kazemi M, Esmaeili N. Study of carbon nano-tubes effects on the chondrogenesis of human adipose derived stem cells in alginate scaffold. *Int J Prev Med* 2014; 5(7): 825-34.
- Rowley JA, Madlambayan G, Mooney DJ. Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials. *Biomaterials* 1999; 20(1): 45-53.
- Wang ZY, Zhang QZ, Konno M, Saito S. Sol-gel transition of alginate solution by the addition of various divalent cations: 13C-nmr spectroscopic study. *Biopolymers* 1993; 33(4): 703-11.
- Esfandiary E, Valiani A, Hashemibeni B, Moradi I, Narimani M. The evaluation of toxicity of carbon nanotubes on the human adipose-derived-stem cells in-vitro. *Adv Biomed Res* 2014; 3: 40.
- Yan J, Dong L, Zhang B, Qi N. Effects of extremely low-frequency magnetic field on growth and differentiation of human mesenchymal stem cells. *Electromagn Biol Med* 2010; 29(4): 165-76.
- Creedy CM, O'Neill CF, Arulanandam BP, Sylvia VL, Navara CS, Bizios R. Mesenchymal stem cell osteodifferentiation in response to alternating electric current. *Tissue Eng Part A* 2013; 19(3-4): 467-74.
- Ruettger A, Neumann S, Wiederanders B, Huber R. Comparison of different methods for preparation and characterization of total RNA from cartilage samples to uncover osteoarthritis in vivo. *BMC Res Notes* 2010; 3: 7.
- Kuo CK, Li WJ, Mauck RL, Tuan RS. Cartilage tissue engineering: its potential and uses. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18(1): 64-73.
- Guilak F, Cohen DM, Estes BT, Gimble JM, Liedtke W, Chen CS. Control of stem cell fate by physical interactions with the extracellular matrix. *Cell Stem Cell* 2009; 5(1): 17-26.
- Yang IH, Kim SH, Kim YH, Sun HJ, Kim SJ, Lee JW. Comparison of phenotypic characterization between "alginate bead" and "pellet" culture systems as chondrogenic differentiation models for human mesenchymal stem cells. *Yonsei Med J* 2004; 45(5): 891-900.



29. Zhao L, Weir MD, Xu HH. An injectable calcium phosphate-alginate hydrogel-umbilical cord mesenchymal stem cell paste for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2010; 31(25): 6502-10.
30. Buser Z, Liu J, Thorne KJ, Coughlin D, Lotz JC. Inflammatory response of intervertebral disc cells is reduced by fibrin sealant scaffold in vitro. *J Tissue Eng Regen Med* 2014; 8(1): 77-84.
31. Chien CS, Ho HO, Liang YC, Ko PH, Sheu MT, Chen CH. Incorporation of exudates of human platelet-rich fibrin gel in biodegradable fibrin scaffolds for tissue engineering of cartilage. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2012; 100(4): 948-55.
32. Stevens MM, Qanadilo HF, Langer R, Prasad S, V. A rapid-curing alginate gel system: utility in periosteum-derived cartilage tissue engineering. *Biomaterials* 2004; 25(5): 887-94.
33. Stevens MM, Marini RP, Martin I, Langer R, Prasad S, V. FGF-2 enhances TGF-beta1-induced periosteal chondrogenesis. *J Orthop Res* 2004; 22(5): 1114-9.
34. Ma HL, Hung SC, Lin SY, Chen YL, Lo WH. Chondrogenesis of human mesenchymal stem cells encapsulated in alginate beads. *J Biomed Mater Res A* 2003; 64(2): 273-81.
35. Altinel L, Saritas ZK, Kose KC, Pamuk K, Aksoy Y, Serteser M. Treatment with unsaponifiable extracts of avocado and soybean increases TGF-beta1 and TGF-beta2 levels in canine joint fluid. *Tohoku J Exp Med* 2007; 211(2): 181-6.

## Comparing the Effects of Transforming Growth Factor Beta1 (TGF-β1) and Piascledine on the Expression of Collagen II, X and Aggrecan Genes in Chondrogenesis of human Adipose-Derived Stem Cells in Fibrin Alginate Composite Scaffold

Hadi Didehvar<sup>1</sup>, Farhad Golshan-Iranpoor<sup>2</sup>, Ali Valiani<sup>2</sup>, Batool Hashemibeni<sup>3</sup>, Mojtaba Esmaeeli<sup>1</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Cartilage injuries are the leading cause of disability in the elderly in developed countries. In addition, articular cartilage has a limited ability to repair. Current treatment methods for cartilage tissue injuries lead to fibrous tissue formation. Cell therapy is a treatment in which stem cells using tissue engineering can be differentiated into chondrocytes by using growth factors and scaffolds. Since growth factors such as transforming growth factor beta1 (TGF-β) leads to hypertrophy of cartilage chondrocytes tissue and many scaffolds are weak in terms of mechanics and stability, it is essential to achieve the appropriate scaffolds and inducing factors. Studies have shown that fibrin alginate scaffold is appropriate in terms of mechanical and stability and piascledine increases the cartilage-specific genes expression. Therefore, in this study the chondrogenic effect of TGF-β1 and piascledine on adipose derived stem cells in fibrin alginate scaffold was compared and evaluated.

**Methods:** Fat samples were obtained from three persons. Adipose derived stem cells (ADSCs) was extracted from adipose tissue and proliferated. Then the cells were transferred to the fibrin alginate scaffold and the cells were cultured for 21 days under the influence of the induction medium. The rate of proliferation and survival of cells was evaluated by [3 (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide] MTT method and the rate of gene expression of Aggrecan and Collagen II and X was evaluated with Real-time polymerase chain reaction (Real-Time PCR) method.

**Findings:** The results showed that proliferation rate and survival of cells in a fibrin alginate scaffold in the group containing Piascledine increased compared to the other groups, but this increase is not significant ( $P > 0.050$ ). Also, Piascledine increased collagen II gene expression ( $P < 0.001$ ) and reduced collagen X gene expression when compared to TGF-β1.

**Conclusion:** Piascledine was found as a proper effective inducer in chondrogenic differentiation of human adipose derived stem cells cultured in fibrin alginate scaffold.

**Keywords:** Adipose derived stem cell, Piascledine, Chondrogenesis, Transforming growth factor beta1

**Citation:** Didehvar H, Golshan-Iranpoor F, Valiani A, Hashemibeni B, Esmaeeli M. **Comparing the Effects of Transforming Growth Factor Beta1 (TGF-β1) and Piascledine on the Expression of Collagen II, X and Aggrecan Genes in Chondrogenesis of human Adipose-Derived Stem Cells in Fibrin Alginate Composite Scaffold.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(373): 157-65

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

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

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

**Corresponding Author:** Batool Hashemibeni, Email: hashemibeni@med.mui.ac.ir

## کاربرد روش تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی در بخش‌بندی اتوماتیک شش لایه‌ی زیرین شبکیه در تصاویر (OCT) Optical Coherence Tomography

لیلا نیکنام<sup>۱</sup>، حسین ربانی<sup>۲</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** شبکیه، داخلی‌ترین بافت چشم است و به کمک عصب بینایی اطلاعات تصویری را به مغز ارسال می‌نماید. این بخش از چشم، ساختار لایه‌ای دارد و طراحی روشی که بتواند بدون تأثیر گرفتن از نوع اختلال تصویر و میزان آن و همچنین پایین بودن کنتراست تصویر، مرزهای لایه‌ها را به درستی مشخص نماید، از اهمیت فراوانی برخوردار می‌باشد. در این مطالعه، روش تلفیقی از دو روش تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی (MCA یا Morphological component analysis) و برنامه‌نویسی پویا (DP یا Dynamic programming) برای بخش‌بندی اتوماتیک شش لایه‌ی زیرین شبکیه به کار گرفته شد.

**روش‌ها:** پایگاه داده شامل ۵۵ نمونه‌ی اخذ شده از افراد طبیعی با استفاده از دستگاه TOPCON-OCT-1000 بود. این مطالعه، در دو مرحله صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی، دیکشنری هر تصویر با استفاده از خوشه‌بندی برداری به کمک مقادیر ویژه (K-SVD) محاسبه گردید و سپس روش MCA، روی دیکشنری‌های حاصل شده اعمال گردید و بخش‌های کارتون و بافت تصویر با انتخاب پایه‌های مناسب تفکیک شد. بخش‌بندی به روش DP در تصویر کارتون اجرا گردید و سطوح (RPE) Retinal pigment epithelium، (VM) Verhoeff's memberane، (OSL) Outer segment layer، (ICL) Inner collagenous layer، (ISL) Inner synaptic layer و (OLM) Outer limiting membrane مشخص شدند.

**یافته‌ها:** با مقایسه‌ی نتایج به دست آمده با استانداردهای موجود، مشاهده شد که کمترین خطا، مربوط به سطح OSL با مقدار خطای  $0.167 \pm 0.030$  بود. میزان خطای سطوح RPE، VM، JCL، ISL و OLM به ترتیب  $0.33 \pm 0.066$ ،  $0.31 \pm 0.059$ ،  $0.49 \pm 0.100$ ،  $0.61 \pm 0.172$  و  $0.51 \pm 0.105$  بود.

**نتیجه‌گیری:** تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی به کمک روش DP، می‌تواند به صورت یک روش اتوماتیک در بخش‌بندی شش لایه‌ی زیرین شبکیه عمل کند و بدون نیاز به انجام پیش پردازش، از صحت قابل قبولی در نتایج بخش‌بندی برخوردار است.

**واژگان کلیدی:** بخش‌بندی، برنامه‌نویسی پویا، تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی

**ارجاع:** نیکنام لیلا، ربانی حسین. کاربرد روش تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی در بخش‌بندی اتوماتیک شش لایه‌ی زیرین شبکیه در تصاویر (OCT) Optical Coherence Tomography. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۷۳): ۱۷۴-۱۶۶

### مقدمه

همچنین پایین بودن کنتراست تصویر، مرز لایه‌ها را به درستی مشخص کند، از اهمیت فراوانی برخوردار می‌باشد (۱-۲). روش آموزش پایه‌ها (Dictionary learning) یک سیگنال را بر اساس پایه‌هایی از جنس خود سیگنال مدل می‌کند. در این حوزه، روش‌های متعددی وجود دارند که در تمامی آن‌ها، سیگنال مورد نظر بر اساس یک دسته پایه‌ی مناسب که «دیکشنری» نامیده می‌شود و ضرایب تُنک متناظر، مدل می‌شود (۳).

Optical coherence tomography (OCT)، تصاویر مقطعی از بافت‌های داخلی چشم مانند شبکیه توسط اشعه مادون قرمز ثبت می‌کند. هر مجموعه از این تصاویر، می‌تواند کاربردهای تشخیصی و درمانی فراوانی داشته باشد. با توجه به ساختار لایه‌ای شبکیه و کاربرد گسترده‌ی تجزیه و تحلیل تصاویر شبکیه در چشم‌پزشکی، طراحی روشی که بتواند بدون تأثیر گرفتن از نوع اختلال تصویر و میزان آن و

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی پزشکی بیوالکترونیک، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه بیوالکترونیک مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی و مرکز تحقیقات پردازش سیگنال و تصاویر پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: h\_rabbani@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: حسین ربانی

پایه‌ها، می‌توان به اهداف جانبی مانند حذف اختلال نیز دست یافت. در این مطالعه، مدل تنک در نمایش سیگنال مورد استفاده قرار گرفته و الگوریتم بیز (Bayesian) در تفکیک کارتون و بافت استفاده شده است (۶).

در مطالعه‌ی دیگری در خصوص غیر همدوسی متقابل (Mutual incoherence)، برای بهبود هم‌گرایی خروجی از روش MCA کمک گرفته شود؛ به طوری که تصویر بازسازی شده، به تصویر نهایی در حد امکان نزدیک بود (۸).

همچنین، طی یک پژوهش با بهره‌گیری از تصاویر کارتون و بافت، مدل غیر خطی برای تصویر در نظر گرفته شد که علاوه بر حفظ ویژگی‌های مدل خطی، می‌تواند امکان تجزیه و تحلیل مناسب‌تری را برای تصویر فراهم سازد (۹).

در بررسی روش‌های فشرده‌سازی تصویر نشان داده می‌شود که روش آموزش پایه‌ها، در مقایسه با سایر روش‌های متداول نظیر Principal component analysis (PCA)، کارایی بیشتری در کاهش ابعاد دارد و اطلاعات اصلی تصویر در این روش بهتر حفظ می‌گردد (۱۰).

بخش‌بندی لایه‌های داخلی شبکیه، فرایندی است که در آن سطوح لایه‌های شبکیه شامل ۱۲ سطح به نام‌های Verhoeff's memberane, (RPE) Retinal pigment epithelium Inner collagenous layer, (OSL) Outer segment layer, (VM) Outer limiting membrane, (ISL) Inner synaptic layer, (ICL) Outer plexiform layer, (ONL) Outer nuclear layer, (OLM) Inner plexiform layer, (INL) Inner nuclear layer, (OPL) Nerve fibre layer و (GCL) Ganglion cell layer, (IPL) (INFL) مشخص می‌شود. شکل ۱، یک تصویر نمونه از تصویر شبکیه به همراه سطوح ۱۲ گانه را نشان می‌دهد.

برای بخش‌بندی لایه‌های داخلی شبکیه، کارهای پژوهشی فراوانی صورت گرفته است که در ۵ گروه اصلی A-SCAN (۲۱-۱۱)، B-SCAN (۲۵-۲۲)، اکتیو کانتور (۳۲-۲۵)، هوش مصنوعی (۳۵-۳۳) و نظریه‌ی گراف (۴۲-۳۶) دسته‌بندی شده‌اند. تعداد سطوح‌های تشخیص داده شده در این روش‌ها متغیر می‌باشد و هر کدام، دارای مزایا و معایب مخصوص خود می‌باشند که به تفصیل در مطالعه‌ای در این زمینه مورد بررسی قرار گرفته است (۴۲).

در این مطالعه از روش تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی و به خصوص بخش کارتون به منظور بخش‌بندی لایه‌های زیرین شبکیه استفاده شد. لازم به یادآوری است که کارتون یک تصویر به دلیل داشتن لبه‌های واضح، می‌تواند برای بخش‌بندی به نتایج بهتری منتهی شود (۵). در واقع، مزیت اصلی بخش‌بندی به روش تجزیه و تحلیل

یکی از کاربردهای آموزش پایه‌ها تفکیک یک تصویر خاص به دو بخش به نام‌های کارتون (Cartoon) و بافت (Texture) تصویر می‌باشد. آنالیز ریخت‌شناسی که Morphological component analysis (MCA) نامیده می‌شود، نمونه‌ای از این دسته روش‌ها می‌باشد. در این روش، فرض می‌گردد که سیگنال مشاهده شده، ترکیبی از چند زیر سیگنال  $y_1, y_2, \dots, y_M$  و اختلال می‌باشد:

$$y = y_1 + y_2 + \dots + y_M + v \quad (1)$$

که به طور معمول اختلال  $v$  به صورت سفید یکنواخت با میانگین صفر و انحراف معیار  $\sigma$  است. پارامتر  $\sigma$  که در واقع کنترل‌کننده‌ی خطا می‌باشد، با توجه به میزان انرژی اختلال تصویر انتخاب می‌شود (۴-۵). در تحلیل این روش، فرض می‌شود هر بخش مانند  $y_i$  را می‌توان به صورت حاصل ضرب دیکشنری  $A_i$  در ضرایب تنک  $x_i$  در نظر گرفت. ضرایب تنک هر بخش از حل معادله‌ی زیر حاصل می‌شود:

$$\|y - A_1 x_1 - A_2 x_2 \dots - A_M x_M\|_2 < \sigma \quad (2)$$

به شرط آن‌که محدودیت زیر برای حاصل جمع نرم صفر برقرار باشد:

$$\min_{x_1, x_2, \dots, x_M} \|x_1\|_0 + \|x_2\|_0 + \dots + \|x_M\|_0 \quad (3)$$

با محاسبه‌ی جواب مسأله برای  $x$ ، می‌توان مقادیر متناظری را برای  $y_i$  به شکل زیر محاسبه نمود:

$$\tilde{y}_i = A_i x_i \quad (4)$$

با در نظر گرفتن فرض‌های اولیه برای دیکشنری و تعیین سطح آستانه‌ی مناسب، جواب‌های پیش‌گفته، می‌توانند کارتون و بافت یک تصویر را مشخص نمایند. دیکشنری اولیه برای بخش کارتون، اغلب یکی از تبدیل‌های مولتی‌رزولوشن (Multi resolution) مانند ویولت (۶) می‌باشد که می‌تواند اطلاعات فرکانس بالای تصویر مانند لبه‌ها را حفظ کند. در حالی که برای بخش بافت، از تبدیل‌هایی مثل Discrete cosine transform (DCT) استفاده می‌شود که حالت نوسانی دارند (۵).

از روش تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی در کارهای پژوهشی فراوانی استفاده شده است که برای نمونه می‌توان به موارد زیر اشاره نمود: در مطالعات انجام گرفته در تجزیه و تحلیل فیلترهای کارتون-بافت تصویر، کاربردهای روش MCA و نقش این روش در عمل حذف اختلال و ترمیم پیکسل‌های از دست رفته‌ی تصویر (Image in painting) به طور هم‌زمان بررسی شده است (۷). مطالعه‌ی دیگری نشان داد که به صورت هم‌زمان با آموزش

با محاسبه‌ی جواب مسأله برای  $x$ ، می‌توان مقادیر متناظری را برای  $y_c$  و  $y_t$  به شکل زیر محاسبه نمود:

$$\tilde{y}_c = A_c x_c \quad (8) \quad \tilde{y}_t = A_t x_t \quad (8)$$

در صورتی‌که در معادله‌ی (۶)، عبارت محدود کننده را به صورت عبارت تصحیح کننده تغییر دهیم، می‌توان آن را به شکل زیر بیان نمود:

$$\hat{x}_c, \hat{x}_t = \underset{x_c, x_t}{\operatorname{argmin}} \lambda \|x_c\|_1 + \lambda \|x_t\|_1 + \frac{1}{2} \|y - A_c x_c - A_t x_t\|_2^2 \quad (9)$$

$\operatorname{arg}$  = متغیرهای مجهول مسأله عبارت از  $A_t$  و  $A_c$  (دیکشنری بخش‌های کارتون و بافت تصویر) و نیز  $x_c$  و  $x_t$  (ضرایب تنک این دو بخش) می‌باشند.  $\lambda$  نیز ضریب تنظیم است (۷). برای حل این مسأله، از الگوریتم‌های تکرار پذیر استفاده می‌شود و پس از اجرای  $N$  مرحله درونیابی، می‌توان مقادیر کارتون و بافت تصویر را محاسبه نمود. در صورتی‌که ماتریس ضرایب مرحله  $k$  به صورت  $x_c^k$  و  $x_t^k$  باشد و با تعریف ماتریس  $R$  به عنوان ماتریس استخراج یک بلوک تصویر، برای کارتون و بافت عبارات زیر به دست می‌آید:

$$\hat{y}_c = [\sum_{k=1}^N R_k^T R_k]^{-1} \sum_{k=1}^N (R_k^T A_c x_c^k) \quad (10)$$

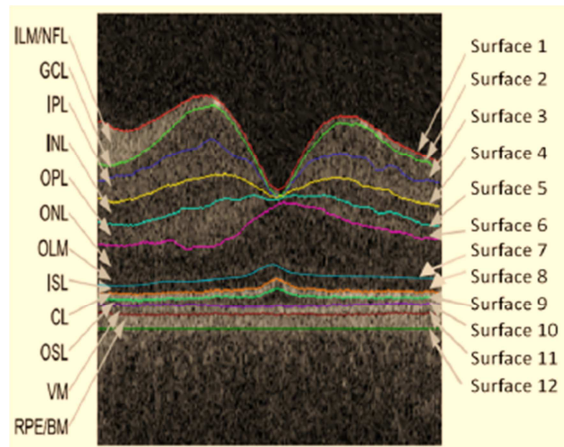
$$\hat{y}_t = [\sum_{k=1}^N R_k^T R_k]^{-1} \sum_{k=1}^N (R_k^T A_t x_t^k) \quad (11)$$

### ب- الگوریتم برنامه‌نویسی پویا

چنانچه گفته شد، روش مورد استفاده برای بخش‌بندی، روش برنامه‌نویسی پویا (DP یا Dynamic programming) بود که جزء روش‌های مسیریابی محسوب می‌شود و در سال ۱۹۹۲ ابداع شده است (۴۴). این روش، جزء روش‌های مبتنی بر گراف محسوب می‌شود. در این حوزه، الگوریتم‌های دیگری مانند  $A * \text{Algorithm}$  و  $\text{Heuristic}$  نیز اجرا شده است که روش DP در مقایسه با این دو روش، سریع‌تر است و حافظه‌ی کمتری را از سیستم اشغال می‌کند. از جمله کاربردهای این روش، محاسبه‌ی مناسب‌ترین مسیر برای لبه‌های تصویر می‌باشد. به کمک این روش، مسیری با نقطه‌یابی از پیکسل‌های تصویر مشخص می‌شود.

مسیری که در این روش تعیین می‌شود، از اتصال گره‌های متوالی می‌باشد که تابع هزینه‌ی بین آن‌ها، کمترین مقدار را دارد. در این روش، هر سطر از تصویر را می‌توان مانند لایه‌ای از یک گراف در نظر گرفت. با انتخاب پیکسل با بیشترین شدت روشنایی در سطر اول به عنوان اولین گره، مسیریابی در تصویر آغاز می‌شود. برای انتخاب گره بعدی، تابع

ریخت‌شناسی به همراه برنامه‌نویسی پویا، حذف مرحله‌ی پیش پردازش برای اجرای بخش‌بندی است؛ چرا که تصویر کارتون به دست آمده، فاقد اختلال و دارای خصوصیات تصویری مناسب جهت استخراج لایه‌ها می‌باشد.



شکل ۱. تصویر لایه‌های شبکیه (۴۳)

RPE: Retinal pigment epithelium; VM: Verhoeff's membrane; OSL: Outer segment layer; ICL: Inner collagenous layer; ISL: Inner synaptic layer; OLM: Outer limiting membrane; ONL: Outer nuclear layer; OPL: Outer plexiform layer; INL: Inner nuclear layer; IPL: Inner plexiform layer; GCL: Ganglion cell layer; INFL: Nerve fibre layer

## روش‌ها

### تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی

چنانچه گفته شد، MCA نمونه‌ای از روش‌های تفکیک یک تصویر به بخش‌های کارتون و بافت می‌باشد. در صورتی‌که معادلات MCA برای یک تصویر فرضی شامل دو بخش کارتون ( $y_c$ ) و بافت ( $y_t$ ) تصویر را بازنویسی کنیم، خواهیم داشت:

$$y = y_c + y_t + v \quad (5)$$

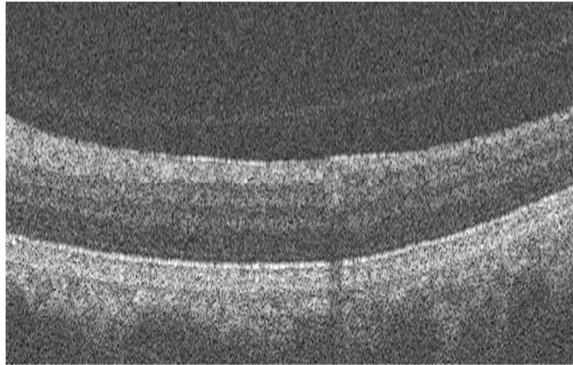
حال، می‌توان بخش کارتون ( $y_c$ ) را به صورت حاصل ضرب دیکشنری کارتون ( $A_c$ )، در ضرایب تنک بخش کارتون ( $x_c$ ) در نظر گرفت. با فرض این که  $y_c$  از مدل  $M_c$  با دیکشنری  $A_c$  و  $y_t$  از مدل  $M_t$  با دیکشنری  $A_t$  تشکیل یافته است، ضرایب تنک هر بخش، از حل معادله‌ی زیر حاصل می‌شود:

$$\|y - A_c x_c - A_t x_t\|_2^2 < \sigma \quad (6)$$

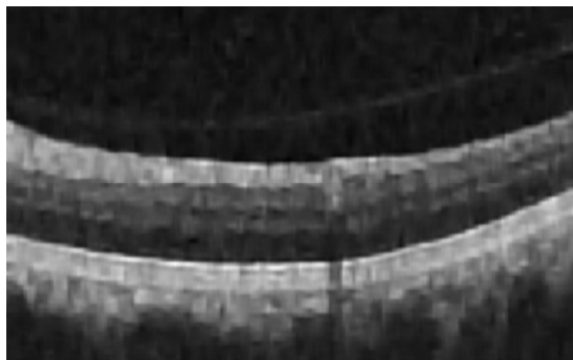
به شرط آن که محدودیت زیر برای حاصل جمع نرم صفر  $x_c$  و  $x_t$  برقرار باشد:

$$\min_{x_c, x_t} \|x_c\|_0 + \|x_t\|_0 \quad (7)$$

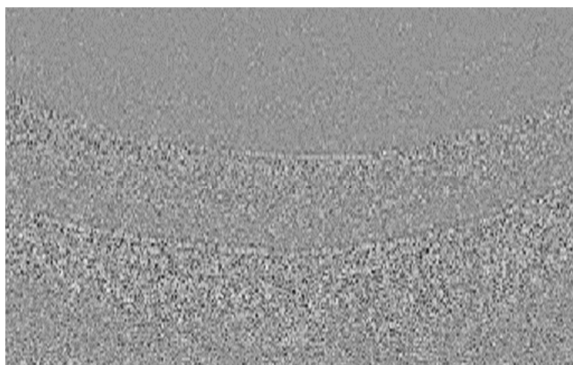
با استفاده از دیکشنری متمایز شده به اتم‌های کارتون و بافت، می‌توان تصویر مختل حاصل شده را به دو بخش کارتون و بافت تفکیک نمود که نمونه‌های آن در شکل ۴ آمده است.



(الف)



(ب)



(ج)

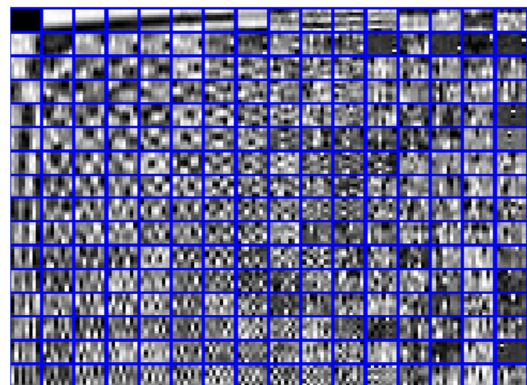
شکل ۴. خروجی روش Morphological component analysis (MCA) برای یک تصویر نمونه، الف) تصویر مختل، ب) بخش کارتون، ج) بخش بافت تصویر

در مرحله‌ی بعدی بر روی کارتون، تصویر بخش‌بندی به روش برنامه‌نویسی پویا اجرا شد. برنامه‌نویسی پویا، مسیری با بالاترین سطح کتراست را در یک تصویر مشخص می‌نماید. این مسیر، در تصویر شبکیه سطح ISL را مشخص می‌نماید. با محاسبه‌ی گرادیان عمودی، می‌توان

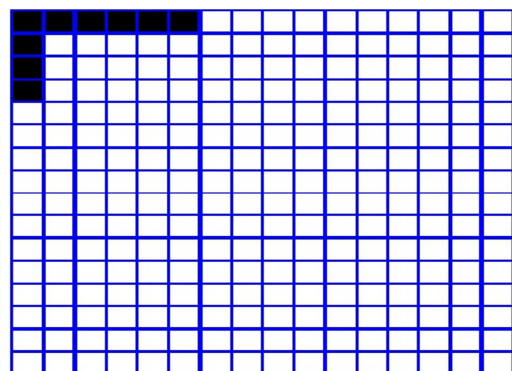
هزینه‌ی بین پیکسل‌های مجاور گره‌ی اول در سطر دوم و گره‌ی اولیه محاسبه می‌شود. پیکسلی که کمترین تابع هزینه را دارد، به عنوان گره‌ی بعدی در مسیر انتخاب می‌شود. این الگوریتم به صورت سطر به سطر تا انتها اجرا می‌شود و مسیر بهینه در تصویر مشخص می‌گردد.

### پ- بخش‌بندی به روش برنامه‌نویسی پویا و تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی

در این مطالعه، تعداد ۵۵ تصویر از دستگاه TOPCON-OCT-1000 به عنوان پایگاه داده در نظر گرفته شد. اندازه‌ی هر داده‌ی دو بعدی در مقیاس پیکسل  $512 \times 650$  بود. برای کارتونی نمودن تصویر، ابتدا دیکشنری هر تصویر به روش خوشه‌بندی برداری به کمک مقادیر ویژه (K-SVD) حاصل شد. شکل ۲، نمونه‌ای از دیکشنری را نمایش می‌دهد. با اجرای روش تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی به روی دیکشنری، می‌توان آن را به دو بخش کارتون و بافت تفکیک نمود. در شکل ۳، نمونه‌ای از دیکشنری تفکیک شده به دو بخش کارتون و بافت تصویر آمده است. بلوک سازنده در هر دیکشنری اتم نامیده می‌شود (د). در شکل ۳، بلوک‌های مشکی اتم‌های بخش کارتون و بلوک‌های سفید رنگ، اتم‌های بخش بافت را نشان می‌دهند.



شکل ۲. دیکشنری به دست آمده از روش K-SVD برای یک تصویر نمونه‌ی Optical coherence tomography (OCT)



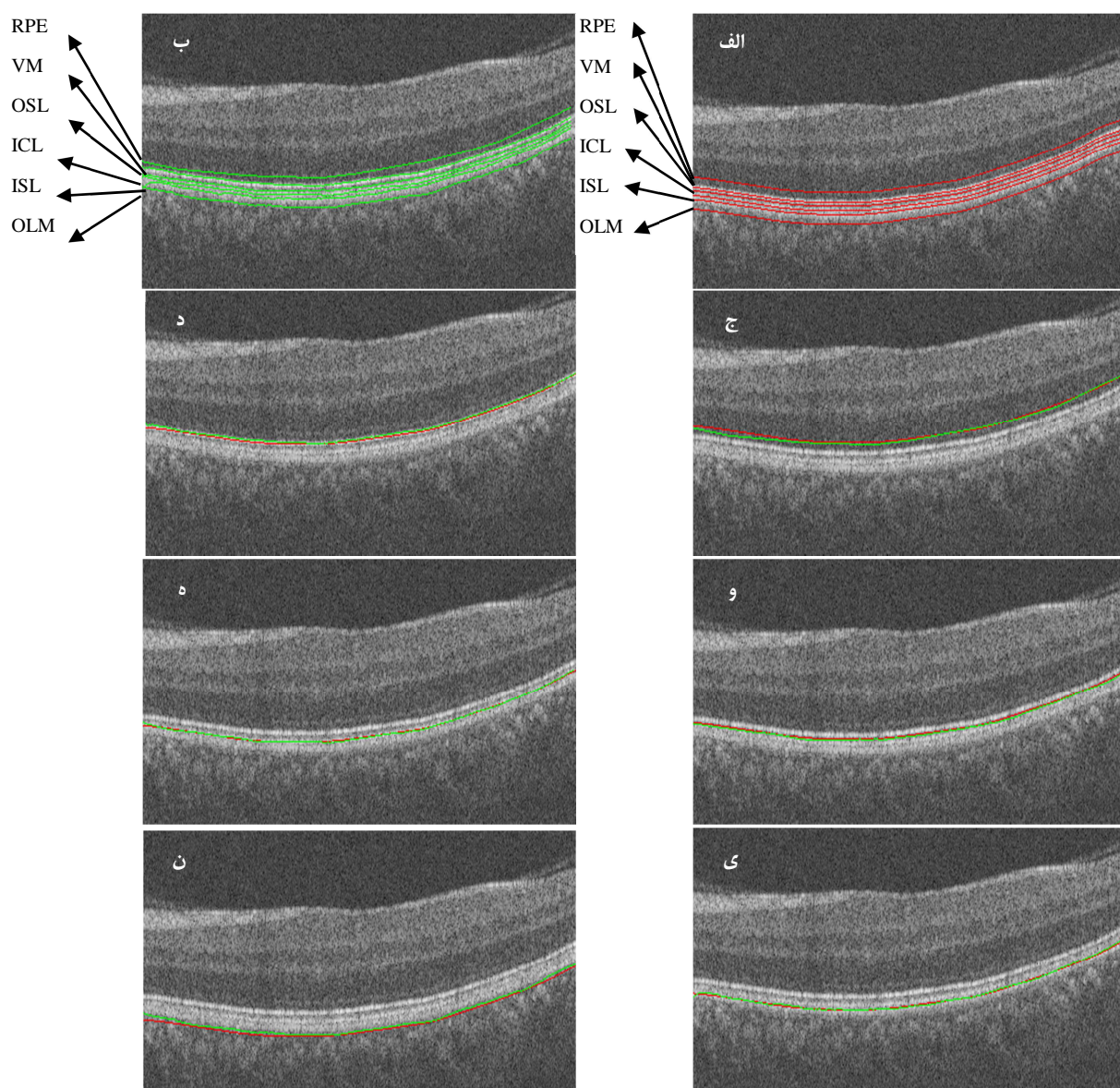
شکل ۳. دیکشنری تفکیک شده به دو بخش کارتون و بافت

## یافته‌ها

## یافته‌های کیفی

نمونه‌های مورد استفاده در این مطالعه، به صورت اسلایس‌های تصادفی انتخاب شده از اسکن‌های حاصل از یک مرحله تصویربرداری OCT بود. این داده‌ها، توسط متخصص به صورت دستی برچسب‌گذاری شدند. شکل ۵، نتایج حاصل از روش بخش‌بندی این مطالعه را به همراه نتایج حاصل از بخش‌بندی دستی و مقایسه‌ی نتایج نشان می‌دهد.

این مسیر را به بخش‌هایی از تصویر که بیشترین تغییرات کتراست تصویر را دارند، منتقل نمود. با جستجوی پیکسل‌های پایین این مسیر، می‌توان به دو سطح از شبکیه (RPE و VM) دست یافت که پیشینه‌ی مقادیر تغییرات گرادیان عمودی در آن جا قرار دارد. به همین ترتیب، می‌توان با جستجوی پیکسل‌های موجود در بالای مسیر مشخص شده و انتخاب مسیرهایی با بیشترین تغییرات گرادیان، مرز مسیره‌های سه سطح OSL، ICL و OLM را تعیین نمود. در مرحله‌ی آخر، به کمک روش‌های پنجره‌گذاری، می‌توان مسیرهای تصویر را هموار نمود.

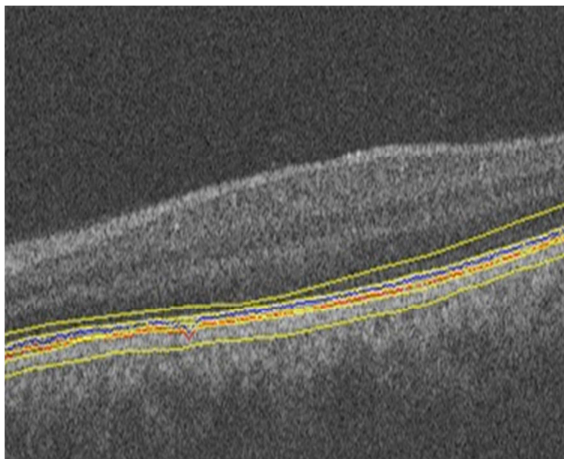


شکل ۵. نتایج حاصل از بخش‌بندی لایه‌های شبکیه در یک تصویر نمونه با روش مطرح شده در این مطالعه در مقایسه با بخش‌بندی دستی توسط متخصص  
الف) مرزهای حاصل از بخش‌بندی به کمک روش پیشنهاد شده، ب) مرزهای حاصل از بخش‌بندی توسط متخصص، ج) سطح Retinal pigment epithelium (RPE)، د) سطح (VM) Verhoeff's memberane، و) سطح (OSL) Outer segment layer، ه) سطح (ICL) Inner collagenous layer، ی) سطح (ISL) Inner synaptic layer و ن) سطح (OLM) Outer limiting membrane.

## یافته‌های کمی

و شباهت‌های آن‌ها، می‌توان ویژگی لایه‌ها را مورد بحث و بررسی قرار داد.

ذکر این نکته قابل توجه است که در صورت اعمال روش DP بر روی تصویری که کارتون و بافت آن تفکیک نشده است، اختلال تصویر، مانع از تشخیص مکان بیشینه‌ی گرادیان در یک تصویر می‌شود. برای نمونه در شکل ۶، نتیجه‌ی اجرای بخش‌بندی DP بر روی یک نمونه از تصاویر پایگاه داده نشان داده شده است. در این شکل، مسیر آبی رنگ، نتیجه‌ی اجرای DP روی تصویر و مسیر قرمز رنگ از شیفت مسیر اولیه به مکان بیشینه‌ی گرادیان با جستجوی پیکسل‌های پایین مسیر اولیه حاصل شده است. مشاهده می‌شود که این مسیر، سطحی از شبکیه را تعیین نمی‌کند. در صورتی که محل جستجو برای یافتن بیشینه‌ی گرادیان را برای پیکسل‌های بالایی تصویر نیز انجام دهیم، نتیجه‌ی مشابهی به دست خواهد آمد و یک مسیر که سطح خاصی را مشخص نمی‌کند، تعیین می‌شود. در شکل ۶، خطوط زرد رنگ مسیرهای دستی مشخص شده توسط متخصص را نشان می‌دهد.



شکل ۶. خروجی اجرای روش **Dynamic programming (DP)** در تصویر مختل (کارتون + بافت).

## تشکر و قدردانی

این پژوهش با کد طرح اختصاصی ۳۹۴۰۸۷ در محل دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب و طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۲ اجرا گردید. از تمامی استادان محترم گروه بیوالکترونیک این دانشکده که راهنمایی‌های لازم را در این زمینه ارائه فرمودند، سپاسگزار می‌گردم.

جدول ۱، مقدار خطای حاصل از نتایج بخش‌بندی ۵۵ تصویر OCT در مقایسه با برچسب‌گذاری نمونه‌ها توسط متخصص را بر حسب پیکسل نشان می‌دهد (مقدار خطا به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار محاسبه شده است). این نتایج نشان داد که سطح OSL کمترین خطا را داشت و برای سایر سطوح نیز میزان خطای قابل قبولی به دست آمد.

جدول ۱. مقدار خطای نتایج حاصل از بخش‌بندی ۵۵ تصویر

## Optical coherence tomography (OCT)

نام سطح	میانگین $\pm$ انحراف معیار
RPE	$-0.66 \pm 0.33$
VM	$-0.59 \pm 0.31$
OSL	$0.03 \pm 0.16$
ICL	$-1.00 \pm 0.49$
ISL	$-1.72 \pm 0.61$
OLM	$-1.05 \pm 0.51$

RPE: Retinal pigment epithelium; VM: Verhoeff's membrance  
OSL: Outer segment layer; ICL: Inner collagenous layer;  
ISL: Inner synaptic layer; OLM: Outer limiting membrane

## بحث

روش تلفیقی برنامه‌نویسی پویا به همراه تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی در مشخص نمودن خودکار لایه‌های شبکیه موفق عمل می‌نماید و نیازی به مرحله‌ی پیش پردازش برای حذف اختلال و افزایش کنتراست تصویر ندارد. با ترکیب روش تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی و آموزش پایه‌ها و نیز بهینه‌سازی فرایند انتخاب پایه‌ها، می‌توان تصویر کارتونی مناسبی برای بخش‌بندی به دست آورد. سپس، با اعمال روش برنامه‌نویسی پویا بر روی بخش کارتون بدون نیاز به پس پردازش (همچون روش‌های پنجره‌گذاری)، امکان تشخیص شش سطح از شبکیه فراهم می‌گردد.

بحث و بررسی برای داشتن تصویر کارتون مناسب‌تر و انتخاب پایه‌های اختصاصی برای هر لایه، می‌تواند موضوع پیشنهادی برای مطالعات آتی در این حوزه در نظر گرفته شود.

بررسی و مطالعه در زمینه‌ی دیکشنری اولیه نیز می‌تواند پایه‌های مناسب‌تری را برای تصویر مشخص نماید.

همچنین، مدل‌سازی تصاویر به کمک پایه‌های هر لایه نیز موضوع مهم دیگری است که می‌تواند در کارهای پژوهشی آینده مورد بررسی قرار گیرد. به کمک پایه‌های هر لایه و بررسی تفاوت‌ها



## References

1. Fernandez-Vigo JI, Garcia-Feijoo J, Martinez-de-la-Casa JM, Garcia-Bella J, Fernandez-Vigo JA. Morphometry of the trabecular meshwork in vivo in a healthy population using fourier-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56(3): 1782-8.
2. Chiu SJ, Li XT, Nicholas P, Toth CA, Izatt JA, Farsiu S. Automatic segmentation of seven retinal layers in SDOCT images congruent with expert manual segmentation. *Opt Express* 2010; 18(18): 19413-28.
3. Bruckstein AM, Donoho DL, Elad M. From sparse solutions of systems of equations to sparse modeling of signals and images. *SIAM Review* 2009; 51(1): 34-81.
4. Elad M. Sparse and redundant representations. New York, NY: Springer; 2010.
5. Starck JL, Elad M, Donoho D. Redundant multiscale transforms and their application for morphological component separation. *Advances in Imaging and Electron Physics* 2004; 132: 287-348.
6. Abolghasemi V, Ferdowsi S, Saneji S. Blind separation of image sources via adaptive dictionary learning. *IEEE Trans Image Process* 2012; 21(6): 2921-30.
7. Elad M, Starck JL, Querre P, Donoho DL. Simultaneous cartoon and texture image inpainting using morphological component analysis (MCA). *Appl Comput Harmon Anal* 2005; 19(3): 340-58.
8. Bobin J, Starck JL, Fadili JM, Moudden Y, Donoho DL. Morphological component analysis: an adaptive thresholding strategy. *IEEE Trans Image Process* 2007; 16(11): 2675-81.
9. Xiyuan H, Weiping X, Peng S, Hwang WL. Multiple component predictive coding framework of still images. *Proceedings of IEEE International Conference on Multimedia and Expo*; 2011 Jul 11-15; Barcelona, Spain. p. 1-6.
10. Tomic I, Frossard P. Dictionary learning. *IEEE Signal Processing Magazine* 2011; 28(2): 27-38.
11. Mortensen E, Morse B, Barrett W, Udupa J. Adaptive boundary detection using 'live-wire' two-dimensional dynamic programming. *Proceedings of Computers in Cardiology*; 1992 Oct 11-14; Durham, NC, USA. p. 635-8.
12. Mitchell SC, Lelieveldt BP, van der Geest RJ, Bosch HG, Reiber JH, Sonka M. Multistage hybrid active appearance model matching: segmentation of left and right ventricles in cardiac MR images. *IEEE Trans Med Imaging* 2001; 20(5): 415-23.
13. Hee MR, Izatt JA, Swanson EA, Huang D, Schuman JS, Lin CP, et al. Optical coherence tomography of the human retina. *Arch Ophthalmol* 1995; 113(3): 325-32.
14. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254(5035): 1178-81.
15. George A, Dillenseger JA, Weber A, Pechereau A. Optical coherence tomography image processing. *Investigat Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 165-73.
16. Koozekanani D, Boyer K, Roberts C. Retinal thickness measurements from optical coherence tomography using a Markov boundary model. *IEEE Trans Med Imaging* 2001; 20(9): 900-16.
17. Gregori G, Knighton RW. A robust algorithm for retinal thickness measurements using optical coherence tomography (Stratus OCT). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(13): 3007.
18. Herzog A, Boyer KL, Roberts C. Robust extraction of the optic nerve head in optical coherence tomography. In: Sonka M, Kakadiaris IA, Kybic J, editors. *Computer vision and mathematical methods in medical and biomedical image analysis*. Berlin, Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2004. p. 395-407.
19. Shahidi M, Wang Z, Zelkha R. Quantitative thickness measurement of retinal layers imaged by optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2005; 139(6): 1056-61.
20. Baroni M, Fortunato P, La Torre A. Towards quantitative analysis of retinal features in optical coherence tomography. *Med Eng Phys* 2007; 29(4): 432-41.
21. Srinivasan VJ, Monson BK, Wojtkowski M, Bilonick RA, Gorczynska I, Chen R, et al. Characterization of outer retinal morphology with high-speed, ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49(4): 1571-9.
22. Bagci AM, Shahidi M, Ansari R, Blair NP, Zelkha R. Thickness profiles of retinal layers by optical coherence tomography image segmentation. *Am J Ophthalmol* 2008; 146(5): 679-87.
23. Koprowski R, Wrobel Z. Layers recognition in tomographic eye image based on random contour analysis. In: Koprowski R, Wozniak M, editors. *Computer Recognition Systems 3*. Berlin, Germany: Springer Berlin Heidelberg; 2009. p. 471-8.
24. Lu S, Cheung CY, Liu J, Lim JH, Leung CK, Wong TY. Automated layer segmentation of optical coherence tomography images. *IEEE Trans Biomed Eng* 2010; 57(10): 2605-8.
25. Boyer KL, Herzog A, Roberts C. Automatic recovery of the optic nervehead geometry in optical coherence tomography. *IEEE Trans Med Imaging* 2006; 25(5): 553-70.
26. Tan O, Li G, Lu AT, Varma R, Huang D. Mapping of macular substructures with optical coherence tomography for glaucoma diagnosis. *Ophthalmology* 2008; 115(6): 949-56.
27. Kajic V, Povazay B, Hermann B, Hofer B, Marshall D, Rosin PL, et al. Robust segmentation of intraretinal layers in the normal human fovea using a novel statistical model based on texture and shape analysis. *Opt Express* 2010; 18(14): 14730-44.
28. Fernandez DC, Villate N, Puliafito CA, Rosenfeld PJ. Comparing total macular volume changes measured by Optical Coherence Tomography with retinal lesion volume estimated by active contours. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(13): 3072.
29. Mishra A, Wong A, Bizheva K, Clausi DA. Intra-retinal layer segmentation in optical coherence tomography images. *Opt Express* 2009; 17(26): 23719-28.

30. Yazdanpanah A, Hamarneh G, Smith B, Sarunic M. Intra-retinal layer segmentation in optical coherence tomography using an active contour approach. *Med Image Comput Assist Interv* 2009; 12(Pt 2): 649-56.
31. Somfai GM, Jozsef M, Chetverikov D, DeBuc D. Active contour detection for the segmentation of optical coherence tomography images of the retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55(13): 4793.
32. Mayer MA, Hornegger J, Mardin CY, Tornow RP. Retinal nerve fiber layer segmentation on FD-OCT scans of normal subjects and glaucoma patients. *Biomed Opt Express* 2010; 1(5): 1358-83.
33. Ghorbel I, Rossant F, Bloch I, Tick S, Paques M. Automated segmentation of macular layers in OCT images and quantitative evaluation of performances. *Pattern Recognition* 2011; 44(8): 1590-603.
34. Fuller A, Zawadzki R, Choi S, Wiley D, Werner J, Hamann B. Segmentation of three-dimensional retinal image data. *IEEE Trans Vis Comput Graph* 2007; 13(6): 1719-26.
35. Mayer MA, Tornow RP, Bock R, Hornegger J, Kruse FE. Automatic nerve fiber layer segmentation and geometry correction on spectral domain OCT images using fuzzy C-means clustering. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49(13): 1880.
36. Vermeer KA, van der Schoot J, Lemij HG, de Boer JF. Automated segmentation by pixel classification of retinal layers in ophthalmic OCT images. *Biomed Opt Express* 2011; 2(6): 1743-56.
37. Garvin MK, Abramoff MD, Kardon R, Russell SR, Wu X, Sonka M. Intraretinal layer segmentation of macular optical coherence tomography images using optimal 3-D graph search. *IEEE Trans Med Imaging* 2008; 27(10): 1495-505.
38. Abramoff MD, Lee K, Niemeijer M, Alward WL, Greenlee EC, Garvin MK, et al. Automated segmentation of the cup and rim from spectral domain OCT of the optic nerve head. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50(12): 5778-84.
39. Lee K, Abramoff MD, Niemeijer M, Garvin MK, Sonka M. 3-D segmentation of retinal blood vessels in spectral-domain OCT volumes of the optic nerve head. *Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering*; 2010 Mar 11; San Diego, CA, USA.
40. Yang Q, Reisman CA, Wang Z, Fukuma Y, Hangai M, Yoshimura N, et al. Automated layer segmentation of macular OCT images using dual-scale gradient information. *Opt Express* 2010; 18(20): 21293-307.
41. Kafieh R, Rabbani H, Abramoff MD, Sonka M. Intra-retinal layer segmentation of 3D optical coherence tomography using coarse grained diffusion map. *Med Image Anal* 2013; 17(8): 907-28.
42. Kafieh R, Rabbani H, Kermani S. A review of algorithms for segmentation of optical coherence tomography from retina. *J Med Signals Sens* 2013; 3(1): 45-60.
43. Kafieh R, Rabbani H, Hajizadeh F, Abramoff MD, Sonka M. Thickness mapping of eleven retinal layers segmented using the diffusion maps method in normal eyes. *J Ophthalmol* 2015; 2015: 259123.
44. Sonka M, Halavac V, Boyle R. *Image processing, analysis, and machine vision*. New York, NY: Springer; 2010.

## Morphological Component Analysis for Automatic Segmentation of Six Lower Retina Layers in Optical Coherence Tomography Images

Leila Niknam<sup>1</sup>, Hosein Rabbani<sup>2</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Retina is the innermost tissue in human eye which sends visual information to the brain by means of optic nerve. Designing an intra-retinal layer segmentation method which can detect the retina surfaces properly in the presence of noise and lack of contrast is an important step in ophthalmology. In this study the combination of morphological component analysis (MCA) and dynamic programming (DP) is used automatically for segmentation of optical coherence tomography (OCT) images.

**Methods:** Data set for this study was 55 samples which were taken from normal people by Topcon OCT-1000. This study had two phases. In MCA phase the image dictionary was created by clustering with eigenvalues (k-SVD), and then the image was decomposed to cartoon and texture parts by selecting proper bases. In the second phase segmentation was done by the dynamic programming (DP) method on cartoon part and the retinal pigment epithelium (RPE), Verhoeff's membrane (VM), outer segment layer (OSL), inner collagenous layer (ICL), inner synaptic layer (ISL), and outer limiting membrane (OLM) layers were detected.

**Findings:** Comparing the obtained results with gold standard (manual segmentation) shows that minimum error belongs to OSL surface and its error in the form of mean  $\pm$  SD (standard derivation) is  $0.030 \pm 0.167$ . For other surfaces the error is calculated in this way from left to right for RPE, VM, ICL, ISL, OLM:  $-0.66 \pm 0.33$ ,  $-0.59 \pm 0.31$ ,  $-1.00 \pm 0.49$ ,  $-1.72 \pm 0.61$ ,  $-1.05 \pm 0.51$ .

**Conclusion:** MCA in combination with DP can work as an automatic method for six lower intra retina layers' segmentation with acceptable accuracy. One of the main advantages of this method is omitting preprocessing phase for segmentation.

**Keywords:** Segmentation, Dynamic programming, Morphological component analysis

**Citation:** Niknam L, Rabbani H. Morphological Component Analysis for Automatic Segmentation of Six Lower Retina Layers in Optical Coherence Tomography Images. J Isfahan Med Sch 2016; 34(373): 166-74

1- MSc Student, Department of Advanced Medical Technology, School of Advanced Technologies in Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Biomedical Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine AND Medical Image and Signal Processing Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Hosein Rabbani, Email: h\_rabbani@med.mui.ac.ir

## تعیین ژنوتایپ گونه‌های مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس موجود در نمونه‌های شیر دام‌های اصفهان به روش تعیین توالی ژن 16S rRNA

محمد حسین رضائیان<sup>۱</sup>، سید اصغر هوایی<sup>۲</sup>، شراره مقیم<sup>۳</sup>، فاطمه ریاحی<sup>۳</sup>، حسینعلی راهدار<sup>۱</sup>،  
میثم روزبهانی<sup>۱</sup>، بهرام نصر اصفهانی<sup>۲</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس (NTM یا Nontuberculous mycobacteria)، از مهم‌ترین باکتری‌هایی هستند که می‌توانند از شیر گاو و فراورده‌های آن به انسان منتقل شوند. حضور این باکتری‌ها در شیر گاو، به عنوان یک نگرانی در عرصه‌ی بهداشت عمومی، به ویژه در میان افرادی که شیر خام و فراورده‌های لبنی حاصل از آن را مصرف می‌کنند، محسوب می‌شود. در این مطالعه، به منظور بررسی میزان شیوع مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس و تعیین انواع آن در نمونه‌های شیر دام‌های استان اصفهان، از روش تعیین توالی ژن 16S rRNA استفاده گردید.

**روش‌ها:** از ایزوله‌هایی که به عنوان مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس شناسایی شد، استخراج DNA با روش Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) و فنل کلروفورم صورت گرفت. سپس، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR یا Polymerase chain reaction) ژن 16S rRNA با استفاده از پرایمرهای طراحی شده انجام و پس از تعیین توالی، انواع این باکتری تعیین شدند.

**یافته‌ها:** از ۱۱۹ نمونه‌ی شیر جمع‌آوری شده از گاوداری‌های استان اصفهان، تعداد ۹ کشت مثبت شناسایی شد که ۸ مورد آن *M. fortuitum* و یک مورد آن *M. gordonae* بود.

**نتیجه‌گیری:** شیوع NTM در نمونه‌های شیر گاو بررسی شده در استان اصفهان ۸/۶ درصد بود که پس از PCR با ژن 16S rRNA و تعیین توالی، فراوانی ایزوله‌ی *M. fortuitum* نوع I ۸۸/۹ درصد و فراوانی ایزوله‌ی *M. gordonae* نوع III ۱۱/۱ درصد بود. روش PCR و تعیین توالی ژن 16S rRNA به کار گرفته شده در این مطالعه، توانایی تشخیص ۱۰۰ درصد ایزوله‌های مایکوباکتریوم را دارا بود.

**واژگان کلیدی:** مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس؛ 16S rRNA، تعیین توالی

**ارجاع:** رضائیان محمد حسین، هوایی سید اصغر، مقیم شراره، ریاحی فاطمه، راهدار حسینعلی، روزبهانی میثم، نصر اصفهانی بهرام. **تعیین ژنوتایپ گونه‌های مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس موجود در نمونه‌های شیر دام‌های اصفهان به روش تعیین توالی ژن 16S rRNA.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۷۳): ۱۷۵-۱۸۱

کورتیکواستروئیدها، تعداد موارد گزارش شده از بیماری‌های ایجاد شده توسط این میکروارگانیسم‌ها رو به افزایش است. بیماری‌های ریوی، پوستی، عفونت بافت نرم و دیگر انواع عفونت‌ها به وسیله‌ی این باکتری‌ها ایجاد می‌شوند. شایع‌ترین فرم این بیماری‌ها عفونت ریوی می‌باشد. با این حال، عفونت در غدد لنفاوی، زخم یا استخوان و گاهی بیماری‌های منتشره توسط این باکتری‌ها گزارش شده است (۱).

### مقدمه

مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس (NTM یا Nontuberculous Mycobacteria)، یکی از مهم‌ترین گروه‌های باکتری‌های فرصت‌طلب مشترک در بین انسان و دام هستند. در سال‌های اخیر، با افزایش بیماری‌های سرکوب‌کننده‌ی سیستم ایمنی مانند ایدز و استفاده از داروهای سرکوب‌کننده‌ی سیستم ایمنی مانند

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

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی و گروه میکروشناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشجوی دکتری، گروه میکروشناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

گاوداری سنتی در استان اصفهان، در مجموع از ۳۳۳ رأس گاو شیری نمونه‌گیری شد که ۲۴۴ نمونه به صورت تجمعی و ۸۹ نمونه به صورت انفرادی بودند. ۵۰ میلی‌لیتر حجم کل شیر جمع‌آوری شده از هر نمونه‌ی انتخابی، در فلاسک مخصوص جمع‌آوری نمونه‌ی استرلیزه قرار داده شد. نمونه‌ها بلافاصله در جعبه‌های یخ (۴-۸) درجه‌ی سانتی‌گراد) تا رسیدن به آزمایشگاه نگهداری شدند.

آلودگی‌زدایی و فیلتراسیون: ۴۰ میلی‌لیتر از هر نمونه‌ی شیر به یک لوله‌ی درب‌دار اضافه و سپس با شتاب ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در طی این مرحله، سلول‌ها و چربی نمونه‌ها رسوب کرد و باقی‌مانده جدا و مورد استفاده قرار گرفت. آلودگی‌زدایی با استفاده از هیدروکسید سدیم ۴ درصد و سولفوریک اسید ۴ درصد، انجام شد و مخلوط چربی و پروتئین از هر نمونه جدا و به این ترتیب نمونه‌ها برای کشت مایکوباکتریوم‌ها آماده شدند (۱۱).

کشت نمونه‌ها: کشت بر روی محیط Lowenstein-Jensen و به صورت هوازی و انکوبه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و به مدت ۹۰ روز انجام شد؛ کشت‌ها به‌طور هفتگی مورد بررسی قرار گرفتند. هر کلنی ظاهر شده، با روش Ziehl-Neelsen رنگ‌آمیزی و خصوصیات مربوط به ظاهر کلنی، تولید پیگمان و سرعت رشد آن‌ها ثبت گردید. سپس کلنی‌های مربوط به باکتری‌های اسیدفاست بر روی محیط کشت 7H10 Middlebrook کشت و خالص‌سازی صورت گرفت.

در موارد با تراکم بالای کلنی‌های مخلوط با دیگر سویه‌های میکروبی، کلنی‌ها ابتدا به صورت خطی بر روی محیط کشت Blood agar کشت مجدد داده شدند و سپس از کلنی تک ایجاد شده بر روی این محیط، برای آزمایش‌های بعدی استفاده شد. برای شناسایی اولیه‌ی ایزوله‌ها از آزمایش‌هایی نظیر سرعت رشد، رنگ‌آمیزی اسید فاست، تولید پیگمان، مورفولوژی کلنی، وجود آنزیم کاتالاز (کاتالاز مقاوم به حرارت و کاتالاز نیمه کمی)، آزمایش تولید نیاسین، احیای نیترات، تست اوره‌آز و هیدرولیز توئین ۸۰ استفاده گردید.

استخراج DNA: در این مرحله، از روش Cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) برای استخراج DNA استفاده شد. به این ترتیب که ۲-۳ لوپ باکتری در ۴۰۰ میکرولیتر Tris-EDTA (TE) یا Ethylenediaminetetraacetic acid-Tris (به خوبی حل گردید، ۳۰ میکرولیتر آنزیم لیزوزیم ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه گردید و پس از ۲ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۱۰ میکرولیتر پرتوئیناز K و ۷۰ میکرولیتر Sodium dodecyl sulfate (SDS) در ۱۰ درصد به نمونه اضافه شد و به خوبی مخلوط گردید.

آن گاه، ۱۵ دقیقه در ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. در مرحله‌ی بعد، ۱۰۰ میکرولیتر NaCl ۵ مولار به نمونه اضافه و

مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس از گروه باکتری‌هایی هستند که می‌توانند از شیر گاو و فراورده‌های آن به انسان منتقل شوند. حضور این باکتری‌ها در شیر گاو، به عنوان یک نگرانی در عرصه‌ی بهداشت عمومی، به ویژه در میان افرادی که شیر خام و فراورده‌های لبنی حاصل از آن را مصرف می‌کنند، می‌باشد (۲). قابل ذکر است که محصولات تولید شده از شیر پاستوریزه نیز می‌توانند حامل NTM باشند و باعث عفونت‌های فرصت‌طلب در انسان و حیوانات شوند (۳-۲).

بررسی میزان فراوانی و انواع گونه‌های رایج مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس در نواحی جغرافیایی و منابع غذایی و مصرفی مختلف، از جنبه‌های اپیدمیولوژی و اپیدمیولوژی مولکولار، دارای اهمیت ویژه‌ای است.

به طور سنتی، NTM از نمونه‌های بالینی و محیطی به وسیله تکنیک‌های کشت، جداسازی و سپس با روش‌های فنوتیپیک و بیوشیمیایی شناسایی می‌شوند؛ در حالی که این روش‌ها ممکن است جهت شناسایی نمونه‌های محیطی مناسب نباشد؛ چرا که شناسایی NTM بر این اساس، ۴-۶ هفته یا بیشتر برای گونه‌هایی با رشد آهسته طول می‌کشد؛ در نتیجه، شناسایی برخی از گونه‌ها با این روش ممکن است میسر نباشد (۴-۵، ۲).

هیبریدیاسیون DNA-DNA، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC یا High-performance liquid chromatography) جهت آنالیز اسید مایکولیک دیواره‌ی سلولی مایکوباکتریوم‌ها، قطعات پلی‌مورف با طول محدود (Restriction fragment length polymorphism یا RFLP) با استفاده از مناطق هدف و ژن‌های مختلف از جمله hsp65، rpo B ITS و gyrB روش‌های مولکولی رایجی هستند که برای شناسایی مایکوباکتریوم‌ها استفاده می‌شوند (۴-۶، ۲).

مطالعات نشان داده است که روش‌های مولکولی بر پایه‌ی Polymerase chain reaction (PCR) قابل اعتمادتر و سریع‌تر برای شناسایی NTM می‌باشند (۷، ۴). علاوه بر آن، مناطق بیش از حد متغیر در مولکول 16S rRNA، ابزار مناسبی برای تشخیص و تعیین مستقیم گونه‌های مختلف مایکوباکتریوم از طریق توالی‌یابی می‌باشد؛ چرا که الگوی حوزه‌ی حفاظت شده و متغیر مولکول 16S rRNA، می‌تواند ابزار منحصر به فردی را ارائه دهد که با انجام تنها یک واکنش تکثیر، به طور تقریبی تمام گونه‌های مایکوباکتریوم شناسایی شوند (۸-۱۰).

در این مطالعه، از روش تعیین توالی ژن 16S rRNA جهت تشخیص و تعیین نوع ایزوله‌های شایع مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس در نمونه‌های شیر دام‌های استان اصفهان استفاده گردید.

## روش‌ها

نمونه‌برداری: در این مطالعه با مراجعه به سه گاوداری صنعتی و دو

مدت ۵ دقیقه در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و در ادامه ۳۵ چرخه به شرح زیر صورت گرفت:

- Denaturation در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه،
- Annealing در ۵۵/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه،
- Extention در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه،
- Eextention نهایی در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه.

جهت تأیید تولید محصول مورد نظر طی فرایند PCR، بخشی از محصول روی ژل آگارز الکتروفورز و محصول PCR از ژل استخراج و جهت تعیین توالی به شرکت Bioneer کره‌ی جنوبی فرستاده شد.

### یافته‌ها

در این مطالعه، تعداد ۹ ایزوله‌ی مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس از بین ۱۱۹ نمونه‌ی شیر جداسازی و شناسایی شد (شکل ۱). بر طبق نتایج آزمایش‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی، هر ۹ ایزوله به عنوان NTM مورد شناسایی قرار گرفتند. از بین ۹ ایزوله‌ی شناسایی شده، ۸ ایزوله متعلق به غیر کروموژن‌های تند رشد بود که در کمتر از ۷ روز رشد کرده و کلنی آن‌ها ظاهر می‌شود و ۱ ایزوله متعلق به اسکوتوکروموژن‌های کند رشد بود که بیش از ۷ روز نیاز به انکوباسیون دارند و در تاریکی تولید پیگمان می‌کنند.

در جدول ۱، نتایج بررسی ویژگی‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی ایزوله‌های جدا شده از شیر دام‌های استان اصفهان آمده است. از بین این ۹ ایزوله به روش تعیین توالی 16S rRNA به صورت رفت و برگشت، ۸ ایزوله *M. fortuitum* نوع I و یک ایزوله *M. gordonae* نوع III بودند.

۱۰۰ میکرولیتر NaCl CTAB که از قبل در دمای ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد گرم شده بود، نیز به آن اضافه شد.

۱۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس، ۷۰۰ میکرولیتر فنل کلروفورم هم حجم به میکروتیوب اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید.

لایه‌ی رویی به میکروتیوب جدید منتقل گردید. ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول سرد به میکروتیوب اضافه و ۳۰ دقیقه در فریزر -۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و ایزوپروپانول دور ریخته شد. سپس به آن ۱ میلی‌لیتر اتانول سرد ۷۰ درصد اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. اتانول با احتیاط دور ریخته شد و الکل اضافه تبخیر گردید.

انجام PCR: با استفاده از مقالات موجود و با مراجعه به بانک ژن، پرایمرهای 16S rRNA به شرح زیر تهیه و مورد استفاده قرار گرفت (۱۰).

16S rRNA F: 5' TGC ACA CAG GCC ACA AGG GA 3'

16S rRNA R: 5' GAG AGT TTG ATC CTG CGT CAG 3'

تکثیر قطعه‌ی مورد نیاز در حجم ۲۵ میلی‌لیتر حاوی ۲ میکرولیتر DNA (۵ نانوگرم genomic DNA)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ پیکومول بر میلی‌لیتر)، ۰/۷۵ میکرولیتر  $MgCl_2$  (۵۰ میلی‌مولار)، ۰/۵ میکرولیتر (dNTP) (۱۰ میلی‌مولار)، ۲/۵ میکرولیتر 10x بافر (۵۰۰ واحد)، ۰/۲۵ میکرولیتر Taq polymerase و ۱۷ میکرولیتر  $H_2O$  بود.

شیوه‌نامه‌ی PCR شامل یک مرحله Denaturation اولیه به

جدول ۱. نتایج آزمایش‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی ایزوله‌های جدا شده از شیر دام‌های استان اصفهان

شماره‌ی ایزوله	گونه‌ی مایکوباکتریوم	اوره‌آز	کاتالاز نیمه کمی	کاتالاز مقاوم به حرارت	احیای نیترات	هیدرولیز توئین ۸۰	نیاسین	سرعت رشد بر حسب روز	تولید پیگمان
۱	<i>M. fortuitum</i> complex	+	+	+	+	-	-	< ۷	-
۲	<i>M. fortuitum</i> complex	+	-	-	-	-	-	< ۷	-
۳	<i>M. fortuitum</i> complex	+	+	+	-	-	-	< ۷	-
۴	<i>M. fortuitum</i> complex	+	+	+	+	-	-	< ۷	-
۵	<i>Mycobacterium</i> .sp	+	+	+	+	+	-	< ۷	-
۶	<i>M. fortuitum</i> complex	+	+	+	-	-	-	< ۷	-
۷	<i>M. fortuitum</i> complex	+	+	+	+	-	-	< ۷	-
۸	<i>M. fortuitum</i> complex	+	+	+	+	-	-	< ۷	-
۹	<i>M. gordonae</i>	-	+	+	+	-	-	> ۷	+

M: Mycobacterium

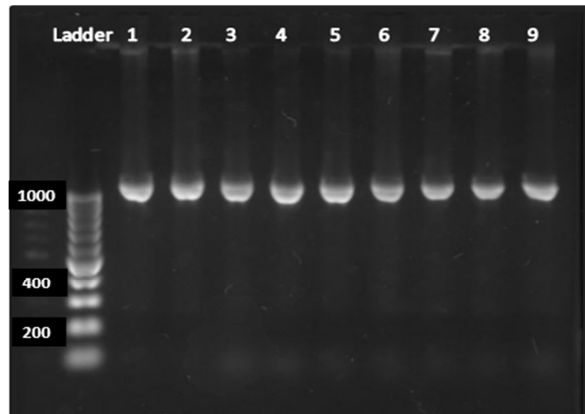
همچنین کارآمد نبودن این گونه آزمایش‌ها برای متمایز کردن، توجه زیادی به روش‌های مولکولی شده است (۱۶-۱۷).

در واقع، شناسایی NTM به روش کشت و ویژگی‌های فنوتیپی که به طور گسترده‌ای استفاده می‌شود، ۴-۶ هفته یا بیشتر برای گونه‌های با رشد آهسته طول می‌کشد و شناسایی برخی از گونه‌ها با روش‌های بیوشیمیایی از دست می‌رود (۴-۵، ۲). مناطق بیش از حد متغیر در مولکول 16S rRNA، ابزار مناسبی است که برای تشخیص و تعیین مستقیم گونه‌های مختلف مایکوباکتریوم پیشنهاد شده است (۸-۹). الگوی حوزه‌ی حفاظت شده و متغیر مولکول 16S rRNA، ابزار مناسب و منحصر به فردی را ارائه می‌دهد که با انجام تنها یک واکنش تکثیر، به طور تقریبی تمام گونه‌های Mycobacterium شناسایی می‌گردند (۱۰).

در این مطالعه، از روش تعیین توالی ژن 16S rRNA جهت تشخیص و تعیین نوع ایزوله‌های شایع مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس نمونه‌های شیر دام‌های اصفهان استفاده گردید. تعداد ۹ ایزوله‌ی مایکوباکتریوم از بین ۱۱۹ نمونه‌ی شیر شناسایی شد. بر طبق نتایج آزمون‌های فنوتیپی، هر ۹ ایزوله به عنوان NTM مورد شناسایی قرار گرفتند. از بین این ۹ ایزوله به روش تعیین توالی 16S rRNA به صورت رفت و برگشت، ۸ ایزوله M. fortuitum نوع I و یک ایزوله M. gordonae نوع III بودند.

در مطالعه‌ای که در ترکیه که بر روی ۳۵ نمونه‌ی شیر خام انجام شد، گونه‌های M. terrae (۶ ایزوله)، M. kansasii (۳ ایزوله)، M. agri (۱ ایزوله) و M. haemophilum (۳ ایزوله) شناسایی شدند. همچنین، دو نمونه‌ی جداسازی شده با پرایمر hsp65 تشخیص داده نشد (۱۸). Sgarioni و همکاران وجود NTM را در ۳۲ نمونه‌ی شیر خام و ۲۰ نمونه‌ی شیر پاستوریزه در برزیل بررسی کردند که ۹ گونه‌ی NTM شامل M. nonchromogenecum، M. fortuitum، M. peregrinum، M. smegmatis، M. neoaurum، M. chelonae، M. flavescens، M. kansasii و M. scrofulaceum مورد شناسایی قرار گرفتند (۱۹).

در مطالعه‌ای که توسط Jordao Junior و همکاران انجام شد، از ۲۳ نمونه‌ی جمع‌آوری شده‌ی شیر بوفالو، تعداد ۱۰ نمونه‌ی NTM شناسایی گردید که شامل M. gordonae (۳ ایزوله)، M. kansasii (۲ ایزوله)، M. flavescens (۲ ایزوله)، M. simiae (۲ ایزوله) و M. lentiflavum (۱ ایزوله) بودند (۲۰). در مطالعه‌ای دیگر در برزیل، از بین ۳۰۰ نمونه‌ی جمع‌آوری شده، تعداد ۲۴ ایزوله‌ی مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس شناسایی شد که شامل ۱۵ ایزوله‌ی منحصر به فرد Mycobacterium bovis، M. gordonae، M. fortuitum، M. intracellulare، M. flavescens،



شکل ۱. تکثیر ژن 16S rRNA به طول ۱۰۲۸ نوکلئوتید از ایزوله‌های مختلف مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس. ستون اول DNA اندازه‌ی نشانگر ۱۰۰ bp، ستون‌های بعدی شامل ایزوله‌های مورد بررسی می‌باشد.

### بحث

NTMها یکی از مهم‌ترین گروه‌های باکتری‌های فرصت طلب مشترک در بین انسان و دام هستند (۱). از مهم‌ترین دلایل اهمیت یافتن مطالعه‌ی مایکوباکتریوم‌های غیر سلولولی، می‌توان به همراه بودن بیماری‌های نقص سیستم ایمنی با عفونت ناشی از مایکوباکتریوم‌های NTM، افزایش میزان شیوع عفونت‌های ریوی ناشی از مایکوباکتریوم‌های غیر سلولولی در افراد Human immunodeficiency virus (HIV) مثبت و در نهایت، افزایش شدن این باکتری‌ها در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی به دلیل پیشرفت‌های فنی اشاره کرد (۱۲).

اگر چه گونه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کمپلکس به عنوان عامل اصلی بیماری‌های ریوی در انسان شناخته شده‌اند، اما امروزه بسیاری از محققین قدرت بیماری‌زایی مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس را کمتر از این دسته نمی‌دانند (۱۳).

در مطالعه‌ی Wongwatana و Sriyabhaya، پتانسیل بیماری‌زایی در مایکوباکتریوم‌های محیطی برای اولین بار مطرح شد و امروزه بیش از یک سوم مایکوباکتریوم‌های غیر طبیعی، مرتبط با بیماری‌های انسانی گزارش شده‌اند (۱۴). گونه‌های مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس، یکی از مهم‌ترین گونه‌های باکتریایی است که می‌تواند از شیر گاو و فراورده‌های آن به انسان منتقل شود. لازم به ذکر است که محصولات تولید شده از شیر پاستوریزه نیز می‌توانند حامل NTM باشند و باعث عفونت‌های فرصت طلب مختلف در انسان و حیوانات شوند (۲-۳).

مصرف سنتی محصولات لبنی خانگی و به خصوص پنیر که از شیر غیر حرارتی تشکیل می‌شود، خطری جدی برای بهداشت عمومی محسوب می‌شود (۱۵، ۲). به دلیل تعدد آزمایش‌های بیوشیمیایی و

16S rRNA برای تعیین توالی مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس جداسازی شده از شیر گاو استفاده شد که توانایی تشخیص ۱۰۰ درصد ایزوله‌های مایکوباکتریوم را دارا بودند.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد محمد حسین رضائیان به شماره‌ی ۳۹۳۱۰۹ می‌باشد که با تأمین اعتبار از معاونت پژوهش و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به انجام رسید. بدین وسیله، نویسندگان مراتب قدردانی و تشکر خود را از این معاونت و کلیه‌ی پرسنل و مدیر محترم گروه میکروبیولوژی دانشکده‌ی پزشکی این دانشگاه اعلام می‌دارند.

*M. immunogenum*, *M. haemophilum*, *M. duvalii*, *M. novocastrense*, *M. mucogenicum*, *M. lentiflavum vaccae* و *M. terrae*, *M. smegmatis*, *M. parafortuitum* بودند (۲).

Mendum و همکاران، برای جداسازی NTM از خاک، ژن 16S rRNA را به دلیل اختصاصی بودن برای جنس مایکوباکتریوم در میان طیف وسیعی از جنس‌های باکتریایی مورد استفاده قرار دادند (۲۱). در مطالعه‌ای که توسط Padya و همکاران برای تعیین گونه‌های مایکوباکتریوم NTM جداسازی شده از گاو صورت گرفته است، نتایج قابل قبولی با استفاده از ژن 16S rRNA به دست آمده است (۲۲). در این مطالعه، از پرایمرهای ۲۶۴ و ۲۸۵ ژن

### References

- Cai L, Chen X, Zhao T, Ding BC, Zhang JZ. Identification of *Mycobacterium marinum* 65 kD heat shock protein gene by polymerase chain reaction restriction analysis from lesions of swimming pool granuloma. *Chin Med J (Engl)* 2006; 119(1): 43-8.
- Franco MM, Paes AC, Ribeiro MG, de Figueiredo Pantoja JC, Santos AC, Miyata M, et al. Occurrence of mycobacteria in bovine milk samples from both individual and collective bulk tanks at farms and informal markets in the southeast region of Sao Paulo, Brazil. *BMC Vet Res* 2013; 9: 85.
- Chye FY, Abdullah A, Ayob MK. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiology* 2004; 21(5): 535-41.
- Konig B, Tammer I, Sollich V, Konig W. Intra- and interpatient variability of the hsp65 and 16S-23S intergenic gene region in *Mycobacterium abscessus* strains from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 2005; 43(7): 3500-3.
- Isfahani BN, Tavakoli A, Salehi M, Tazhibi M. Detection of rifampin resistance patterns in *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Iran by polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism and direct sequencing methods. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101(6): 597-602.
- Harmsen D, Dostal S, Roth A, Niemann S, Rothganger J, Sammeth M, et al. RIDOM: comprehensive and public sequence database for identification of *Mycobacterium* species. *BMC Infect Dis* 2003; 3: 26.
- Covert TC, Rodgers MR, Reyes AL, Stelma GN. Occurrence of nontuberculous mycobacteria in environmental samples. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65(6): 2492-6.
- Bottger EC. Rapid determination of bacterial ribosomal RNA sequences by direct sequencing of enzymatically amplified DNA. *FEMS Microbiol Lett* 1989; 53(1-2): 171-6.
- Edwards U, Rogall T, Blocker H, Emde M, Bottger EC. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Res* 1989; 17(19): 7843-53.
- Kirschner P, Springer B, Vogel U, Meier A, Wrede A, Kiekenbeck M, et al. Genotypic identification of mycobacteria by nucleic acid sequence determination: report of a 2-year experience in a clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 1993; 31(11): 2882-9.
- Balian SC, Pinheiro SR, Guerra JL, Morais ZM, Ferreira F, Ferreira Neto JS. Comparative study of two methods of decontamination of mycobacteria. *Arq Inst Biol, Sao Paulo* 2002; 69(2): 11-4. [In Portuguese].
- Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142(4): 940-53.
- Katoch VM. Infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM). *Indian J Med Res* 2004; 120(4): 290-304.
- Sriyabhaya N, Wongwatana S. Pulmonary infection caused by atypical mycobacteria: A report of 24 cases in Thailand. *Rev Infect Dis* 1981; 3(5): 1085-9.
- Leite CQ, Anno IS, Leite SR, Roxo E, Morlock GP, Cooksey RC. Isolation and identification of mycobacteria from livestock specimens and milk obtained in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98(3): 319-23.
- Saviola B, Bishai W. The genus mycobacterium-medical. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E, editors. *The prokaryotes*. 3<sup>rd</sup> ed. New York, NY: Springer; 2006. p. 919-33.
- Aronson T, Holtzman A, Glover N, Boian M, Froman S, Berlin OG, et al. Comparison of large restriction fragments of *Mycobacterium avium* isolates recovered from AIDS and non-AIDS patients with those of isolates from potable water. *J Clin Microbiol* 1999; 37(4): 1008-12.
- Konuk M, Korcan E, Dulgerbaki S, Altindis M. Isolation and identification of *Mycobacteria* from raw milk samples in Afyonkarahisar district of Turkey. *Int J Food Microbiol* 2007; 115(3): 343-7.



19. Sgarioni SA, Hirata RD, Hirata MH, Leite CQ, de Prince KA, de Andrade Leite SR, et al. Occurrence of *Mycobacterium bovis* and non-tuberculous mycobacteria (NTM) in raw and pasteurized milk in the northwestern region of Parana, Brazil. *Braz J Microbiol* 2014; 45(2): 707-11.
20. Jordao Junior CM, Lopes FC, David S, Farache FA, Leite CQ. Detection of nontuberculous mycobacteria from water buffalo raw milk in Brazil. *Food Microbiol* 2009; 26(6): 658-61.
21. Mendum TA, Chilima BZ, Hirsch PR. The PCR amplification of non-tuberculous mycobacterial 16S rRNA sequences from soil. *FEMS Microbiol Lett* 2000; 185(2): 189-92.
22. Padya L, Chin'ombe N, Magwenzi M, Mbanga J, Ruhanya V, Nziramasanga P. Molecular Identification of *Mycobacterium* Species of Public Health Importance in Cattle in Zimbabwe by 16S rRNA Gene Sequencing. *Open Microbiol J* 2015; 9: 38-42.

## Determination of Nontuberculosis Mycobacteria Species Genotypes Present in Cattle Milk Samples Using 16S rRNA Gene Direct Sequencing

Mohammad Hosein Rezaeyan<sup>1</sup>, Seyed Asghar Havaei<sup>2</sup>, Sharareh Moghim<sup>2</sup>,  
Fateme Riyahi<sup>3</sup>, Hoseinali Rahdar<sup>1</sup>, Meysam Rouzbahani<sup>1</sup>, Bahram Nasr-Esfahani<sup>2</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Nontuberculosis Mycobacterium (NTM) is the most common bacterium transferred to human from cow milk and products. The presence of these bacteria in the cow's milk stands as a public health concern particularly among those individuals consuming raw milk and dairy products. In this study the determination of 16S rRNA gene sequence method was used in order to evaluate the amount of Non tuberculosis Mycobacterium incidence and determine its types in milk samples gathered from Isfahan province.

**Methods:** The cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) and phenol chloroform were used for DNA extraction in isolates recognized as Non tuberculosis Mycobacterium, then using designed primers, 16S rRNA polymerase chain reaction was done and the types were determined after sequencing.

**Findings:** 9 cultures, out of 119 samples gathered from Isfahan farms, were recognized positive in which 8 samples had *M. fortuitum* and one of them was *M. goodnae*.

**Conclusion:** NTM incidence was 8.6% in evaluated milk samples. By using polymerase chain reaction (PCR) with 16SrRNA and sequencing, the fortuitum isolate type I incidence was 88.9% and Gordonae type III incidence was 11.1%. PCR method and sequencing of 16S rRNA gene which were used in this study are able to recognize isolates up to 100%.

**Keywords:** Nontuberculous mycobacteria, Direct Sequencing, 16S rRNA Gene, Determination

**Citation:** Rezaeyan MH, Havaei SA, Moghim Sh, Riyahi F, Rahdar H, Rouzbahani M, Nasr-Esfahani B. **Determination of Nontuberculosis Mycobacteria Species Genotypes Present in Cattle Milk Samples Using 16S rRNA Gene Direct Sequencing.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(373): 175-81

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

2- Assistant Professor, Nosocomial Infection Research Center AND Department of Microbiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- PhD Student, Department of Microbiology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Bahram Nasr-Esfahani PhD, Email: nasr@hlth.mui.ac.ir

## بومی‌سازی راهنمای تشخیص، درمان و پی‌گیری بالینی بیماران دچار ضربه‌ی مغزی جهت استفاده در مراکز درمانی و بیمارستان‌های استان اصفهان

محمدعلی عطاری<sup>۱</sup>، حامد دهستانی اردکانی<sup>۲</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** بر اساس مطالعات و تجربیات قبلی، مراقبت و درمان مدیریت شده در بیماران دچار ضربه‌ی مغزی، به میزان قابل توجهی از میزان شیوع و مرگ و میر ناشی از بیماری می‌کاهد. در عین حال، در حال حاضر یک راه‌کار واحد جهت مدیریت این بیماران وجود ندارد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بومی‌سازی راه‌کارهای تشخیص، درمان و پی‌گیری بالینی بیماران دچار ضربه‌ی مغزی جهت استفاده در مراکز درمانی و بیمارستان‌های استان اصفهان به انجام رسید.

**روش‌ها:** طی یک مطالعه‌ی مقطعی، شش راه‌کار موجود در ارتباط با مدیریت بیماران دچار ضربه‌ی مغزی از مراکز درمانی و دانشگاهی معتبر دنیا، بررسی و مهم‌ترین موارد مرتبط با مدیریت ضربه‌ی مغزی از آن‌ها استخراج گردید. سپس، به صورت چک لیست، نگرش استادان و دستیاران جراحی اعصاب، طب اورژانس و بیهوشی درباره‌ی آن‌ها بررسی شد و نواقص موجود از آن‌ها استخراج و تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** در این مطالعه، ۶ راه‌کار معتبر علمی مورد بررسی قرار گرفت و نگرش ۷۸ نفر از اعضای هیأت علمی و دستیاران تیم درمان، شامل گروه طب اورژانس (۳۰ نفر)، جراحی مغز و اعصاب (۲۸ نفر) و بیهوشی (۲۰ نفر) در ارتباط با آن‌ها سنجیده شد. میانگین نمره‌ی نگرش مصاحبه شونده‌گان در زمینه‌ی ۲۰ مورد بررسی شده  $2/7 \pm 1/5$  با دامنه‌ی ۰-۸ بود و بر حسب آن، نگرش ۱۴ نفر (۱۷/۹ درصد) تطابق عالی با راهنماهای ذکر شده داشت، نگرش ۳۴ نفر (۴۳/۶ درصد) تطابق نسبی، نگرش ۲۷ نفر (۳۴/۶ درصد) تطابق قابل قبول و نگرش ۳ نفر (۳/۸ درصد) تطابق ضعیف با راهنمای بررسی شده داشت.

**نتیجه‌گیری:** نحوه‌ی مدیریت و درمان بیماران دچار ضربه‌ی مغزی در مراکز درمانی و بیمارستان‌های اصفهان نظام‌مند نیست و در بسیاری موارد، عملکرد تیم درمانی مطابق راهنماهای جهانی نمی‌باشد که این امر، علاوه بر افزایش خطر شیوع بیماری و مرگ و میر ناشی از آن، منجر به هدر رفت زمان و تحمیل هزینه‌های اضافی درمان بر بیمار و سیستم درمانی می‌گردد. از این رو، لازم است یک تیم درمانی مجرب متشکل از متخصصین جراحی اعصاب، بیهوشی و طب اورژانس، راهنماهای جهانی در زمینه‌ی مدیریت بیماران دچار ضربه‌ی مغزی را مورد بررسی قرار دهند و راه‌کارهای درمانی موجود را بازنگری کنند و در نهایت، راهنمایی مطابق مطالعات تجربیات جدید، تدوین نمایند.

**واژگان کلیدی:** ضربه‌ی مغزی، راه‌کار، تیم درمان

**ارجاع:** عطاری محمدعلی، دهستانی اردکانی حامد. بومی‌سازی راهنمای تشخیص، درمان و پی‌گیری بالینی بیماران دچار ضربه‌ی مغزی جهت

استفاده در مراکز درمانی و بیمارستان‌های استان اصفهان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۷۳): ۱۸۹-۱۸۲

شدید قرار دارند و بیشتر آن‌ها به طور معمول هوشیار هستند و با درجات مختلفی از علائم عصبی در دسته‌ی خفیف و متوسط قرار دارند (۵).

درصد کمی از این بیماران، در Computed tomography scan (CT scan)، دارای آسیب‌های داخل جمجمه‌ای هستند و درصد کمتری از آن‌ها، نیاز به مداخلات جراحی مغز و اعصاب دارند (۶-۷). در دهه‌ی گذشته، بر اساس معاینه‌ی فیزیکی و شرح

### مقدمه

ضربه‌ی مغزی، یکی از شایع‌ترین علل بستری در اورژانس است (۱). بیش از ۱ میلیون نفر در سال در آمریکا و انگلیس دچار ضربه‌ی مغزی می‌شوند (۲-۳) و دو سوم مرگ و میر بیماران دچار تروما، ناشی از ضربه‌ی مغزی است (۴). بیماران ضربه‌ی مغزی به ۳ دسته‌ی خفیف، متوسط و شدید طبقه‌بندی می‌شوند. تعداد کمی از این بیماران با Glasgow coma scale (GCS) بین ۳-۸ در دسته‌ی

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

Email: hameddehestani@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤول: حامد دهستانی اردکانی

علوم پزشکی اصفهان و به منظور مقایسه‌ی وضعیت تشخیصی، درمانی و پی‌گیری موجود در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان برای بیماران دچار ضربه‌ی مغزی با راهنماهای بین‌المللی و تهیه‌ی یک راهنمای طبابت بالینی بومی‌سازی شده جهت استفاده در مراکز درمانی و بیمارستان‌های استان اصفهان انجام شد.

جامعه‌ی هدف این مطالعه، راهنماهای تشخیصی، درمان و پی‌گیری بالینی بیماران دچار ضربه‌ی مغزی در کشورهای مختلف بودند. حیطه‌های عمده‌ی راهنما، تشخیص و درمان این بیماران است.

معیارهای ورود به مطالعه شامل راهنمای مربوط به تشخیص، درمان و پی‌گیری بیماران دچار ضربه‌ی مغزی، اخذ راهنما از سایت‌های معتبر و قابل اعتماد و در دسترس بودن متن کامل راهنما بود.

این مطالعه، به شیوه‌ی سرشماری صورت گرفت و طی آن، کل راهنماهای موجود در سایت‌های اینترنتی معتبر که از سال ۲۰۱۰ به بعد در دسترس بودند، انتخاب و بررسی شدند.

روش کار بدین صورت بود که با مراجعه‌ی پژوهشگر به سایت‌های معتبر دانشگاهی و بیمارستانی، راهنماهای ارائه شده در زمینه‌ی مدیریت بیماران دچار ضربه‌ی مغزی جستجو شدند و مراحل مختلف مدیریت این بیماران از آن‌ها استخراج شد. در نهایت، چک لیستی مشتمل بر ۲۰ اقدام اساسی که در راهنماهای جدید بر لزوم انجام یا عدم انجام آن‌ها تأکید شده بود، تهیه گردید و نظرات تیم درمان ضربه‌ی مغزی شامل دستیاران و متخصصین جراحی اعصاب، بیهوشی و طب اورژانس در ارتباط با آن‌ها بررسی شد.

پاسخ‌های ارائه شده در زمینه هر گزینه به صورت تطابق با راهنما و عدم تطابق با راهنما دسته‌بندی شدند. در صورتی که گزینه‌ی انتخابی توسط پاسخ دهنده با راهنما مطابقت داشت، به آن امتیاز ۱ و در صورت عدم تطابق، صفر در نظر گرفته شد و در نهایت، امتیاز هر یک از پاسخ دهندگان از جمع پاسخ‌ها به دست آمد.

در صورتی که امتیاز هر یک از پاسخ دهندگان بین ۲۰-۱۷ بود، به عنوان تطابق عالی با راهنما، نمرات ۱۶/۹-۱۵ به عنوان تطابق مطلوب، نمرات ۱۴/۹-۱۰ به عنوان تطابق قابل قبول (نسبی) و نمرات کمتر از ۱۰ به عنوان تطابق ضعیف با راهنما در نظر گرفته شد.

در نهایت، با توجه به میزان تطابق نظرات پزشکان و دستیاران با راهنماها، وضعیت موجود در دانشگاه علوم پزشکی نسبت به راهنماهای معتبر مقایسه شد.

در ادامه‌ی طرح، راهنمای اولیه نوشته شد و سپس توسط تیم علمی متشکل از متخصصین بیهوشی، جراحی مغز و اعصاب و طب اورژانس مطالعه و بررسی گردید. در پایان، توصیه‌ها و راهکارهای بالینی بر اساس جمعیت و شرایطی که راهنما در آن اجرا می‌شود، بومی‌سازی گردید.

حال بیمار، CT scan درخواست می‌شد (۶) و از راهکارهای خاصی پیروی نمی‌گردید و این امر، باعث افزایش خطر بروز سرطان ناشی از CT scan تا حدود ۱ مورد در ۱۰۰۰۰-۵۰۰۰ مورد شد (۸). همچنین، در بیماران دچار ضربه‌ی مغزی شدید، مداخلات درمانی و روش‌های مراقبت و نظارت، مختلف و بسیار متنوع هستند (۹) که مداخلات مرسوم، شامل برقراری راه هوایی، تنفس و گردش خون، ونتیلاسیون، مراقبت و پایش سیستم همودینامیک، کنترل فشار داخل مغزی و ... می‌باشد که اندازه‌ها و مقادیر بسیار متغیری برای آن‌ها توصیه شده است (۱۰).

مطالعات اخیر در اروپا و انگلیس، اختلاف گسترده در درمان بیماران دچار ضربه‌ی مغزی شدید را ثابت کرده است (۱۱). راهنماهای طبابت بالینی که به اختصار راهنماهای بالینی نیز نامیده می‌شوند، توصیه‌های ساختارمندی به منظور کمک به بیماران در مواجهه با یک شرایط بالینی خاص هستند. این راهنماها، به منظور بهبود کیفیت ارائه‌ی خدمات برای بیماران، ارائه‌ی اطلاعات مناسب برای تشخیص و یا درمان‌های خاص، ارتقای سلامت و جلوگیری از تحمیل هزینه‌های اضافه طراحی می‌گردند (۱۲). راهنماها با هدف کاهش اختلافات و تنوع در درمان ایجاد شده‌اند (۱۳). راهنمای درمان بیماران دچار ضربه‌ی مغزی اولین بار در سال ۱۹۸۴ توسط گروهی از جراحان مغز و اعصاب شکل گرفت (۱۴). اجرای یک راهنما در بیمارستان فرنچی انگلستان برای بیماران دچار ضربه‌ی مغزی شدید، باعث کاهش چشمگیر مرگ و میر شد. مرگ و میر در بخش مراقبت‌های ویژه از ۱۹/۹۵ درصد به ۱۲/۵۰ درصد و در بیمارستان از ۲۴/۵۵ درصد به ۲۰/۸۰ درصد کاهش یافت (۱۵).

بومی‌سازی راهنماها به معنی انتخاب راهنماهای معتبر و سپس بازنویسی و به اصطلاح بومی‌سازی آن متناسب با شرایط موجود می‌باشد (۱۲). اهمیت درمان بیماران دچار ضربه‌ی مغزی و عدم وجود یک راهنمای مورد توافق در این زمینه در مراکز درمانی و بیمارستان‌های استان اصفهان، نشان دهنده‌ی لزوم تدوین یک راهنمای بومی‌سازی شده می‌باشد. در نهایت، این راهنما، یک راهنمای بومی‌سازی شده است که با پیشنهاد مدیران درمانی استان و ریاست بیمارستان الزهرای (س) اصفهان مبنی بر ضرورت تدوین یک راهنمای بومی‌سازی شده برای استفاده در دیگر مراکز درمانی و بیمارستان‌های استان اصفهان تدوین گردید. این راهنما، با بهره‌گیری از راهنماهای معتبر موجود و منابع علمی تدوین شده و بر اساس نظرات متخصصان و شرایط موجود در محل بومی‌سازی گردید.

## روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه‌ی مقطعی بود که در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه

تعداد قابل توجهی مطالعه و تحقیق، بر ۱۳ راه‌کار اصلی استوار است که آمار مقالات و منابع مربوط در جدول ۱ آمده است.

نتایج حاصل از راهنماهای پیش‌گفته، حاکی از لزوم انجام اقدامات زیر در مدیریت بیماران دچار ضربه‌ی مغزی است:

۱- در بیماران دچار ضربه‌ی مغزی، معاینه‌ی فیزیکی تمام بدن لازم است.

۲- برای تمامی بیماران دچار ضربه‌ی مغزی، درخواست گرافی گردن لازم نیست.

۳- برای بیماران دچار ضربه‌ی مغزی با  $GCS > 13$ ، انجام CT scan مغزی لازم نیست.

۴- درخواست CT scan برای بیماران با  $GCS > 13$  لازم می‌باشد.

۵- برای مایع درمانی نگهدارنده، استفاده از محلول نرمال سالین ارجحیت دارد.

۶- بیماران باید در وضعیت Head up (۲۰-۳۰ درجه) قرار گیرد.

۷- جهت کاهش فشار داخل مغزی، نباید فشار خون سیستول بیمار به کمتر از ۹۰ میلی‌متر جیوه تقلیل داده شود.

۸- اشباع اکسیژن خون بیمار باید در حد بالاتر از ۹۰ درصد نگه داشته شود.

۹- Partial pressure of carbon dioxide (Paco2) بیمار باید در حد ۳۵-۳۰ میلی‌متر جیوه نگه داشته شود.

این راهنما، پس از تأیید مسئولین دانشگاه، نظام پزشکی، گروه بیهوشی، گروه جراحی مغز و اعصاب و طب اورژانس، به صورت پوستر و خلاصه و با کسب مجوز تکثیر می‌شود و در یکی از مجلات علمی- پژوهشی چاپ می‌گردد.

داده‌های مطالعه بعد از جمع‌آوری وارد رایانه شد. آمارهای توصیفی (نمودار و میانگین) با استفاده از نرم‌افزار Excel و آمارهای تحلیلی با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) مورد بررسی و تحلیل قرار می‌گیرد.

### یافته‌ها

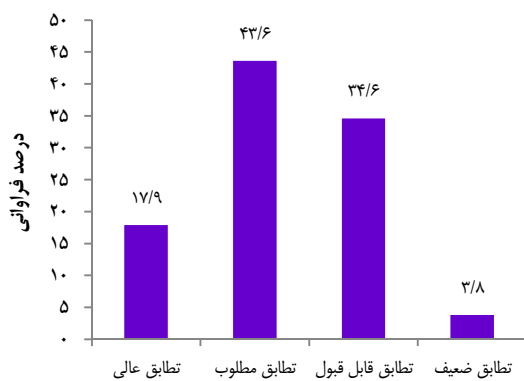
در این مطالعه، ۶ راهنمای معتبر جهانی در خصوص مدیریت بیماران مبتلا به ضربه‌ی مغزی به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت (۱۶):

- 1- Guidelines for the Pre-hospital Management of Severe Traumatic Brain Injury, Second Edition
- 2- The Management of Severe Traumatic Brain Injury, 3<sup>rd</sup> edition
- 3- Guidelines for the Surgical Management of Traumatic Brain Injury
- 4- Guidelines for the Acute Medical Management of Severe Traumatic Brain Injury in Infants, Children, and Adolescents-Second Edition
- 5- Guidelines for the Field Management of Combat Related Head Trauma
- 6- Early Indicators of Prognosis in Severe Traumatic Brain Injury

در این راهنماها، مدیریت بیماران دچار ضربه‌ی مغزی بر اساس

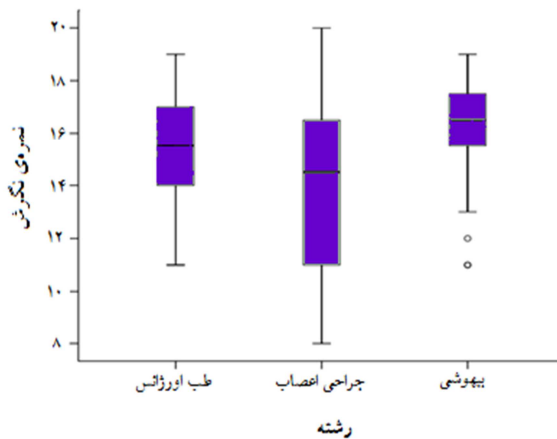
جدول ۱. فراوانی مطالعات و راهنماهای ارایه شده در رابطه با بیماران دچار ضربه‌ی مغزی

عنوان	مطالعات تمام متن	خلاصه‌ی مقالات	کتاب	درج شده در راهنماهای قبلی	درج شده در راهنماهای جدید
فشار خون و اکسیژن‌رسانی	۳۶۶	۱۷۱	۱۷	۱۸	۳
هایپر اسمولار تراپی	۳۶۴	۲۰۵	۴۲	۹	۲
پیش‌گیری از هیپوترمی	۸۸	۷۱	۲۹	جدید	۶
پیش‌گیری از عفونت	۹۵۷	۲۱۶	۵۴	جدید	۷
پیش‌گیری از ترومبوز وریدهای عمقی	۱۵۵	۶۴	۳۷	جدید	۵
نشانگرهای مربوط به مراقبت از فشار داخل مغزی	۲۴۱	۱۸۲	۳۶	۶	۱۰
تکنولوژی کنترل فشار داخل مغزی	۱۸۷	۱۱۳	۳۹	۲۱	۷
درمان فشار داخل مغزی	۱۰۷	۷۰	۱۰	۶	۳
پرفیوژن فشار مغزی	۲۹۷	۲۰۹	۴۸	۵	۶
پاین و درمان اکسیژن‌رسانی مغز	۸۰۷	۶۰۷	۲۱۷	جدید	۱۲
هوشبرها، ضد دردها و آرام‌بخش‌ها	۷۷۳	۳۹۷	۹۲	۳	۱
تغذیه	۱۷۹	۸۷	۳۳	۱۱	۴
پیش‌گیری از تشنج	۱۸۶	۵۳	۱۰	۴	۱
تهویه مکانیکی	۷۷۲	۳۰۲	۲۳	۵	۲
استفاده از استروئید	۲۸۱	۶۲	۱۴	۶	۲



تطابق نگرش اعضای هیأت علمی با راهنماها

شکل ۱. درصد فراوانی تطابق نگرش اعضای هیأت علمی با راهنماهای مدیریت بیماران دچار ضربه‌ی مغزی



شکل ۲. میانگین، دامنه و صدک‌های ۲۵ و ۷۵ نمره‌ی نگرش اعضای هیأت علمی بر حسب رشته‌ی تخصصی

در شکل ۳، درصد فراوانی میزان تطابق نظرات استادان و دانشجویان در خصوص مدیریت بیمار دچار ضربه‌ی مغزی به تفکیک تک تک موارد آمده است. بر حسب این شکل، نگرش استادان و دستیاران در زمینه‌ی تجویز داروی ضد تشنج، نوع محلول مورد استفاده جهت مایع درمانی نگهدارنده و لزوم انجام CT scan برای بیماران با ضربه‌ی مغزی متوسط و شدید با راهنماهای بررسی شده به طور کامل مطابقت داشت. در مقابل، لزوم انجام معاینه‌ی کامل بدن (۱۶/۷ درصد)، درمان جایگزینی کالری (۴۸/۷ درصد) و حفظ سطح اشباع اکسیژن خون (۵۰/۰ درصد) کمترین تطابق را با راهنماهای بررسی شده داشت.

۱۰- حداقل Paco2 برای بیماران ۶۰ درصد است.

۱۱- برای کاهش Intracranial pressure (ICP) می‌توان از دیورتیک استفاده نمود.

۱۲- برای پیش‌گیری از تشنج، می‌توان از داروی ضد تشنج استفاده کرد.

۱۳- در بیماران دچار ضربه‌ی مغزی، می‌توان از داروی آرام‌بخش استفاده نمود.

۱۴- استفاده از داروهای کاهنده‌ی متابولیسم مغز مجاز می‌باشد.

۱۵- استفاده از استروئیدها در بیماران دچار ضربه‌ی مغزی مجاز نیست.

۱۶- در بیماران دچار ضربه‌ی مغزی درمان جایگزینی کالری مجاز می‌باشد.

۱۷- استفاده از داروی آنتی‌اسید در بیماران دچار ضربه‌ی مغزی مجاز است.

۱۸- استفاده از داروی ضد استفراغ در بیماران دچار ضربه‌ی مغزی مجاز است.

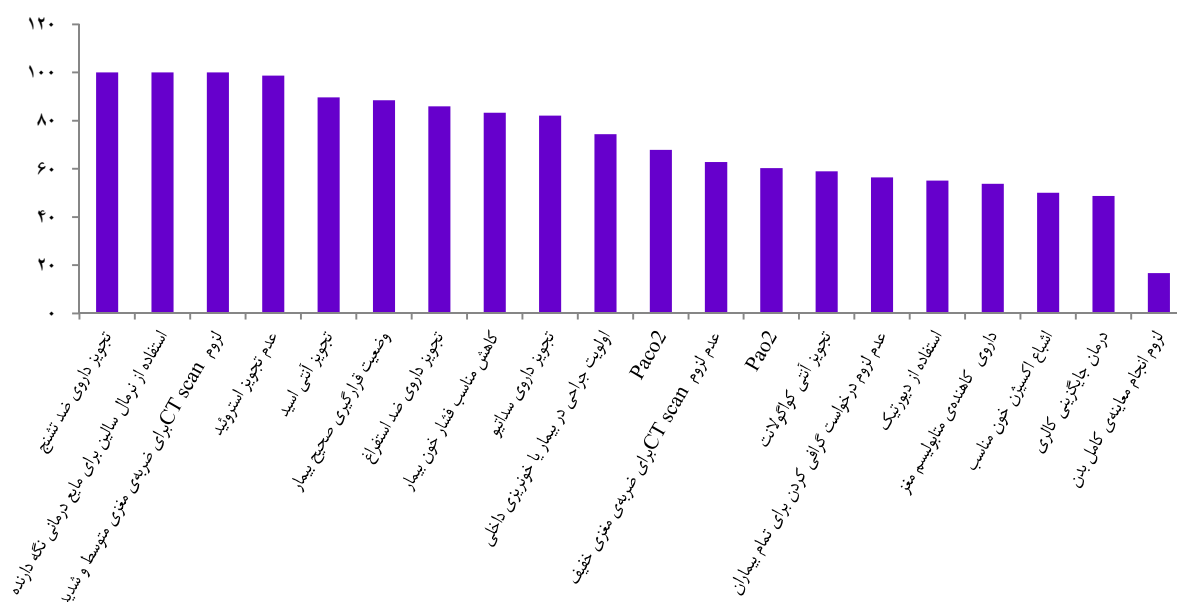
۱۹- در بیماران دچار ضربه‌ی مغزی، استفاده از آنتی‌کواگولانت مجاز است.

۲۰- در صورت وجود خونریزی داخلی، عمل جراحی لاپاراتومی نسبت به کرایوتومی اولویت دارد.

در ارتباط با مطالب پیش‌گفته، چک لیستی مشتمل بر ۲۰ سؤال از مطالب ذکر شده تهیه شد و توسط ۷۸ نفر از اعضای هیأت علمی و دستیاران گروه‌های طب اورژانس (۳۰ نفر)، جراحی مغز و اعصاب (۲۸ نفر) و بیهوشی (۲۰ نفر) تکمیل شد.

میانگین سطح امتیاز کسب شده توسط مصاحبه‌شوندگان،  $15/0 \pm 2/7$  با دامنه‌ی ۸-۲۰ بود و بر حسب آن، نگرش ۱۴ نفر (۱۷/۹ درصد) تطابق عالی با راهنماهای ذکر شده داشت، نگرش ۳۴ نفر (۴۳/۶ درصد) تطابق نسبی، نگرش ۲۷ نفر (۳۴/۶ درصد) تطابق قابل قبول و نگرش ۳ نفر (۳/۸ درصد) تطابق ضعیف با راهنماهای بررسی شده داشت (شکل ۱).

میانگین نمره‌ی نگرش اعضای هیأت علمی و دستیاران طب اورژانس، جراحی مغز و اعصاب و بیهوشی به ترتیب  $15/3 \pm 2/3$ ،  $14/0 \pm 3/3$  و  $16/0 \pm 2/4$  بود و طبق آزمون One-way ANOVA، نمره‌ی نگرش بر حسب رشته‌ی تخصصی اختلاف معنی‌داری داشت ( $P = 0/040$ ). در شکل ۲، میانگین، دامنه و صدک‌های ۲۵ و ۷۵ نمره‌ی نگرش اعضای هیأت علمی بر حسب رشته‌ی تخصصی آمده است.



شکل ۳. درصد فراوانی میزان تطابق نگرش استادان و دستیاران با راهنماها در مورد مدیریت بیماران دچار ضربه‌ی مغزی

بیمارستان‌های استان اصفهان به انجام رسید.

در این مطالعه، ۵ راهنمای معتبر جهانی در ارتباط با مدیریت بیماران دچار ضربه‌ی مغزی مورد بررسی قرار گرفت و موارد اساسی مراقبت و درمان از آن‌ها استخراج گردید که این اقدامات شامل ۱۳ اقدام اساسی مورد نیاز در این بیماران نظیر کنترل فشار خون و اکسیژن‌رسانی بیمار، حفظ تعادل آب و الکترولیت، پیش‌گیری از هیپوترمی و عفونت، پیش‌گیری از اختلالات انعقادی، کنترل فشار داخل مغز، مراقبت و پایش اکسیژن‌رسانی مغزی، اقدامات مربوط به بیهوشی و کنترل درد و آرام‌بخشی، نحوه‌ی تغذیه، پیش‌گیری از تشنج و اختلالات گوارشی و کلیوی، و نتیلاسیون و نحوه‌ی استفاده از استروئیدها بود که طبق مطالعات جدید که در جدول ۱ به آن‌ها اشاره گردید، برخی از این اقدامات منسوخ و برخی تقویت شده است.

به عنوان نمونه، نحوه‌ی پیش‌گیری از هیپوترمی، عفونت و ترومبوز وریدهای عمقی و پایش اکسیژن‌رسانی مغزی، از اقداماتی است که به تازگی مورد توجه قرار گرفته است.

بررسی نگرش استادان و دستیاران سه رشته‌ی مرتبط با بیماران دچار ضربه‌ی مغزی یعنی جراحی مغز و اعصاب، بیهوشی و طب اورژانس در خصوص نحوه‌ی مدیریت این بیماران نشان داد که از ۲۰ گزینه‌ی مورد بررسی، در سه مورد (۱۵ درصد) نگرش تیم متشکل از سه رشته‌ی پیش‌گفته، با راهنمای بین‌المللی به طور کامل مطابق بود، در ۶ مورد (۳۰ درصد) بین ۹۰-۸۰ درصد، در ۹ مورد (۴۵ درصد) بین ۷۹-۵۰ درصد و در ۲ مورد (۱۰ درصد) کمتر از

## بحث

مدیریت صحیح بیماران بدحال، مهم‌ترین راه‌کار موفقیت درمان و پیش‌آگهی بیماری محسوب می‌گردد؛ به طوری که بیمارانی که با یک سیستم درمانی مدیریت شده تحت درمان قرار می‌گیرند، تمامی اقدامات درمانی و مراقبتی را مطابق با اصول فنی و تخصصی به‌موقع دریافت می‌دارند و این امر، موجب می‌گردد تا از اعمال سلاقی شخصی توسط متخصصین مختلف پیش‌گیری گردد. در این راستا، بیماران مبتلا به ضربه‌ی مغزی، به عنوان مهم‌ترین گروه نیازمند مدیریت درمانی و مراقبتی تلقی می‌گردند (۱۲). در حال حاضر، در بسیاری از کشورها، راهنماهایی به منظور اعمال مدیریت صحیح بیماران مبتلا به ضربه‌ی مغزی تهیه و به اجرا گذاشته شده است و بر حسب مطالعات و تجربیات جدید، این راهنماها همواره به روز می‌شوند.

در مقابل، در برخی کشورها و مناطق، راهنما و برنامه‌ی تدوین شده و قانونمندی برای مدیریت بیماران دچار ضربه‌ی مغزی وجود ندارد و به خصوص در بیمارستان‌های شهرستانی، مجموع اقدامات درمانی و مراقبتی با نظر و سلیقه‌ی متخصصین این مراکز انجام می‌گیرد که گاهی ممکن است نظرات آن‌ها مطابق با علوم و تجربیات جدید نباشد. از این رو، با توجه به عدم وجود راهنمای مناسب و قانونمند در بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مطالعه‌ی حاضر با هدف بومی‌سازی راهنمای تشخیص، درمان و پی‌گیری بالینی بیماران دچار ضربه‌ی مغزی جهت استفاده در مراکز درمانی و

۵۰ درصد توافق وجود دارد.

بر حسب نتایج مطالعه‌ی حاضر، معاینات کامل فیزیکی و نحوه‌ی تغذیه در بیماران دچار ضربه‌ی مغزی، از مهم‌ترین موارد اختلاف بین عملکرد تیم درمانی با راهنماها می‌باشد؛ به طوری که ۸۳/۳ درصد پزشکان ما اعتقاد به لزوم انجام معاینات فیزیکی کامل نداشتند. همچنین، نحوه‌ی تغذیه‌ی بیماران، درمان جایگزینی کالری مورد نیاز (Full caloric replacement) و سطح مورد نیاز اشباع اکسیژن خون، از مواردی است که عملکرد تیم درمانی ما با راهنماها، اختلاف عمده‌ای دارد؛ به طوری که ۵۱/۳ درصد پزشکان ما، به لزوم Full caloric replacement اعتقاد ندارند. همچنین، درصد مورد نیاز اشباع اکسیژن خون در حد ۹۵ درصد بود، در حالی که در راهنماها، سطح ۹۰ درصد پیشنهاد شده است. نحوه‌ی استفاده از داروهای کاهنده‌ی متابولیسم مغزی، نحوه‌ی استفاده از دیورتیک‌ها، موارد لزوم CT scan مغزی و گرافی گردن و استفاده از آنتی‌کوآگولانت‌ها، از دیگر موارد مورد اختلاف بود.

یک مطالعه‌ی مروری نشان داده است که میزان مرگ و میر در بیماران دچار ضربه‌ی مغزی که با یک مدیریت برنامه‌ریزی شده و بر اساس راهنمای مدون، مورد مراقبت و درمان قرار گرفته‌اند، بسیار پایین‌تر بوده است (۱۷). همچنین، در مطالعه‌ی دیگری مشاهده شده است که میزان موفقیت درمان در بیماران دچار آسیب قلبی - عروقی

غیر نافذ که تحت معیارهای نظام‌مند تحت درمان قرار گرفته‌اند، بالاتر بوده است (۱۸).

برابر نتایج این مطالعه، نحوه‌ی مدیریت و درمان بیماران دچار ضربه‌ی مغزی در مراکز درمانی و بیمارستان‌های اصفهان نظام‌مند نیست و در بسیاری موارد، عملکرد تیم درمانی مطابق راهنماهای جهانی نمی‌باشد که این عمر، علاوه بر افزایش خطر شیوع بیماری و مرگ و میر ناشی از آن، منجر به هدر رفت زمان و تحمیل هزینه‌های اضافی درمان بر بیمار و سیستم درمانی می‌گردد. از این رو، لازم است راهنماهای جهانی در زمینه‌ی مدیریت بیماران دچار ضربه‌ی مغزی توسط یک تیم درمانی مجرب متشکل از متخصصین جراحی اعصاب، بیهوشی و طب اورژانس مورد بررسی قرار گیرد و راهکارهای درمانی موجود، تحت بازنگری قرار گیرد و راهنمایی مطابق مطالعات و تجربیات جدید، تدوین و به اجرا گذاشته شود.

### تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکتری عمومی آقای حامد دهستانی اردکانی است که در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی تصویب و با حمایت‌های این معاونت به انجام رسید. از این رو، نویسندگان مقاله و از زحمات ایشان تقدیر و تشکر می‌نمایند.

### References

- Cassidy JD, Carroll LJ, Peloso PM, Borg J, von Holst H, Holm L, et al. Incidence, risk factors and prevention of mild traumatic brain injury: results of the WHO Collaborating Centre Task Force on Mild Traumatic Brain Injury. *J Rehabil Med* 2004; (43 Suppl): 28-60.
- Saab M, Gray A, Hodgkinson D, Irfan M. Warfarin and the apparent minor head injury. *J Accid Emerg Med* 1996; 13(3): 208-9.
- Rutland-Brown W, Langlois JA, Thomas KE, Xi YL. Incidence of traumatic brain injury in the United States, 2003. *J Head Trauma Rehabil* 2006; 21(6): 544-8.
- Soreide K, Kruger AJ, Vardal AL, Ellingsen CL, Soreide E, Lossius HM. Epidemiology and contemporary patterns of trauma deaths: Changing place, similar pace, older face. *World J Surg* 2007; 31(11): 2092-103.
- Ingebrigtsen T, Romner B, Kock-Jensen C. Scandinavian guidelines for initial management of minimal, mild, and moderate head injuries. The Scandinavian Neurotrauma Committee. *J Trauma* 2000; 48(4): 760-6.
- Haydel MJ, Preston CA, Mills TJ, Luber S, Blaudeau E, DeBlieux PM. Indications for computed tomography in patients with minor head injury. *N Engl J Med* 2000; 343(2): 100-5.
- af Geijerstam JL, Britton M. Mild head injury-mortality and complication rate: Meta-analysis of findings in a systematic literature review. *Acta Neurochir (Wien)* 2003; 145(10): 843-50.
- Smith-Bindman R, Lipson J, Marcus R, Kim KP, Mahesh M, Gould R, et al. Radiation dose associated with common computed tomography examinations and the associated lifetime attributable risk of cancer. *Arch Intern Med* 2009; 169(22): 2078-86.
- Chesnut RM. Medical management of severe head injury: Present and future. *New Horiz* 1995; 3(3): 581-93.
- Ghajar J, Hariri RJ, Narayan RK, Iacono LA, Firlirk K, Patterson RH. Survey of critical care management of comatose, head-injured patients in the United States. *Crit Care Med* 1995; 23(3): 560-7.
- Wilkins IA, Menon DK, Matta BF. Management of comatose head-injured patients: are we getting any better? *Anaesthesia* 2001; 56(4): 350-2.
- Hadizadeh F, Kabiri P, Kelishadi R. Guide to clinical guideline development and adaptation. Isfahan, Iran: Isfahan University of Medical Sciences; 2010. [In Persian].
- Grimshaw JM, Russell IT. Effect of clinical guidelines on medical practice: A systematic review of rigorous evaluations. *Lancet* 1993; 342(8883): 1317-22.



14. Madhok R, Thomson RG, Mordue A, Mendelow AD, Barker J. An audit of distribution and use of guidelines for management of head injury. *Qual Health Care* 1993; 2(1): 27-30.
15. Clayton TJ, Nelson RJ, Manara AR. Reduction in mortality from severe head injury following introduction of a protocol for intensive care management. *Br J Anaesth* 2004; 93(6): 761-7.
16. Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2007; 24(Suppl 1): S1-106.
17. Maloney-Wilensky E, Gracias V, Itkin A, Hoffman K, Bloom S, Yang W, et al. Brain tissue oxygen and outcome after severe traumatic brain injury: A systematic review. *Crit Care Med* 2009; 37(6): 2057-63.
18. Emmett KP, Fabian TC, DiCocco JM, Zarzaur BL, Croce MA. Improving the screening criteria for blunt cerebrovascular injury: the appropriate role for computed tomography angiography. *J Trauma* 2011; 70(5): 1058-63.

## Nativation of Diagnosis, Treatment and Clinical Prevention of Head Trauma Guideline for Using in Isfahan Hospitals

Mohammadali Attari<sup>1</sup>, Hamed Dehestani-Ardakani<sup>2</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Previous studies showed that managed surveillance and treatment have a considerable effect on decreasing the mortality and morbidity in head trauma patients. But there isn't a validated guideline in Iran. Thus, the aim of this study was nativation of diagnosis, treatment and clinical prevention of head trauma guideline for using in Isfahan hospitals.

**Methods:** In a cross sectional study, 6 validated guidelines for management of head trauma were studied and the most important head lines were extracted and then, attitude of resident and attends of treatment groups including neurosurgery, anesthesia and emergency medicine was given and the agreement between treatment group and guideline was analyzed.

**Findings:** In this study, six guidelines were studied and attitude of 78 persons of treatment group of head trauma including 30 persons from emergency medicine ward, 28 persons from neurosurgery ward and 20 persons from anesthesiology ward were compared with the guidelines. The mean  $\pm$  SD of enter viewed staff was  $15.0 \pm 2.7$  (range: 8-20) and based on that, attitude of 14(17.9%) had excellent agreement, 34(43.6%) had good agreement, 27(34.6%) had acceptable agreement and 3(3.8%) had weak agreement with the guide lines.

**Conclusion:** According to the results of this study, management of head trauma treatment is not programmed and in several stages was not approved and this practice may lead to higher risk of morbidity and mortality and additive hospital cost. So, treatment methods, surveillance and treatment of head trauma patients must be revised.

**Keywords:** Head trauma, Guide line, Treatment group

**Citation:** Attari M, Dehestani-Ardakani H. Nativation of Diagnosis, Treatment and Clinical Prevention of Head Trauma Guideline for Using in Isfahan Hospitals. J Isfahan Med Sch 2016; 34(373): 182-9

1- Professor, Anesthesiology and Critical Care Research Center, 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:** Hamed Dehestani-Ardakani, Email: hameddehestani@gmail.com

## بررسی تأثیر دو وضعیت مفصل شانه (وضعیت ۹۰ و صفر درجه‌ی Abduction) حین عمل بای‌پس عروق کرونر بر سرعت هدایت اعصاب در بیماران مبتلا به دیابت

محمد حسینی فر<sup>۱</sup>، زین‌العابدین مجاهد<sup>۲</sup>، محسن میر محمد صادقی<sup>۳</sup>، حمید آزاده<sup>۴</sup>

### مقاله کوتاه

### چکیده

**مقدمه:** هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر وضعیت شانه حین عمل بای‌پس عروق کرونر بر علائم بالینی و سرعت هدایت عصبی اعصاب اندام فوقانی در افراد مبتلا به دیابت بود.

**روش‌ها:** در این کارآزمایی بالینی، ۲۰ نفر بیمار مبتلا به دیابت که کاندیدای عمل قلب باز بودند، به صورت تصادفی به دو گروه شاهد و مورد تقسیم شدند. در گروه مورد، دست در حین عمل در حالت باز (۹۰ درجه) و در گروه شاهد دست در کنار بدن (صفر درجه) قرار می‌گرفت. آزمون‌های الکترودیآگنوزیس شامل بررسی دامن‌ی موج و سرعت هدایت حسی و حرکتی اعصاب Radial، Median و Ulnar دست چپ بود. معاینات بالینی شامل بررسی کرختی و پارستزی (خواب رفتگی) هر دو دست بود.

**یافته‌ها:** مقایسه‌ی میانگین تغییرات آمپلی‌تود و سرعت هدایت عصبی اعصاب Radial، Median و Ulnar در گروه شاهد بعد از مداخله برای همه‌ی متغیرها تغییر معنی‌داری نشان داد ( $P < 0/05$ ). میانگین تغییرات آمپلی‌تود و سرعت هدایت اعصاب Radial، Median و Ulnar در گروه مورد، به جز سرعت هدایت حرکتی Radial و آمپلی‌تود حسی Ulnar، تغییر معنی‌داری را نشان دادند ( $P < 0/05$ ). مقایسه‌ی بین گروهی میانگین آمپلی‌تود و سرعت هدایت عصبی بعد از عمل، تنها در آمپلی‌تود حسی Ulnar تغییر معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** وضعیت ۹۰ درجه‌ی Abduction شانه حین عمل بای‌پس عروق کرونر، باعث کاهش آسیب اکسونال فیبرهای حسی عصب Ulnar می‌شود.

**واژگان کلیدی:** دیابت، سرعت هدایت عصب، بای‌پس عروق کرونر

**ارجاع:** حسینی‌فر محمد، مجاهد زین‌العابدین، میر محمد صادقی محسن، آزاده حمید. بررسی تأثیر دو وضعیت مفصل شانه (وضعیت ۹۰ و صفر درجه‌ی

Abduction) حین عمل بای‌پس عروق کرونر بر سرعت هدایت اعصاب در بیماران مبتلا به دیابت. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵:

۳۴ (۳۷۳): ۱۹۶-۱۹۰

### مقدمه

دیابت، شایع‌ترین بیماری مزمن متابولیک و یکی از مهم‌ترین علل مرگ و میر در بسیاری از کشورها می‌باشد (۱). شیوع دیابت در ایران در سال ۱۳۸۰ در جمعیت بالاتر از ۲۰ سال ۴/۶۷ درصد (۲) و در سال ۲۰۱۱ بر اساس برآورد فدراسیون جهانی دیابت، ۱۱/۱ درصد گزارش شده است (۳). ۸۰ درصد افراد مبتلا به دیابت، دچار بیماری‌های قلبی - عروقی می‌شوند (۴). ۳۸ درصد بیماران مبتلا به

دیابت که دچار مشکلات قلبی - عروقی می‌شوند، تحت عمل قلب به

خصوص بای‌پس عروق کرونر قرار می‌گیرند (۵).

اگر چه عمل قلب باز در کاهش ناتوانی قلب مؤثر است، اما با وجود پیشرفت‌های علم پزشکی در این زمینه، عمل قلب باز، هنوز با عوارضی همراه می‌باشد که آسیب شبکه‌ی بازویی، شایع‌ترین این عوارض به شمار می‌آید (۱۴-۶). علل مختلفی برای آسیب شبکه‌ی بازویی ذکر گردیده است (۲۰-۱۵، ۱۲، ۹-۸، ۶).

۱- استادیار، گروه فیزیوتراپی، مرکز تحقیقات ارتقای سلامت، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیوتراپی، دانشکده‌ی توان‌بخشی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۴- استادیار، گروه فیزیوتراپی، دانشکده‌ی توان‌بخشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: azadeh@rehab.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: حمید آزاده

مطالعه شدند که علاوه بر ابتلا به دیابت، کاندیدای عمل قلب باز (بای‌پس عروق کرونر) بودند. بیمارانی که سابقه‌ی حمله‌ی ایسکیمیک گذرا (۱۲)، اضافه وزن بیش از ۱۵۰ درصد وزن ایده‌ال (۱۲)، سابقه‌ی فلج اندام فوقانی ثانویه به سکتته‌ی مغزی داشتند (۲۶) و همچنین بیمارانی که مبتلا به شانه‌ی یخ زده بودند، از مطالعه خارج شدند.

تعداد افراد شرکت کننده در این مطالعه، ۲۰ نفر بود که پس از پذیرش افراد بر اساس معیارهای پیش‌گفته، به صورت تصادفی از طریق جدول تصادفی اعداد به دو گروه شاهد (۱۰ نفر) و مورد (۱۰ نفر) تقسیم شدند. در گروه مورد، اندام فوقانی در حین عمل در حالت دست باز (صلیبی) و در گروه شاهد، اندام فوقانی در کنار بدن (روش متداول) قرار داده شد. در این مطالعه، اطلاعات دموگرافیک، معاینات بالینی و آزمون‌های الکترودیآگنوزیس توسط یک آزمونگر که نسبت به گروه‌بندی بیمارانی بی‌اطلاع بود، در دانشکده‌ی علوم توانبخشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان یک روز قبل از عمل و سه هفته بعد از عمل انجام شد. همچنین، بیمارانی ضمن آگاهی از روش‌های عمل، از گروه‌بندی بی‌اطلاع بودند.

آزمون‌های الکترودیآگنوزیس شامل بررسی دامنه‌ی موج و سرعت هدایت حسی و حرکتی اعصاب Median، Radial و Ulnar دست چپ بود. در همه‌ی این آزمون‌ها، از روش شاپیرو (Shapiro) استفاده شد (۲۷).

معاینات بالینی شامل بررسی کرختی و پارستزی (خواب رفتگی) هر دو دست بود.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد. از آزمون Shapiro-Wilk برای بررسی انطباق توزیع متغیرهای مورد مطالعه با توزیع طبیعی استفاده شد. برای مقایسه‌ی درون گروهی داده‌های کمی، از آزمون Paired t و برای مقایسه‌ی بین گروهی داده‌های کمی، از آزمون Independent t استفاده شد.

### یافته‌ها

میانگین سن، قد، وزن و شاخص توده‌ی بدنی در دوگروه تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $P > 0/050$ ) (جدول ۱).

در مقایسه‌ی داخل گروهی، میانگین همه‌ی متغیرها در گروه شاهد، تغییر معنی‌داری داشت ( $P > 0/050$ ) (جدول ۲).

در مقایسه‌ی داخل گروهی در گروه مورد، به جز سرعت هدایت حرکتی Radial و آمپلی‌تود حسی Ulnar، میانگین سایر متغیرها تغییر معنی‌داری داشت ( $P < 0/050$ ) (جدول ۳).

در مقایسه‌ی بین گروهی، قبل از عمل تفاوت معنی‌داری برای هیچ کدام از متغیرها مشاهده نشد ( $P > 0/050$ ).

مهم‌ترین علت آسیب شبکه‌ی بازویی، کشش یا فشرده شدن شبکه‌ی بین دنده‌ی اول و Clavicle می‌باشد (۱۹، ۱۳، ۶). Keats و Jackson با مطالعه بر روی ۱۵ جسد نشان دادند که وضعیت دست بالای سر (شانه در وضعیت ۹۰ درجه‌ی باز و آرنج در وضعیت ۹۰ درجه‌ی خمیده و ۶ اینچ بالاتر از تخت) باعث کاهش تنش شبکه‌ی بازویی می‌شود (۱۱).

نتایج مطالعاتی که وضعیت بازو را مرتبط با آسیب شبکه‌ی بازویی می‌دانند، با هم تناقض دارند (۲۲-۲۰، ۱۲-۱۱). Vander و همکاران، طی یک مطالعه بر روی ۱۸۰ بیمار که تحت عمل جراحی قلب باز قرار گرفته بودند، کاهش آسیب شبکه‌ی بازویی را در افرادی که شانه در حالت Abduction قرار داشت، نسبت به حالتی که بازو کنار بدن بود، گزارش کردند (۲۳). Roy و همکاران، با مطالعه بر روی ۱۶۲ بیمار که در یک گروه حین عمل هر دو دست کنار بدن بود و در گروه دیگر، دست راست کنار بدن و دست چپ شانه در ۹۰ درجه‌ی Abduction قرار داشت، تفاوت معنی‌داری در بروز علائم عصب‌شناختی بین دو گروه مشاهده نکردند (۲۱).

همچنین، Jellish و همکاران در یک مطالعه بر روی ۸۰ بیمار غیر مبتلا به دیابت که حین عمل در دو وضعیت بازو در کنار بدن و وضعیت دست بالای سر قرار داشتند، تفاوت معنی‌داری در میزان بروز آسیب شبکه‌ی بازویی گزارش نکردند (۱۲).

با توجه به مطالب پیش‌گفته، مطالعات انجام شده در این زمینه فاقد گروه شاهد و گروه‌بندی تصادفی بودند و به ارزیابی ذهنی می‌پرداختند. از این رو، در مطالعه‌ی حاضر، اشکالات مطرح شده برطرف گردید. از سرعت هدایت عصبی که از حساسیت بیشتری برای مشخص کردن آسیب عصبی بر خوردار است (۲۴)، به عنوان ارزیابی عینی استفاده گردید. همچنین، تمامی اعمال جراحی روی بیمارانی شرکت کننده در این مطالعه توسط یک جراح انجام شد.

از آن جایی که بیمارانی مبتلا به دیابت بخش عمده‌ای از بیمارانی مبتلا به تنگی عروق کرونر را شامل می‌شوند و همچنین، این بیمارانی به خاطر متابولیسم پایین و کاهش فعالیت آنزیم Na/K ATP ase بیشتر مستعد نوروپاتی هستند (۲۵)، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تأثیر وضعیت شانه حین عمل بای‌پس عروق کرونر بر سرعت هدایت و آمپلی‌تود اعصاب حسی و حرکتی اندام فوقانی و علائم بالینی آسیب شبکه‌ی بازویی در بیمارانی مبتلا به دیابت انجام شد.

### روش‌ها

این مطالعه از نوع کارآزمایی بالینی دو سو کور بود. بیمارانی مورد مطالعه، مراجعه کنندگان به بیمارستان سینای شهر اصفهان بودند. نمونه‌گیری به روش ساده و در دسترس انجام شد. بیمارانی وارد

جدول ۱. مشخصات دموگرافیک دو گروه مورد (دست باز) و شاهد (دست کنار بدن)

متغیر	گروه مورد	گروه شاهد	مقدار P
قد (سانتی‌متر)	170/00 ± 8/07	173/00 ± 7/67	0/470
وزن (کیلوگرم)	82/07 ± 6/08	82/10 ± 6/03	0/960
شاخص توده‌ی بدنی	28/26 ± 2/74	27/47 ± 2/70	0/520
سن (سال)	63/30 ± 7/45	61/60 ± 8/59	0/640
جنس	1/20 ± 0/42	1/10 ± 0/31	0/550

در آمپلی‌تود و سرعت هدایت عصبی اعصاب حسی و حرکتی Radial، Median و Ulnar بعد از عمل در هر دو گروه مشاهده شد. با توجه به این که تغییرات در هر سه عصب پیش‌گفته مشاهده شد، می‌توان گفت که تغییرات حاصل، ناشی از تنش بر روی شبکه‌ی بازویی می‌باشد.

اگر چه بیشتر متغیرهای درون گروهی در هر دو گروه تفاوت معنی‌داری را نشان دادند، اما متغیرهایی همچون میانگین تغییرات سرعت هدایت حرکتی Median و آمپلی‌تود حسی Ulnar، در گروه مورد تفاوت معنی‌داری نداشتند. هر دو متغیر مرتبط با تنه‌ی تحتانی می‌باشند و می‌توان گفت که تنه‌ی تحتانی در گروه مورد، نسبت به گروه شاهد تحت کشش کمتر و در نهایت آسیب کمتری بوده است. این یافته، همسو با یافته‌های مطالعه‌ی Jellish و همکاران (۱۲) است که مدعی بودند وضعیت ۹۰ درجه‌ی Abduction شانه حین Retraction استرنوم، فشار را از روی تنه‌ی تحتانی کمتر می‌کند.

در مقایسه‌ی بین گروهی میانگین‌ها بعد از عمل، تنها در آمپلی‌تود حسی Ulnar تغییر معنی‌داری مشاهده شد ( $P > 0/050$ ) (جدول ۴). در مقایسه‌ی علایم بالینی قبل و بعد از عمل، فقط یک مورد کرختی بعد از عمل در گروه شاهد مشاهده گردید.

### بحث

از جمله عوارض عمل قلب باز، ضایعه‌ی عصب‌شناختی اندام‌های فوقانی می‌باشد که همواره یکی از نگرانی‌های جراحان قلب است (۲۸، ۲۱، ۱۹، ۱۵-۱۴، ۹، ۴). بنا بر این، محققین تلاش‌های زیادی در جهت یافتن علت و به حداقل رساندن آن انجام داده‌اند و علل مختلفی را برای آن ذکر کرده‌اند (۱۹، ۱۵-۱۴، ۹، ۴).

مطالعات هدایت عصبی از دقت و حساسیت بالایی برخوردار می‌باشند (۲۴)، اما در مطالعات قبلی از این روش استفاده نشده است. در مطالعه‌ی حاضر، علاوه بر معاینه‌ی بالینی، تغییرات هدایت عصبی نیز مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه‌ی حاضر، تفاوت معنی‌داری

جدول ۲. میانگین تغییرات متغیرهای مربوط به اعصاب حسی و حرکتی Radial، Median و Ulnar قبل و بعد از عمل در گروه شاهد (دست کنار بدن)

متغیر	میانگین قبل از عمل	میانگین بعد از عمل	مقدار P	میانگین تغییرات	مقدار P
آمپلی‌تود حسی Median ( $\mu v$ )	20/43 ± 6/01	14/22 ± 8/17	0/180	6/20 ± 7/60	0/030
سرعت هدایت حسی Median (m/s)	40/39 ± 4/39	35/96 ± 4/02	0/140	4/43 ± 4/57	0/010
آمپلی‌تود حرکتی Median (mv)	5/60 ± 1/40	4/57 ± 0/30	0/490	1/04 ± 1/15	0/010
سرعت هدایت حرکتی Median (m/s)	47/52 ± 3/42	43/53 ± 2/70	0/120	3/90 ± 3/06	0/003
آمپلی‌تود حسی Radial ( $\mu v$ )	15/91 ± 4/77	14/24 ± 4/39	< 0/001	1/67 ± 0/74	< 0/001
سرعت هدایت حسی Radial (m/s)	43/68 ± 2/85	39/91 ± 6/15	0/006	3/77 ± 4/26	0/020
آمپلی‌تود حرکتی Radial (mv)	2/99 ± 0/77	2/38 ± 0/45	0/001	0/61 ± 0/43	0/001
سرعت هدایت حرکتی Radial (m/s)	47/38 ± 4/56	44/89 ± 2/98	0/010	2/49 ± 3/01	0/002
آمپلی‌تود حسی Ulnar ( $\mu v$ )	13/32 ± 5/36	10/89 ± 4/30	< 0/001	2/43 ± 2/32	< 0/001
سرعت هدایت حسی Ulnar (m/s)	40/60 ± 5/68	37/84 ± 5/01	< 0/001	2/76 ± 1/67	0/002
آمپلی‌تود حرکتی Ulnar (mv)	5/59 ± 0/96	4/32 ± 1/61	< 0/001	1/26 ± 0/84	0/001
سرعت هدایت حرکتی Ulnar (m/s)	48/48 ± 4/73	46/63 ± 4/60	< 0/001	1/84 ± 1/44	0/003

جدول ۳. میانگین تغییرات متغیرهای مربوط به اعصاب حسی Median, Radial و Ulnar قبل و بعد از عمل در گروه مورد (صلیبی)

متغیر	میانگین قبل از عمل	میانگین بعد از عمل	مقدار P	میانگین تغییرات	مقدار P
آمپلی تود حسی Median ( $\mu\text{v}$ )	$19/80 \pm 6/62$	$16/97 \pm 5/81$	$< 0/001$	$2/83 \pm 2/17$	$0/003$
سرعت هدایت حسی Median (m/s)	$42/33 \pm 4/92$	$39/98 \pm 4/64$	$< 0/001$	$2/35 \pm 1/63$	$0/001$
آمپلی تود حرکتی Median (mv)	$5/09 \pm 1/20$	$4/51 \pm 0/94$	$< 0/001$	$0/58 \pm 0/43$	$0/002$
سرعت هدایت حرکتی Median (m/s)	$48/10 \pm 1/44$	$45/30 \pm 1/49$	$0/100$	$2/80 \pm 1/40$	$< 0/001$
آمپلی تود حسی Radial ( $\mu\text{v}$ )	$14/79 \pm 4/36$	$11/56 \pm 3/11$	$0/110$	$3/23 \pm 3/76$	$0/020$
سرعت هدایت حسی Radial (m/s)	$43/16 \pm 4/86$	$40/83 \pm 4/55$	$0/001$	$2/33 \pm 2/35$	$0/010$
آمپلی تود حرکتی Radial (mv)	$3/05 \pm 0/50$	$2/30 \pm 0/51$	$0/002$	$0/74 \pm 0/28$	$< 0/001$
سرعت هدایت حرکتی Radial (m/s)	$48/48 \pm 4/30$	$47/52 \pm 4/97$	$< 0/001$	$0/96 \pm 1/75$	$0/110$
آمپلی تود حسی Ulnar ( $\mu\text{v}$ )	$17/48 \pm 5/00$	$16/61 \pm 3/94$	$0/030$	$0/87 \pm 3/33$	$0/480$
سرعت هدایت حسی Ulnar (m/s)	$40/18 \pm 1/53$	$38/70 \pm 1/38$	$0/005$	$1/48 \pm 0/92$	$0/001$
آمپلی تود حرکتی Ulnar (mv)	$5/86 \pm 2/42$	$4/97 \pm 2/44$	$< 0/001$	$0/89 \pm 0/54$	$0/001$
سرعت هدایت حرکتی Ulnar (m/s)	$50/74 \pm 2/95$	$49/01 \pm 3/39$	$0/001$	$1/73 \pm 1/63$	$0/009$

ضایعه‌ی عصب Ulnar بود، در گروه دست بالای سر، هیچ گونه آسیب عصب Ulnar گزارش نشد.

بر اساس یافته‌های مطالعه‌ی Vander و همکاران (۲۳)، آسیب شبکه‌ی بازویی ناشی از شکستگی دنده می‌باشد.

با در نظر گرفتن این مطلب که حین Retraction استرنوم، کلاویکل به خلف متمایل می‌شود و دنده‌ی اول به طرف بالا چرخش پیدا می‌کند و در نهایت باعث شکستگی دنده‌ی اول و فشار بر ریشه‌ی C8 می‌شود که اغلب حاوی اکسون‌های حسی عصب Ulnar می‌باشد (۲۹)، می‌توان گفت که وضعیت صلیبی، می‌تواند باعث چرخش کمتر دنده و در نهایت جلوگیری از شکستگی دنده شود، اما یافته‌های مطالعه‌ی حاضر در تضاد با یافته‌های Roy و همکاران (۲۱) است.

در مقایسه‌ی بین گروهی بعد از عمل به جز متغیر دامنه‌ی موج حسی عصب Ulnar، در سایر موارد تغییر معنی‌داری مشاهده نشد؛ که این تفاوت، نشانه‌ی آسیب اکسونال بیشتر در نتیجه‌ی کشش تنه‌ی تحتانی در گروه شاهد نسبت به گروه مورد می‌باشد. این یافته همسو با یافته‌ی مطالعه‌ی Jellish و همکاران (۱۲) مبنی بر کاهش تنش تنه‌ی تحتانی در وضعیت ۹۰ درجه‌ی شانه حین عمل بود.

در مطالعه‌ی حاضر، در مقایسه‌ی علایم بالینی قبل و بعد از عمل، فقط یک مورد کرختی در درماتوم C8 بعد از عمل در گروه شاهد دیده شد. عدم وجود نوروپاتی عصب Ulnar در گروه مورد با مطالعه‌ی Jellish و همکاران (۱۲) همسو است. در مطالعه آن‌ها، با وجود این که سه مورد از آسیب عصبی در گروه شاهد مربوط به

جدول ۴. مقایسه‌ی میانگین متغیرهای مربوط به اعصاب حسی و حرکتی Median, Radial و Ulnar بعد از عمل در دو گروه شاهد و مورد

متغیر	گروه مورد	گروه شاهد	مقدار P
آمپلی تود حسی Median ( $\mu\text{v}$ )	$16/97 \pm 5/81$	$14/22 \pm 8/17$	$0/390$
سرعت هدایت حسی Median (m/s)	$39/98 \pm 4/64$	$35/96 \pm 4/02$	$0/050$
آمپلی تود حرکتی Median (mv)	$4/51 \pm 0/94$	$4/57 \pm 0/30$	$0/850$
سرعت هدایت حرکتی Median (m/s)	$45/30 \pm 1/49$	$43/53 \pm 2/70$	$0/080$
آمپلی تود حسی Radial ( $\mu\text{v}$ )	$11/56 \pm 3/11$	$14/24 \pm 4/39$	$0/130$
سرعت هدایت حسی Radial (m/s)	$40/83 \pm 4/55$	$39/91 \pm 6/15$	$0/700$
آمپلی تود حرکتی Radial (mv)	$2/30 \pm 0/51$	$2/38 \pm 0/45$	$0/730$
سرعت هدایت حرکتی Radial (m/s)	$47/52 \pm 4/97$	$44/89 \pm 2/98$	$0/160$
آمپلی تود حسی Ulnar ( $\mu\text{v}$ )	$16/61 \pm 3/94$	$10/89 \pm 4/31$	$0/006$
سرعت هدایت حسی Ulnar (m/s)	$38/70 \pm 1/38$	$37/84 \pm 5/01$	$0/600$
آمپلی تود حرکتی Ulnar (mv)	$4/97 \pm 2/44$	$4/32 \pm 1/61$	$0/490$
سرعت هدایت حرکتی Ulnar (m/s)	$49/01 \pm 3/39$	$46/63 \pm 4/60$	$0/200$

باز، باعث کشیدگی شبکه‌ی بازویی و ایجاد دیملینیشن و آسیب اکسونال جزئی می‌شود. وضعیت ۹۰ درجه‌ی Abduction شانه، باعث کاهش آسیب اکسونال فیبرهای حسی عصب Ulnar می‌شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد زین‌العابدین مجاهد با شماره‌ی ۳۹۳۶۳۸ می‌باشد که با همکاری بیمارستان سینای شهر اصفهان و همچنین دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در تأمین بودجه‌ی پژوهش انجام شد. بدین وسیله از خانم دادخواه مسؤول بخش قلب بیمارستان سینای اصفهان تشکر می‌گردد.

آن‌ها علایم بالینی آسیب عصبی اندام فوقانی چپ را برای دو وضعیت صفر و ۹۰ درجه‌ی Abduction شانه حین عمل به ترتیب ۴/۵ و ۸/۵ درصد ذکر کردند. اعمال جراحی در مطالعه‌ی آن‌ها توسط چندین جراح انجام شده بود. همچنین، حجم نمونه، جنس و وزن در دو گروه یکسان نبودند. این اشکال، در روش کار مطالعه‌ی حاضر برطرف گردید.

همچنین، نتایج مطالعه‌ی حاضر با نتایج مطالعه‌ی Vander و همکاران مبنی بر کاهش شیوع علایم بالینی در گروهی که شانه‌ی آن‌ها در حین عمل در حالت Abduction قرار داشت، همسو است (۲۳).

نتیجه‌گیری نهایی این که Retraction استرنوم حین عمل قلب

### References

1. Baral N, Koner BC, Karki P, Ramaprasad C, Lamsal M, Koirala S. Evaluation of new WHO diagnostic criteria for diabetes on the prevalence of abnormal glucose tolerance in a heterogeneous Nepali population--the implications of measuring glycosylated hemoglobin. *Singapore Med J* 2000; 41(6): 264-7.
2. Larijani B, Abolhasani F, Mohajeri-Tehrani MR, Tabatabaie O. Prevalence of diabetes mellitus in Iran in 2000. *Iran J Diabetes Lipid Disord* 2005; 4(3): 75-83. [In Persian].
3. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 94(3): 311-21.
4. Wong J, Zoungas S, Wright C, Teede H. Evidence-based guidelines for perioperative management of diabetes in cardiac and vascular surgery. *World J Surg* 2010; 34(3): 500-13.
5. Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Dietz WH, Vinicor F, Bales VS, et al. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA* 2003; 289(1): 76-9.
6. Clausen EG. Postoperative ("Anesthetic") Paralysis of the Brachial Plexus. A Review of the Literature and Report of Nine Cases. *Curr Res Anesth Analg* 1944; 23(1): 18-24.
7. Gil HY, Yun MJ, Kim JE, Lee MA, Kim do H. Brachial plexus injury following median sternotomy. *Korean J Anesthesiol* 2012; 63(3): 286-7.
8. Hanson MR, Breuer AC, Furlan AJ, Lederman RJ, Wilbourn AJ, Cosgrove DM, et al. Mechanism and frequency of brachial plexus injury in open-heart surgery: A prospective analysis. *Ann Thorac Surg* 1983; 36(6): 675-9.
9. Healey S, O'Neill B, Bilal H, Waterworth P. Does retraction of the sternum during median sternotomy result in brachial plexus injuries? *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2013; 17(1): 151-7.
10. Hudson DA, Boome R, Sanpera I. Brachial plexus injury after median sternotomy. *J Hand Surg Am* 1993; 18(2): 282-4.
11. Jackson L, Keats AS. Mechanism of brachial plexus palsy following anesthesia. *Anesthesiology* 1965; 26: 190-4.
12. Jellish WS, Blakeman B, Warf P, Slogoff S. Hands-up positioning during asymmetric sternal retraction for internal mammary artery harvest: A possible method to reduce brachial plexus injury. *Anesth Analg* 1997; 84(2): 260-5.
13. Kirsh MM, Magee KR, Gago O, Kahn DR, Sloan H. Brachial plexus injury following median sternotomy incision. *Ann Thorac Surg* 1971; 11(4): 315-9.
14. Honet JC, Raikes JA, Kantowitz A, Pursel SE, Rubenfire M. Neuropathy in the upper extremity after open-heart surgery. *Arch Phys Med Rehabil* 1976; 57(6): 264-7.
15. Ben-David B, Stahl S. Prognosis of intraoperative brachial plexus injury: A review of 22 cases. *Br J Anaesth* 1997; 79(4): 440-5.
16. Graham JG, Pye IF, McQueen IN. Brachial plexus injury after median sternotomy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1981; 44(7): 621-5.
17. Jellish WS, Blakeman B, Warf P, Slogoff S. Somatosensory evoked potential monitoring used to compare the effect of three asymmetric sternal retractors on brachial plexus function. *Anesth Analg* 1999; 88(2): 292-7.
18. Seyfer AE, Grammer NY, Bogumill GP, Provost JM, Chandry U. Upper extremity neuropathies after cardiac surgery. *J Hand Surg Am* 1985; 10(1): 16-9.
19. Sharma AD, Parmley CL, Sreeram G, Grocott HP. Peripheral nerve injuries during cardiac surgery: risk factors, diagnosis, prognosis, and prevention. *Anesth Analg* 2000; 91(6): 1358-69.
20. Unlu Y, Velioglu Y, Kocak H, Becit N, Ceviz M. Brachial plexus injury following median sternotomy. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2007; 6(2): 235-7.
21. Roy RC, Stafford MA, Charlton JE. Nerve injury and musculoskeletal complaints after cardiac surgery: influence of internal mammary artery dissection and left arm position. *Anesth Analg* 1988; 67(3): 277-9.
22. Tomlinson DL, Hirsch IA, Kodali SV, Slogoff S. Protecting the brachial plexus during median sternotomy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 94(2): 297-301.
23. Vander Salm TJ, Cereda JM, Cutler BS. Brachial

- plexus injury following median sternotomy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1980; 80(3): 447-52.
24. Jia WP, Shen Q, Bao YQ, Lu JX, Li M, Xiang KS. Evaluation of the four simple methods in the diagnosis of diabetic peripheral neuropathy. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2006; 86(38): 2707-10. [In Chinese].
25. Vague P, Dufayet D, Coste T, Moriscot C, Jannot MF, Raccach D. Association of diabetic neuropathy with Na/K ATPase gene polymorphism. *Diabetologia* 1997; 40(5): 506-11.
26. Yang JL, Chang CW, Chen SY, Lin JJ. Shoulder kinematic features using arm elevation and rotation tests for classifying patients with frozen shoulder syndrome who respond to physical therapy. *Man Ther* 2008; 13(6): 544-51.
27. Preston DC, Shapiro BE. *Electromyography and neuromuscular disorders: Clinical-electrophysiologic correlations*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2005. p. 25-45.
28. Salomon NW, Page US, Okies JE, Stephens J, Krause AH, Bigelow JC. Diabetes mellitus and coronary artery bypass. Short-term risk and long-term prognosis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 85(2): 264-71.
29. Ferrante MA. Brachial plexopathies: Classification, causes, and consequences. *Muscle Nerve* 2004; 30(5): 547-68.



## Effects of Zero and 90 Degree Abduction of Glenohumeral Joint on the Upper Extremity Nerve Conduction Velocity (NCS) in Diabetic Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Graft Surgery

Mohammad Hosseinifar<sup>1</sup>, Zeinolabedin Mojahed<sup>2</sup>, Mohsen Mirmohammad-Sadeghi<sup>3</sup>, Hamid Azadeh<sup>4</sup>

### Short Communication

#### Abstract

**Background:** The aim of this study was to evaluate the effect of arm position during coronary artery bypass surgery on neuropathic symptoms and nerve conduction velocity (NCV) of the upper extremity nerves in diabetic patients.

**Methods:** In this clinical trial, 20 patients with diabetes, who were candidates for open-heart surgery, were divided randomly into control and experimental group. During the operation, patient's arm was positioned at 90 degree abduction and at the sides of the body in the experimental and control group, respectively. Electrodiagnostic tests including assessing amplitude and conduction velocity of sensory and motor nerves of radial, median and ulnar of left hand was performed. Physical examination was also done for checking the numbness and Paresthesia in both hands.

**Findings:** The Comparison of the changes for mean of amplitude and NCV of radial, median and ulnar nerves showed significant change in the control group after operation ( $P < 0.050$ ). The Comparison of the changes for mean of amplitude and NCV of radial, median and ulnar nerves showed significant change except in radial motor NCV and sensory amplitude of ulnar nerve in the test group after operation ( $P < 0.050$ ). The comparison of mean values after operation between groups showed no significant changes except in sensory amplitude of ulnar nerve.

**Conclusion:** Arm abduction at 90 degrees reduces the axonal injury of the ulnar sensory fibers during coronary artery bypass graft surgery.

**Keywords:** Diabetes, Nerve conduction velocity (NCV), Coronary artery bypass

**Citation:** Hosseinifar M, Mojahed Z, Mirmohammad-Sadeghi M, Azadeh H. **Effects of Zero and 90 Degree Abduction of Glenohumeral Joint on the Upper Extremity Nerve Conduction Velocity (NCS) in Diabetic Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Graft Surgery.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(373): 190-6

1- Assistant Professor, Department of Physiotherapy, Health Promotion Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

2- MSc student, Department of Physiotherapy, School of Rehabilitation Sciences AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical sciences, Isfahan, Iran

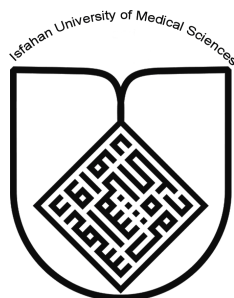
3- Associate Professor, Department of Cardiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Physiotherapy, School of Rehabilitation Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Hamid Azadeh, Email: azadeh@rehab.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 Esmailbeigi** MD, Professor of Endocrinology, School of Medicine, California, USA
15. **Ahmad Esmailzadeh** 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. 373, 1<sup>st</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.