



### مقاله های پژوهشی

- تأثیر تثبیت RGD بر زیست سازگاری داربست اکسید سلولز برای مهندسی بافت استخوان ..... ۱۵۹۷  
 مظفر محمودی، دکتر علی صمدی کوچکسرایی، دکتر محمدرضا نعیمی جمال، سعید سامانی، مختار یعقوبی
- بررسی پتانسیل اثر بازدارندگی میوهی آقطی سیاه بر تکثیر اولیهی ویروس آنفلوانزا ..... ۱۶۰۷  
 آمنه حسینی نژاد فراهانی، دکتر شهلا شاهسونندی، دکتر محمد ابراهیمی
- بررسی میزان شیوع عفونت های درماتوفیتی در بین دانش آموزان مدارس ابتدایی شهرستان کوهرنگ در سال های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ ..... ۱۶۱۸  
 امین سلطانپور، حمید مروتی، دکتر پروین دهقان، مهری رجالی
- تخمین دوز جذبی ناشی از رادیوداروی <sup>99m</sup>Tc-MDP در بیماران تحت اسکن استخوان ..... ۱۶۲۸  
 دکتر داریوش شهبازی گهرویی، مهری دموری، دکتر محمد باقر توکلی، دکتر مسعود مصلحی، صدیقه رستاقی

### نامه به سردبیر

- التهاب در سندرم متابولیک: نقش بافت چربی ..... ۱۶۳۷  
 دکتر مجید خزاعی

### Original Articles

- Effect of RGD Immobilization on Biocompatibility of Oxidized Cellulose Scaffold in Bone Tissue Engineering ..... 1606  
 Mozaffar Mahmoodi MSc, Ali Samadi-Kuchaksaraei PhD, Mohammad Reza Naimi-Jamal PhD, Saeed Samani PhD, Mokhtar Yaghubi
- The Potential Inhibitory Effect of Sambucus Nigra Fruit on Early Replication of Influenza Virus ... 1617  
 Ameneh Hasaninejad-Farahani, Shahla Shahsavandi PhD, Mohammad Ebrahimi PhD
- The Epidemiology of Dermatophytosis among Elementary School Children in Koohrang City, Iran, in 2014 and 2015 ..... 1627  
 Amin Soltanpoor, Hamid Morovati, Parvin Dehghan PhD, Mehri Rejali
- Estimating the Absorbed Doses from <sup>99m</sup>Tc-MDP in Patients Following Bone Scan ..... 1636  
 Daryoush Shahbazi-Gahreuei PhD, Mehri Damoori, Mohammad Bagher Tavakoli PhD, Masoud Moslehi PhD, Sedigheh Rastaghi MSc

### Letter to Editor

- Inflammation in Metabolic Syndrome: Role of Adipose Tissue ..... 1639  
 Majid Khazaei MD, PhD



# مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و سوم، شماره (۳۵۲)، بهمن چهارم آبان ۱۳۹۴

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

## ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

E-mail: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی      صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مسئول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

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

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

وب سایت مجله:

## امور نشر:

(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)

شرکت فرزانتگان راداندیش

اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵

تلفن و دورنگار: ۰۳۱-۳۶۶۸۶۳۰۲

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

## راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

- ۱- **اهداف و چشم انداز:** مجله دانشکده پزشکی اصفهان به صورت هفته‌نامه و تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد.
- ۲- این مجله مقالات اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را منتشر می‌نماید و همچنین فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین را بر روی وب سایت مجله قرار می‌دهد.
- ۳- **پذیرش دست‌نوشته:** پذیرش دست‌نوشته‌ها و پیگیری‌های بعدی در این مجله فقط از طریق وب سایت اختصاصی آن به آدرس <http://www.journals.mui.ac.ir/jims> و پس از ثبت نام (Registration) در آن ممکن می‌باشد. همراه دست‌نوشته باید یک نامه تایپ شده (Covering letter) به سردبیر، شامل عنوان و اسامی نویسنده یا نویسندگان و اعلام این که این دست‌نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است و یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد، ارسال گردد.
- ۴- دست‌نوشته باید توسط نرم‌افزار MS Word در سایز A4 و فاصله خطوط دو برابر (Double Spaced) با حاشیه‌های ۲/۵ سانتی‌متری تهیه شوند. جداول بدون حاشیه خارجی و تصاویر در فرمت GIF و JPEG و در تعداد محدود باشند. ارسال مدارک با فرمت PDF به هیچ عنوان پذیرفته نیست.
- ۵- دست‌نوشته باید شامل صفحه عنوان، چکیده، مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع باشد. **صفحه عنوان:** این صفحه باید شامل عنوان کامل، عنوان مکرری، اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان و همچنین آدرس، تلفن، فاکس و پست الکترونیکی نویسنده مسؤول باشد. ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی در این صفحه ضروری است.
- ۶- **چکیده:** تمام مقالات اصلی باید دارای چکیده مقاله به دو زبان فارسی و انگلیسی با حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد. چکیده باید شامل بخش‌های سابقه علمی موضوع، روش‌ها، یافته‌ها و بحث باشد. در پایان چکیده مقاله ۳-۵ کلمه کلیدی قرار می‌گیرد که تنها با استفاده از راهنمای MESH در آدرس (<http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>) استخراج گردند.
- ۷- **مقدمه و معرفی:** در این بخش اهداف و علل انجام مطالعه آورده می‌شود؛ بنابراین نیازی به ارائه گسترده مطالب موجود در متون علمی نیست. در این بخش باید از ارائه اطلاعات، یافته‌های و نتایج مطالعه خودداری گردد.
- ۸- **روش‌ها:** این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط منبع آن ذکر گردد اما اگر روشی نوین است، باید به صورتی توضیح داده شود که برای سایر محققان قابل درک و به طور عینی قابل انجام و تکرار باشد. در صورت استفاده از دستگاه و تجهیزات خاص باید نام، نام کارخانه سازنده و آدرس آن در پرانتز ذکر گردد. اگر از دارو در مطالعه استفاده شده است باید نام ژنریک، دوز و روش مصرف آن آورده شود. در مورد افراد و بیماران تحت مطالعه باید جنس و سن (همراه انحراف معیار) آورده شود. در مورد نرم‌افزارها و سیستم‌های کامپیوتری باید سال و ویرایش آن در پرانتز و پس از نام آن ذکر گردد. در صورتی که مطالعه دارای پرسش‌نامه یا چک لیست است، ضمیمه کردن آن لازم است؛ در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.
- ۹- **یافته‌ها:** این بخش به صورت متن همراه با جدول‌ها، شکل‌ها و نمودارها ارائه می‌گردد. محتوای جداول نباید به صورت کامل در متن ارائه شوند، بلکه کافی است با ذکر شماره جدول، شکل و یا نمودار به آنها اشاره شود. جدول‌ها، نمودارها و شکل‌ها هر کدام باید در یک صفحه جداگانه و پس از منابع، در پایان دست‌نوشته آورده شوند. در این بخش فقط یافته‌ها ارائه می‌شود و باید از ذکر دلایل و استدلال‌های مرتبط با آن خودداری گردد.
- ۱۰- **بحث:** در این بخش در ابتدا به یافته‌های مهم اساسی مطالعه و سپس تشابه و تفاوت‌های آن با یافته‌های سایر پژوهشگران در مطالعات مشابه اشاره می‌گردد. ذکر جزئیات کامل یافته‌ها در این بخش لازم نیست. تأکید بر یافته‌های جدید و با اهمیت مطالعه حاضر و دستاوردهای آن در این قسمت ضروری است. ذکر این که فرضیه ارائه شده در مطالعه صحیح یا نادرست بوده، یا این که دلایل کافی برای رد یا قبول آن به دست نیامده است، ضروری می‌باشد. هدف این بخش، ذکر دلیل اصلی انجام تحقیق، تحلیل و تفسیر یافته‌ها و همچنین نتیجه‌گیری کلی (Conclusion) است.

۱۱- **تقدیر و تشکر:** تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند باید در این بخش مورد تقدیر قرار گیرند؛ از جمله کسانی که کمک‌های فنی، نوشتاری و مالی داده و همچنین سرپرستان و مدیران بخش‌های محل انجام مطالعه که در امر پشتیبانی‌های عمومی در اجرای تحقیق فعالیت داشته‌اند.

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

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

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

#### **اگر منبع مورد نظر مقاله است:**

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

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

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

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

#### **اگر منبع مورد نظر کتاب است:**

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

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

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

#### **اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:**

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

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

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

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

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

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

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

## فهرست مطالب

### مقاله‌های پژوهشی

- ۱۵۹۷..... تأثیر تثبیت RGD بر زیست‌سازگاری داربست اکسید سلولز برای مهندسی بافت استخوان.....  
مظفر محمودی، دکتر علی صمدی کوچکسرای، دکتر محمدرضا نعیمی جمال، سعید سامانی، مختار یعقوبی
- ۱۶۰۷..... بررسی پتانسیل اثر بازدارندگی میوه‌ی آقطی سیاه بر تکثیر اولیه‌ی ویروس آنفلوانزا.....  
آمنه حسنی نژاد فراهانی، دکتر شهلا شاهسوندی، دکتر محمد ابراهیمی
- ۱۶۱۸..... بررسی میزان شیوع عفونت‌های درماتوفیتی در بین دانش‌آموزان مدارس ابتدایی شهرستان کوه‌رنگ در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴.....  
امین سلطانپور، حمید مروتی، دکتر پروین دهقان، مه‌ری رجالی
- ۱۶۲۸..... تخمین دوز جذبی ناشی از رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  در بیماران تحت اسکن استخوان.....  
دکتر داریوش شهبازی گهرویی، مه‌ری دموری، دکتر محمد باقر توکلی، دکتر مسعود مصلحی، صدیقه رستاقی

### نامه به سردبیر

- ۱۶۳۷..... التهاب در سندرم متابولیک: نقش بافت چربی.....  
دکتر مجید خزاعی

## تأثیر تثبیت RGD بر زیست‌سازگاری داربست اکسید سلولز برای مهندسی بافت استخوان

مظفر محمودی<sup>۱</sup>، دکتر علی صمدی کوچکسرایلی<sup>۲</sup>، دکتر محمدرضا نعیمی جمال<sup>۳</sup>، سعید سامانی<sup>۴</sup>، مختار یعقوبی<sup>۵</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** از کارافتادگی بافت‌های انسانی ناشی از انواع آسیب‌دیدگی‌ها، یکی از پرهزینه‌ترین و جدی‌ترین مشکلات در سلامت انسان است و اثر مستقیم بر کیفیت زندگی دارد. مهندسی بافت، به عنوان یک استراتژی مبتنی بر داربست، از جمله حوزه‌های تحقیقاتی امیدوار کننده‌ای است که می‌تواند علاوه بر فراهم کردن بافت و ارگان برای پیوند، چشم‌انداز جدیدی را برای درمان بیماران باز کند. دانشمندان حوزه‌های مختلف کوشیده‌اند تا با وظیفه‌مند کردن داربست، به تعاملات سطحی سلول‌های خاص دست یابند.

**روش‌ها:** پودر سلولز با استفاده از گاز NO<sub>2</sub> اکسید شد و داربست متخلخل به روش پرس خشک آماده گردید. پپتید RGD به سطح داربست متصل گردید تا یک داربست هیبریدی ساخته شود. داربست با FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM یا Scanning electron microscope) مشخصه‌یابی شد و زیست‌سازگاری آن با استفاده از آزمون MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] ارزیابی گردید. نتایج FTIR، اکسیداسیون سلولز و تشکیل پیوند بین سطح داربست و RGD را تأیید کرد. ریزساختار متخلخل با اندازه‌ی تخلخل مناسب نیز به تأیید SEM رسید.

**یافته‌ها:** آنالیز سلولز اکسید شده با FTIR، حاکی از اکسیداسیون موفق پودر و اتصال پپتید RGD به آن از طریق گروه‌های کربوکسیل بود. اندازه‌ی حفرات داربست نیز برای ورود سلول‌ها مناسب بود. با اندازه‌گیری فعالیت متابولیسی سلول‌ها با استفاده از آزمون MTT مشخص گردید که تثبیت RGD بر سطح داربست، اثر قابل توجهی بر تکثیر سلولی داشته است.

**نتیجه‌گیری:** ساختار متخلخل و زیست‌سازگاری زیاد، از مزایای داربست هیبریدی ساخته شده بود. اکسیداسیون سلولز، شرایط مناسبی را برای تثبیت RGD بر سطح داربست و در نتیجه، بهبود زیست‌سازگاری آن فراهم کرد. به علاوه، وجود حفرات با اندازه‌ی مناسب برای ورود استئوبلاست‌ها، داربست را کاندیدای خوبی برای مهندسی بافت استخوان کرد.

**واژگان کلیدی:** اکسید سلولز، پپتید RGD، مهندسی بافت

**ارجاع:** محمودی مظفر، صمدی کوچکسرایلی علی، نعیمی جمال محمدرضا، سامانی سعید، یعقوبی مختار. تأثیر تثبیت RGD بر زیست‌سازگاری داربست اکسید سلولز برای مهندسی بافت استخوان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۲): ۱۶۰۶-۱۵۹۷

۱- مربی، گروه رادیولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۲- استادیار، گروه مهندسی بافت، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۳- دانشیار، گروه شیمی آلی، دانشکده‌ی شیمی، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران، ایران

۴- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی بافت، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۵- مربی، گروه اتاق عمل، دانشکده‌ی پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران



## مقدمه

از کارافتادگی بافت‌های انسانی ناشی از انواع آسیب‌دیدگی‌ها، یکی از پرهزینه‌ترین و جدی‌ترین مشکلات در سلامت انسان است و اثر مستقیم بر کیفیت زندگی دارد. هر چند که از راهبردهای مختلفی نظیر پیوند بافت‌های اتورژنیک و آلورژنیک برای برطرف کردن مشکلات استفاده شده است، اما کمبود اعضای اهدایی و لزوم سرکوب ایمنی در تمام عمر، از جمله مشکلات پیوند عضو است. به علاوه، بافت منتقل شده نمی‌تواند کارایی بافت طبیعی را ارائه دهد (۱).

استخوان به عنوان یک نانوکامپوزیت از بافت‌های مهم و حیاتی بدن به شمار می‌آید (۲). بسیاری از صدمات استخوانی مانند شکستگی‌ها، به علت وجود قابلیت ساخت مجدد در این بافت با درمان معمولی به خوبی مداوا می‌شوند (۱)؛ هر چند که فرایند ترمیم آن در بسیاری از آسیب‌ها و بیماری‌ها مانند ضربات، تصادفات و خوردگی‌های ناشی از تومورهای سرطانی، به طور کامل انجام نمی‌گیرد و رفع این مشکل نیازمند عمل جراحی می‌باشد (۲). همچنین، پیوندها، جایگزین‌ها یا کاشتنی‌های استخوانی برای کمک به بهبودی در شکستگی‌های وسیع و تغییر شکل‌های مادرزادی استخوان، ضروری می‌باشند (۱).

از مواد سنتزی و طبیعی مختلفی نظیر فلزات، سرامیک‌ها، پلی‌مرها و یا کامپوزیت آن‌ها برای ساخت کاشتنی‌ها استفاده شده است. پلی‌مرها، بر خلاف فلزات و سرامیک که فاقد زیست‌تخریب پذیری هستند و فرایند پذیری آن‌ها نیز سخت است، به علت ترکیب شیمیایی و ساختارشان، انعطاف پذیری زیادی در طراحی دارند. همچنین، می‌توان تخریب‌پذیری در یک محیط بیولوژیک را با طراحی

مولکولی در آن‌ها ایجاد کرد (۳). به طور معمول، فعالیت زیستی و عملکرد اسکلتی مواد جایگزین استخوان، به دو ویژگی مهم یعنی تولید یک لایه‌ی آپاتیت روی سطح در شرایط فیزیولوژیک و تحریک چسبندگی، رشد و تمایز سلول‌های استخوانی مربوط می‌شود (۴).

کاشت موفق یک پلی‌مر به عنوان یک زیست‌ماده، نیازمند زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب پذیری و داشتن مراکز عملکردی مناسب برای اصلاح خاصیت تخریب پذیری است. پلی‌مر و محصولاتش باید غیرسمی و غیر ایمنی‌زا باشند و به طور مؤثر در بدن متابولیزه شوند (۵). یکی از مشکلات پلی‌مرهای مورد استفاده در پزشکی، تعامل ناکافی بین پلی‌مر و سلول‌ها است که در *In vivo* منجر به واکنش‌های جسم خارجی مانند التهاب، عفونت، شل شدن غیر عفونی، صدمه دیدن موضعی بافت، کپسوله شدن کاشتنی، ترومبوز و آمبولی می‌شود (۶).

با در نظر گرفتن مشکلات ناشی از مواد غیربیولوژیک مانند عفونت، فقدان زیست‌سازگاری و طول عمر محدود، سلول‌های بنیادی و مهندسی بافت به حوزه‌های تحقیقاتی مهم و امیدوار کننده‌ای تبدیل شده‌اند که ممکن است علاوه بر فراهم کردن بافت و عضو برای پیوند، چشم انداز جدیدی را برای درمان بیماران باز کنند.

در راهبردهای مهندسی بافت مبتنی بر داربست، جزء کلیدی داربست است که به عنوان قالبی برای تعاملات سلول‌ها و تشکیل ماتریس خارج سلولی (ECM یا Extra cellular matrix) عمل می‌کند و حمایت ساختاری را برای بافت شکل گرفته فراهم می‌سازد. داربست از ساکن شدن، مهاجرت، رشد و

تمایز سلولی حمایت می‌کند و اغلب توسعه‌ی بافت لازم را هدایت می‌کند یا به عنوان یک حامل انتقال دارو عمل می‌نماید (۱). ساختار متخلخل با تخلخل‌های به هم متصل، وجود گروه‌های عاملی مناسب در سطح برای برهم‌کنش‌های سلولی، زیست‌تخریب پذیری یا خاصیت زیست‌جذبی، خواص مکانیکی کافی، محصولات حاصل از تخریب غیر سمی و سهولت ساخت، از جمله ویژگی‌های مهم و کلیدی برای یک داربست ایده‌آل هستند (۷).

ثابت شده است که هر چه اتصال و چسبندگی سلول به سطح قوی‌تر و بهتر باشد، از فعال شدن مسیر مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی جلوگیری می‌شود (۸-۹). پاسخ سلول به زیست‌ماده‌ها از طریق تماس مستقیم بین سلول و زیست‌ماده نیست؛ بلکه از طریق لایه‌های تشکیل شده در سطح زیست‌ماده کنترل می‌گردد. این لایه‌ها، بلافاصله در تماس با محیط فیزیولوژیک و از طریق جذب غیر اختصاصی پروتئین‌های ECM تشکیل می‌شوند. شناسایی بیومولکولی ماده توسط سلول‌ها، اغلب به کمک پپتیدهایی انجام می‌گیرد که سلول قادر است به آن‌ها اتصال یابد. این پپتیدها به شکل زنجیره‌های بلند پروتئین‌های ECM یا به شکل توالی‌های پپتیدی کوتاه مشتق شده از پروتئین‌های ECM هستند (۱).

تغییرات و اصلاحات بیوشیمیایی را می‌توان به کمک تکنیک‌های مختلف مانند جذب فیزیکی به سطح (از طریق پیوندهای واندروالسی، آب‌گریز یا نیروهای الکتروستاتیکی) و یا اتصالات شیمیایی به صورت اتصال مولکول هدف به سطح جامد از طریق پیوند کووالانسی انجام داد (۴). برای بهبود زیست‌مواد، تلاش‌هایی صورت گرفته است که از آن

جمله می‌توان به جذب سطحی پروتئین‌های غیراختصاصی، ارتقای جذب سطحی پروتئین‌های اختصاصی، به‌سازی ماده با تثبیت توالی‌های قابل شناسایی توسط سلول برای دستیابی به تعامل کنترل شده بین سلول و زیرلایه‌ی سنتزی اشاره کرد (۶).

لیگاندهای زیست‌فعال مانند پپتیدها و پلی‌ساکاریدها را می‌توان برای ترغیب چسبندگی سلولی خاص، به سطح جذب کرد، به صورت کووالانسی به سطح پیوند زد و یا درون توده‌ی ماده گنجانند (۱). دانشمندان حوزه‌های مختلف کوشیده‌اند تا با وظیفه‌مند کردن پلی‌مرها به تعاملات سطحی سلول‌های خاص دست یابند. در آغاز، این مواد با پروتئین‌های ویژه‌ای از جمله فیبرونکتین، کلاژن یا لامینین پوشش داده شدند. با این حال، استفاده از پروتئین‌ها از نقطه‌نظر کاربردهای پزشکی دارای معایبی است. با شناسایی توالی‌های قابل شناسایی توسط سلول به شکل پپتیدهای کوچک و تثبیت آن‌ها روی سطح، می‌توان بر این مشکلات غلبه کرد (۶).

RGD، تری‌پپتیدی متشکل از سه اسید آمینه‌ی آرژینین (Arg) - گلیسین (Gly) - آسپارتیک اسید (Asp)، مؤثرترین و رایج‌ترین زنجیره‌ی پپتیدی است که موجب بهبود چسبندگی سلولی بر سطح و نیز اتصال سلول به سلول مجاور می‌شود. RGD توسط Pierschbacher و Ruoslahti، به عنوان کوچک‌ترین پپتید مؤثر در چسبندگی سلولی در فیبرونکتین شناسایی شد (۱۰). وزن مولکولی آن  $346/3 \text{ g/mol}$  است و دارای فرمول مولکولی  $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_6$  می‌باشد (۶). عامل فون‌ویلبراند، لامینین، استئوپونین، تناسینو سیالوپروتئین استخوانی از جمله مکان‌های قرارگیری RGD هستند که همگی آن‌ها از پروتئین‌های موجود در

غشای سلول‌های زنده می‌باشند. این تری‌پتید، از یک طرف سبب افزایش اتصال سلول به فیبرونکتین و از طرف دیگر، سبب بهبود چسبندگی سلول می‌شود (۱۱). RGD نه تنها می‌تواند به طور مؤثری چسبندگی سلولی را تحریک کند؛ بلکه می‌تواند به طور اختصاصی رده‌های سلولی خاصی را تحت تأثیر قرار دهد و پاسخ‌های سلولی اختصاصی را برانگیزاند (۶). این پتیدها را می‌توان به صورت کووالانسی از طریق گروه‌های هیدروکسیل، آمین یا کربوکسیل به پلی‌مر متصل کرد (۱).

پلی‌مرهای سنتزی و طبیعی متعددی برای ساخت داربست برای بازسازی استخوان مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. صرف نظر از جنبه‌های اقتصادی و محیطی، ویژگی‌های دیگر مانند زیست‌تخریب پذیری، سمیت کم، هزینه‌ی ساخت کم، هزینه‌ی انهدام کم و تجدید پذیری، باعث افزایش توجه به پلی‌مرهای طبیعی شده است. البته خواص مکانیکی ناکافی این پلی‌مرها که محلول هستند یا سریع تخریب می‌شوند، به همراه افت احتمالی خواص بیولوژیکی طی تولید، اغلب باعث عدم امکان استفاده از آن‌ها به عنوان ماده‌ی داربست منحصر به فرد می‌شود (۱).

پلی‌ساکاریدها خواص عالی مانند عدم سمیت، تجدید پذیری، انحلال پذیری در آب و پایداری در برابر تغییرات pH دارند. اما پایداری حرارتی، مکانیکی و شیمیایی کم از نقایص این مواد است (۱). سلولز و مشتقات آن که جزء پلی‌ساکاریدها محسوب می‌شوند، یکی از گروه‌های مهم از پلی‌مرهای زیست‌تخریب پذیر طبیعی هستند که در مهندسی بافت مورد استفاده قرار گرفته‌اند. ساختار کریستالی و همچنین وزن مولکولی بالای آن نیز خواص منحصر

به فردی به آن داده است (۳).

سلولز به علت وجود تعداد زیاد باندهای هیدروژنی از گروه‌های هیدروکسیل که زنجیره‌های سلولز را با هم نگه می‌دارند، بلوری است (۷). با اصلاح شیمیایی سلولز می‌توان مشتقاتی (سلولوزیک) با فرایند پذیری بهتر تولید کرد. به طور کلی، سلولوزیک‌ها دارای قابلیت بازتولید، بازیابی هستند و زیست‌سازگارند و می‌توانند در کاربردهای پزشکی مختلف استفاده شوند. Esterification و Etherification بر گروه‌های هیدروکسیل سلولز، پیوندهای یونی و رادیکالی، استیله کردن و اکسیداسیون، از دیگر روش‌های اصلاح شیمیایی هستند (۱۲).

اکسیداسیون سلولز باعث تغییر ساختار و بلورینگی می‌شود و بر خواص فیزیکی و شیمیایی اثر می‌گذارد (۷). اکسید سلولز (اکسی سلولز، OC) از جمله پلی‌مرهای نامحلول در آب است که از واکنش سلولز با عوامل اکسید کننده مانند گاز کلر، پراکسید هیدروژن، پراستیک اسید، دی‌اکسید کلر، دی‌اکسید نیتروژن، پرسولفات، پرمنگنات، دی‌کرومات سولفوریک اسید، هیپوکلریک اسید، هیپوهالیت یا پریدوات ایجاد می‌شود. پودر به دست آمده از این طریق بسته به روش استفاده شده ممکن است حاوی عوامل کربوکسیلیک، آلدهید یا کتون و گروه‌های هیدروکسیل باشد (۱۲).

اگر چه سلولز و مشتقات آن توانایی هدایت رشد استخوان را دارند، اما فاقد خاصیت القای تشکیل استخوان هستند و نمی‌توانند تشکیل استخوان جدید در محل‌های بزرگ را تحریک کنند (۳-۴).

با در نظر گرفتن ویژگی‌های منحصر به فرد اکسید

خواجه نصیرالدین طوسی، ایران) به محلول اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت هم‌زده شد و سپس حلال با دستگاه تبخیر روتاری تبخیر و حذف شد.

سپس RGD در دی‌متیل‌فرمامید (DMF) یا Dimethylformamide (۹۰ درصد > USA, Merck) حلال شد و ۵۰ mg از TBTU

(1-[bis(dimethylamino)methylene]-1H-benzotriazol-1-ium 3-oxide tetrafluoroborate)

(۹۰ درصد > USA, Merck) اضافه گردید و داربست‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آن غوطه‌ور شدند.

برای فعال کردن مجدد گروه‌های کربوکسیل، هیبرید داربست-RGD به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق در محلول ۰/۱ مولار NaOH (۹۰ درصد > USA, Merck) قرار داده شد و سپس با آب دو بار تقطیر شده، شسته شد.

از FTIR (Equinox 55, Bruker, USA) در محدوده  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  برای شناسایی گروه‌های کربوکسیل در OC، تشکیل پیوند بین داربست و RGD استفاده شد. شکل و اندازه‌ی تخلخل‌ها و پیوستگی آن‌ها نیز با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM یا Scanning electron microscope) بررسی شد. (Czech Republic VEGA II, TESCAN)

تأثیر تثبیت RGD بر فعالیت سلولی با کشت سلولی و آزمون MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) بررسی گردید. سلول شبه استئوبلاستی انسانی رده‌ی SaOS-2 (مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، ایران) در محیط کشت FBS (Fetal bovine serume) ۱۰ درصد - DMEM (Dulbecco's modified eagle medium)

سلولز و اثرات قابل توجه تثبیت RGD بر چسبندگی و تقسیم سلولی، تحقیق کنونی بر ساخت داربست OC و تثبیت RGD بر سطح آن تمرکز یافت. انتظار می‌رود بهبود خواص باعث شود تا ماده‌ی جدید برای کاربردهای بازسازی استخوان، مورد استفاده‌ی بیشتر قرار گیرد.

## روش‌ها

اکسید سلولز با حرارت دادن پودر میکروکریستالی سلولز (۹۰ درصد > USA, Merck) در  $38\text{ }^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۳ ساعت و تحت جریان گاز  $\text{NO}_2$  تهیه شد. سپس مقدار کافی از پودر به دست آمده با پلی‌متیل‌متاکریلات [PMMA یا Poly (methyl methacrylate) (۹۰ درصد > USA, Sigma-Aldrich) به عنوان حفره‌ساز با نسبت ۱:۱ مخلوط گردید و به صورت یک قرص دیسکی شکل به قطر ۱ cm و ضخامت ۳ mm تحت فشار ۲۵ MPa در آمد. اندازه‌ی ذرات PMMA حدود  $300-600\text{ }\mu\text{m}$  بود. در ادامه، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دی‌کلرومتان (DCM یا Dichloromethane) (۹۰ درصد > USA, Merck) قرار داده شدند تا PMMA شسته شود. در نهایت، نمونه‌ها خشک شدند.

برای جلوگیری از اتصال گروه‌های کربوکسیل و آمین در RGD به یکدیگر طی تثبیت آن روی سطح داربست، باید گروه‌های کربوکسیل، با Esterification محافظت می‌شدند. مقدار کافی از تیونیل کلراید ( $\text{SOCl}_2$  یا Thionyl chloride) (۹۰ درصد > USA, Merck) در اتانول مطلق حل شد و ۱ mmol از RGD (مرکز تحقیقات شیمی پپتید، دانشگاه

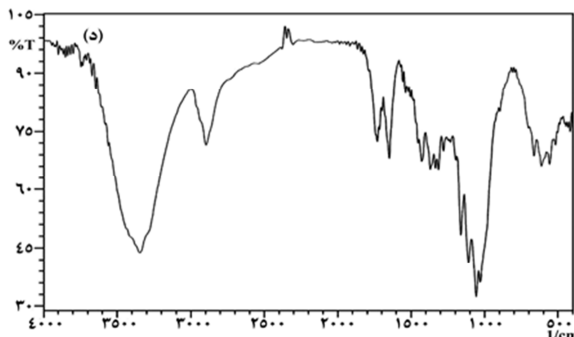
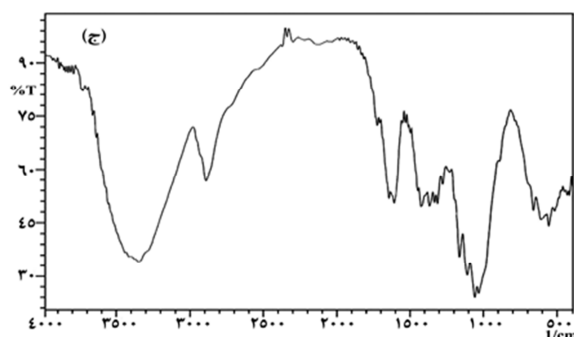
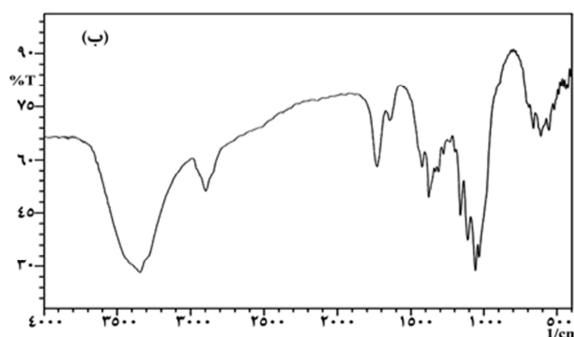
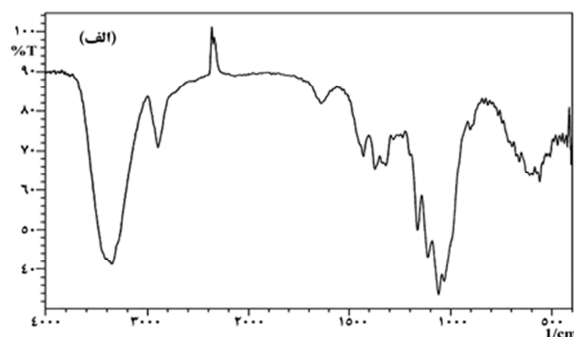
برای تصحیح جذب MTT یا فرمازان توسط داربست، وزن یکسان از داربست برای نمونه‌های OC و OC-RGD به نمونه‌های شاهد در زمان افزودن MTT اضافه و آزمون MTT و محاسبات مربوط به آن ۵ بار تکرار شد. آزمون One-way ANOVA در سطح ضریب اطمینان ۹۵ درصد ( $P = 0/050$ ) و در نرم‌افزار SigmaPlot نسخه‌ی 11.0 (Systat Software, Inc.) برای تجزیه و تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

### یافته‌ها

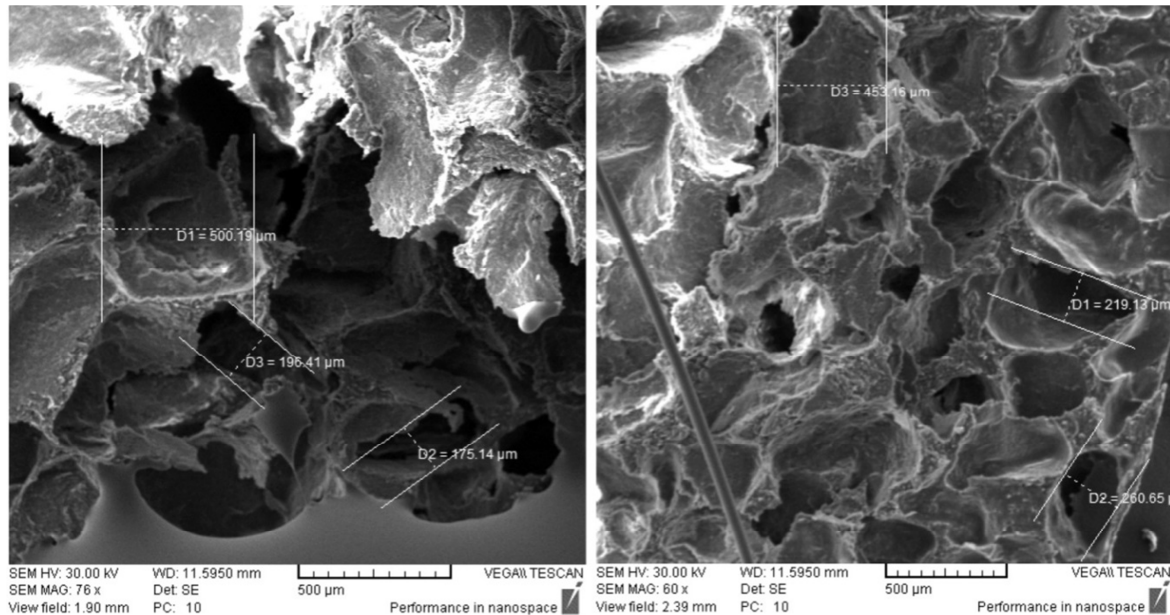
شکل ۱ طیف FTIR پودر سلولز طبیعی، پودر اکسید شده و هیبرید OC-RGD را نشان می‌دهد. شکل ۲ نیز مقطعی از داربست هیبریدی متخلخل (نمونه‌ی OC-RGD) را نشان می‌دهد. در شکل ۳، چگالی نوری نمونه‌های OC و OC-RGD نشان داده شده است.

(Invitrogen, Germany) کشت داده شد و تعداد سلول‌های زنده با رنگ MTT تخمین زده شد. برای آزمون MTT، داربست‌ها با پرتو  $\gamma$  استریل شدند و ۱۰۰۰۰ سلول طبیعی در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  و به مدت ۷۲ ساعت روی داربست کشت داده شدند.

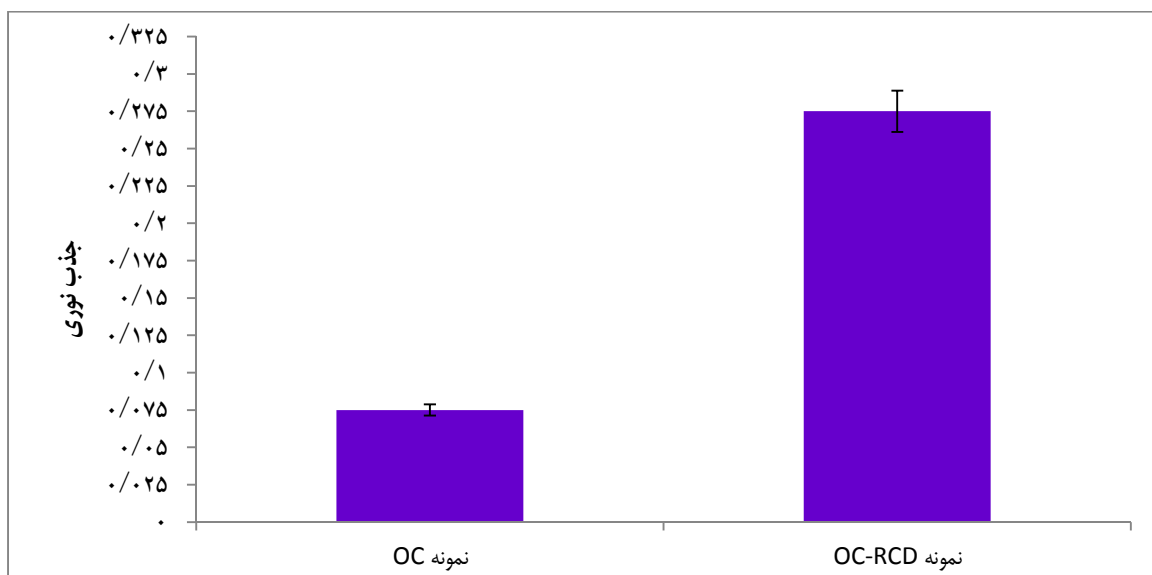
پس از انکوباسیون، محیط کشت با  $150\ \mu\text{l}$  محلول MTT (Sigma-Aldrich, USA) با غلظت  $0/5\ \text{mg/ml}$  جایگزین شد و سلول‌ها به مدت ۹۰ دقیقه انکوبه شدند. پس از انحلال فرمازان تشکیل شده با دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) یا (Dimethyl sulfoxide) (Sigma-Aldrich, USA) مقدار  $100\ \mu\text{l}$  از محلول به پلیت ۹۶ خانه منتقل و چگالی نوری (OD یا Optical density) در طول موج  $570\ \text{nm}$  خوانده شد. چاهک بدون داربست به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد.



شکل ۱. طیف (Fourier transform infrared spectroscopy) FTIR (الف سلولز، ب) اکسید سلولز، ج) هیبرید OC-RGD قبل از فعال کردن RGD، د) هیبرید OC-RGD بعد از فعال کردن RGD



شکل ۲. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از مقاطع مختلف داربست هیبریدی (OC-RGD) متخلخل



شکل ۳. نتیجه‌ی آزمون MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) سلول‌های

استوبلاست کشت داده شده روی داربست. داده‌ها به صورت  $\text{mean} \pm \text{SD}$  آمده‌اند ( $n = 5$ ,  $P < 0.001$ )

(۱۳). سلولز اکسید شده مانند سلولز، بسیار زیست‌سازگار (۵) و پلی‌مری زیست‌تخریب‌پذیر است. افزایش تعداد گروه‌های کربوکسیلی آب‌دوست باعث بهبود زیست‌تخریب‌پذیری OC می‌شود (۶). شدت باندهای  $1700-1800 \text{ cm}^{-1}$  با مقدار کربوکسیل،

### بحث

اکسیداسیون سلولز باعث تغییرات مهمی در طیف FTIR آن، از جمله ظهور باندهای قوی در  $1700-1750 \text{ cm}^{-1}$  و تغییر در محدوده‌ی  $1150-1430 \text{ cm}^{-1}$  و  $2800-3000 \text{ cm}^{-1}$  می‌شود

راحت‌تر انجام شود. هر چند که افزایش تخلخل، می‌تواند باعث کاهش استحکام مکانیکی شود، اما داربست دارای تخلخل‌های گسترده و به هم متصل (اغلب بیشتر از ۹۰ درصد) علاوه بر فراهم کردن سطح و ساختار متخلخل برای تحریک رشد سلول‌ها به درون داربست در *In vitro*، فضای لازم برای رگ‌زایی مجدد در *In vivo* را هم فراهم می‌کند.

اندازه‌ی تخلخل نیز باید مناسب سلول‌های استئوبلاستی باشد تا سلول‌ها بتوانند وارد داربست شوند. در بازسازی استخوان، حفرات با اندازه‌ی  $200-400 \mu\text{m}$  مناسب تشخیص داده شده است (۱). طبق شکل ۲، اندازه‌ی تخلخل‌ها در حدود  $300-350 \mu\text{m}$  است که برای سلول‌های استئوبلاست با اندازه‌ی  $20-30 \mu\text{m}$  مناسب است. انتظار می‌رود داربست بتواند حمایت خوبی برای تجمع سلول‌ها و در نتیجه رشد و تکثیر آن‌ها فراهم کند.

چون با آزمون MTT فعالیت متابولیکی سلول‌ها اندازه‌گیری می‌شود، نتیجه‌ی به دست آمده را می‌توان به تعداد سلول‌های زنده ربط داد. بر اساس داده‌های شکل ۳، تثبیت RGD بر سطح داربست اثر قابل توجهی ( $P < 0/001$ ) بر تکثیر سلول‌های استئوبلاست و در نتیجه زیست‌سازگاری داربست داشت. در مجموع، می‌توان چنین گفت که داربست هیبریدی ساخته شده با داشتن ویژگی‌های مناسب ساختاری و بیولوژیکی، می‌تواند به عنوان جایگزین بافت صدمه دیده با هدف کمک به بازسازی استخوان در نظر گرفته شود.

### تشکر و قدردانی

از زحمات و راهنمایی‌های فراوان جناب آقای دکتر

نسبت مستقیم دارد. کاهش شدت پیک در  $1430 \text{ cm}^{-1}$  و  $2800-3000 \text{ cm}^{-1}$  (شکل ۱-ب) نشان‌دهنده‌ی افزایش مقدار کربوکسیل است. به علاوه، تخریب و در نتیجه کاهش نظم ساختاری، باعث محو شدن باندهای جذبی در  $1030-1160 \text{ cm}^{-1}$  و  $1430-1160 \text{ cm}^{-1}$  خواهد شد (۱۳).

در شکل ۱-ب پیک  $1735 \text{ cm}^{-1}$  به وضوح دیده می‌شود که به گروه کربوکسیل تعلق دارد. با Esterification و تبدیل گروه کربوکسیل به کربوکسی متیل، گروه‌های آمین RGD با گروه‌های کربوکسیل داربست واکنش می‌دهند و باعث اتصال RGD به سطح از طریق پیوند کووالانسی می‌شوند. پیک مربوط به گروه کربوکسیل ( $1735 \text{ cm}^{-1}$ ) در طیف OC-RGD (شکل ۱-ج) در اثر تشکیل پیوند بین گروه کربوکسیل سطح داربست و گروه آمین در RGD محو خواهد شد. فعال کردن مجدد RGD باعث تغییر گروه کربوکسی متیل در RGD محافظت شده به گروه کربوکسیل می‌شود و در نتیجه، بار دیگر یک پیک در حدود  $1735 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر خواهد شد (شکل ۱-د).

ویژگی‌های سطح مانند مورفولوژی، آب‌دوستی، انرژی سطحی و بار سطحی، اثرات مهمی بر چسبندگی، مهاجرت، حفظ فنوتیپ سلولی و انتقال سیگنال درون سلولی در شرایط *In vitro* دارند. ساختار ماکروسکوپی و میکروسکوپی داربست به میزان قابل توجهی بر حیات، رشد و تکثیر سلول‌ها اثر می‌گذارد. همچنین، بیان ژن‌ها نیز تحت تأثیر قرار خواهد گرفت.

حضور مقدار زیاد تخلخل در داربست، باعث می‌شود تعداد سلول‌های بیشتری بتوانند به درون داربست وارد شوند و تبادل مواد غذایی و زاید

سعید بالایی ریاست محترم مرکز تحقیقات شیمی پتید

دانشگاه خواجه نصیرالدین طوسی سپاسگزاری می‌گردد.

## References

1. Puppi D, Chiellini F, Piras AM, Chiellini E. Polymeric materials for bone and cartilage repair. *Prog Polym Sci* 2010; 35(4): 403-40.
2. Standring S. *Gray's anatomy: The anatomical basis of clinical practice*. 40<sup>th</sup> ed. London, UK: Churchill Livingstone; 2008.
3. Zadegan S, Hossainipour M, Ghassai H, Rezaie HR, Naimi-Jamal MR. Synthesis of cellulose/nanohydroxyapatite composite in 1-n-butyl-3-methylimidazolium chloride. *Ceram Int* 2010; 36(8): 2375-81.
4. Bartouilh de Taillac L, Porte-Durrieu MC, Labrugere C, Bareille R, Amedee J, Baquey C. Grafting of RGD peptides to cellulose to enhance human osteoprogenitor cells adhesion and proliferation. *Compos Sci Technol* 2004; 64(6): 827-37.
5. Khil M, Kim H, Kang Y, Bang H, Lee D, Doo J. Preparation of electrospun oxidized cellulose mats and their in vitro degradation behavior. *Macromol Res* 2005; 13(1): 62-7.
6. Hersel U, Dahmen C, Kessler H. RGD modified polymers: biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond. *Biomaterials* 2003; 24(24): 4385-415.
7. Verma V, Verma P, Ray P, Ray AR. 2, 3-Dihydrazone cellulose: Prospective material for tissue engineering scaffolds. *Mater Sci Eng C* 2008; 28(8): 1441-7.
8. Haubner R, Gratias R, Diefenbach B, Goodman SL, Jonczyk A, Kessler H. Structural and functional aspects of RGD-containing cyclic pentapeptides as highly potent and selective integrin  $\alpha V \beta 3$  antagonists. *J Am Chem Soc* 1996; 118(32): 7461-72.
9. Stupack DG, Puente XS, Boutsaboualoy S, Storgard CM, Cheresch DA. Apoptosis of adherent cells by recruitment of caspase-8 to unligated integrins. *J Cell Biol* 2001; 155(3): 459-70.
10. Pierschbacher MD, Ruoslahti E. Cell attachment activity of fibronectin can be duplicated by small synthetic fragments of the molecule. *Nature* 1984; 309(5963): 30-3.
11. Pfaff M. Recognition sites of RGD-dependent integrins. In: Eble JA, editor. *Integrin-ligand interaction*. New York, NY: Springer; 1997. p. 101-21.
12. Kamel S, Ali N, Jahangir K, Shah M, El-Gendy AA. Pharmaceutical significance of cellulose: A review. *Express Polym Lett* 2008; 2(11): 758-78.
13. Zimnitsky DS, Yurkshtovich TL, Bychkovsky PM. Synthesis and characterization of oxidized cellulose. *Polym Chem* 2004; 42(19): 4789-91.



## Effect of RGD Immobilization on Biocompatibility of Oxidized Cellulose Scaffold in Bone Tissue Engineering

Mozaffar Mahmoodi MSc<sup>1</sup>, Ali Samadi-Kuchaksaraei PhD<sup>2</sup>,  
Mohammad Reza Naimi-Jamal PhD<sup>3</sup>, Saeed Samani PhD<sup>4</sup>, Mokhtar Yaghubi<sup>5</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Human tissue failures caused by different damages or injuries are the most serious and costly problems in health care and have direct effect on life quality. Tissue Engineering, as a scaffold-based strategy, provides promising research field and may offer innovative viewpoints to treat diseases. Scientists in various fields have tried to functionalize polymers to achieve special surface cell interactions.

**Methods:** Cellulose powder was oxidized with NO<sub>2</sub> gas and the porous scaffold was fabricated via dry pressing. RGD peptide was immobilized on the surface of scaffold via grafting to make a hybrid scaffold. The hybrid scaffold was characterized by FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) and SEM (Scanning electron microscope) and its biocompatibility was examined through MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay.

**Findings:** FTIR results proved oxidization of cellulose and bonding between scaffold surface and RGD. Porous microstructure having suitable size was confirmed via SEM. The results of MTT showed significant increase of viable cells on hybrid scaffold.

**Conclusion:** Porous structure and high biocompatibility were benefits of prepared hybrid scaffold. Cellulose oxidation can present suitable condition for RGD immobilization caused to enhance biocompatibility. In addition, existing pores in good size conditioned hybrid scaffold to engineer bone tissue.

**Keywords:** Cellulose, Oxidized-RGD peptide, Tissue engineering

**Citation:** Mahmoodi M, Samadi-Kuchaksaraei A, Naimi-Jamal MR, Samani S, Yaghubi M. **Effect of RGD Immobilization on Biocompatibility of Oxidized Cellulose Scaffold in Bone Tissue Engineering.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(352): 1597-606

1- Instructor, Department of Radiology, School of Paramedical Sciences, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran  
2- Assistant Professor, Department of Tissue Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran  
3- Associate Professor, Department of Organic Chemistry, School of Chemistry, Iran University of Science and Technology, Tehran, Iran  
4- PhD Student, Department of Tissue Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran  
5- Instructor, Department of Operating Room, School of Nursing and Midwifery, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

**Corresponding Author:** Mozaffar Mahmoodi MSc, Email: mzffrmahmoodi@gmail.com

## بررسی پتانسیل اثر بازدارندگی میوهی آقطی سیاه بر تکثیر اولیهی ویروس آنفلوانزا

آمنه حسنی نژاد فراهانی<sup>۱</sup>، دکتر شهلا شاهسوندی<sup>۲</sup>، دکتر محمد ابراهیمی<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**مقدمه:** آنفلوانزا تهدید جدی سلامت جوامع انسانی و حیوانی در سطح جهان است. در سال‌های اخیر، با افزایش سویه‌های مقاوم به دارو، ترکیبات طبیعی گیاهی با خواص ضد ویروسی و آثار جانبی کمتر اهمیت ویژه‌ای یافته‌اند. در این مطالعه، پتانسیل اثر بازدارندگی میوهی آقطی سیاه بر سلول‌های اپی‌تلیومی آلوئولار تنفسی انسان (A549) آلوده شده با ویروس آنفلوانزا ارزیابی شد.

**روش‌ها:** عصاره‌ی آبی میوهی آقطی سیاه تهیه و میزان آستانه‌ی سمیت عصاره برای سلول‌های A549، برآورد شد. سپس، ۵۰ درصد اثر بازدارندگی ( $IC_{50}$  یا Half maximal inhibitory concentration) غلظت‌های مختلف عصاره بر ویروس و نیز شاخص انتخابی (SI یا Selectivity index) در دو فرآیند پیش‌آزمون (پیش از اتصال ویروس به سلول یا اثر مستقیم) و پس‌آزمون (پس از جذب ویروس به سلول یا اثر غیر مستقیم) محاسبه شد. اثر بازدارندگی عصاره‌ی این گیاه بر تکثیر ویروس با عیارسنجی و آزمایش کمی Real time reverse transcription polymerase chain reaction (Real time RT-PCR) ارزیابی شد.

**یافته‌ها:** غلظت ۸۲/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌ی میوهی آقطی سیاه دوز آستانه، اثر سمی بر روی سلول A549 نداشت. میزان SI برآورد شده‌ی عصاره، پیش از اتصال ویروس به سلول (۱۵/۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، افزایش عیار ویروس و نیز سنتز RNAهای نوکلئوپروتئین ویروسی نشان داد که این گیاه اثر بازدارندگی مستقیم بر فعالیت هم‌اگلوتینین ویروس ندارد. در پس‌آزمون، میزان بیشتر SI، کاهش قابل توجه عیار و تعداد رونوشت‌های نوکلئوپروتئین ویروس، تأیید کننده‌ی اثر مهارتی این گیاه بر فعالیت‌های جوانه زدن و انتشار ویرون‌ها بود.

**نتیجه‌گیری:** تیمار سلول‌های اپی‌تلیومی تنفسی انسان آلوده شده با ویروس آنفلوانزا با آقطی سیاه، ممکن است بر رهاسازی ذرات ویروسی اثر بازدارنده داشته باشد و یا در عملکرد رشته‌های لیبیدی سلول تداخل ایجاد نماید. مکانیسم این برهم‌کنش، در مطالعات آینده مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

**واژگان کلیدی:** ویروس آنفلوانزا، آقطی سیاه، فعالیت ضد ویروسی، تکثیر اولیه

**ارجاع:** حسنی نژاد فراهانی آمنه، شاهسوندی شهلا، ابراهیمی محمد. بررسی پتانسیل اثر بازدارندگی میوهی آقطی سیاه بر تکثیر اولیهی

ویروس آنفلوانزا. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۲): ۱۶۱۷-۱۶۰۷

#### مقدمه

همه‌گیری‌های گسترده‌ی آنفلوانزا، یکی از عوامل ابتلا به مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته است. در دهه‌ی اخیر، انتقال مستقیم ویروس آنفلوانزای

پرندگان به انسان، تهدیدی برای پیدایش سویه‌ی جدیدی است که در صورت کسب توان انتشار فرد به فرد، سبب وقوع اپیدمی جهانی خواهد شد (۱-۲). از نظر ساختار ژنومی، آنفلوانزا RNA ویروس

۱- کارشناس ارشد، گروه بیوتکنولوژی گیاهی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- استادیار، مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران

۳- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی گیاهی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: شهلا شاهسوندی

سلول‌های دیگر جلوگیری می‌کنند؛ و یا بازدارنده‌های M2 هستند که عمل کانال یونی را مختل می‌کنند. داروهای رایج اوسلتامی‌ویر، آمانتادین و ریباویرین، کارایی محدودی در درمان آنفلوانزا در جمعیت‌های متفاوت دارند (۵-۷). با توجه به میزان بالای رخداد مقاومت ویروس آنفلوانزا نسبت به داروها، نیاز به طراحی داروهای جدید که فعالیت‌های ویژه‌ی ویروس را هدف قرار دهند و سبب توقف یک یا چند مرحله از چرخه‌ی عفونت‌زایی شوند، بیش از پیش احساس می‌شود.

فعالیت گلیکوپروتئین HA، فعالیت RNA پلی‌مراز ویروسی، و برهم‌کنش‌های سلول میزبان- ویروس، اهداف داروهای جدید ضد آنفلوانزا هستند. به طور کلی، شروع عفونت آنفلوانزا نتیجه‌ی اتصال HA ویروس به گیرنده‌های حاوی اسید سیالیک در زنجیره‌های جانبی کربوهیدراتی در سطح گلیکوپروتئینی و گلیکولیپیدی سلول است. آنزیم سیالیداز بر روی فرایند اتصال HA ویروس به سلول میزبان و تکثیر اولیه‌ی آن در سلول اثر می‌گذارد و هر دو پیوندهای  $\alpha 2,3$  و  $\alpha 2,6$  را که توسط این پروتئین بر روی گیرنده‌های سطحی اپی‌تلیوم تنفسی شناسایی می‌شوند، می‌شکند. برداشتن گیرنده‌های اسید سیالیک از سلول‌های اپی‌تلیومی، سبب توقف عملکرد HA و مانع اتصال ویروس به سلول می‌شود. برهم‌کنش HA با گیرنده‌های سلولی به طور مؤثر توسط ماکرومولکول‌های مصنوعی و ترکیبات آلی کوچک که بازدارنده‌های هم‌جوشی غشایی هستند، مختل می‌شود. اگر چه این ترکیبات در شرایط آزمایشگاهی خاصیت ضد ویروسی برجسته نشان می‌دهند، اما اغلب سمی و فاقد مجوز مصرف انسانی هستند (۸-۱۰).

پوشش‌دار متعلق به خانواده‌ی Orthomyxoviridae با قطبیت منفی و ژنوم هشت قطعه‌ای است که نوکلئوپروتئین (NP یا Nucleoprotein)، پروتئین‌های داخلی پلی‌مرازی PB1، PB1-F2، PB2، PA و گلیکوپروتئین‌های سطحی هماگلوتینین (HA یا Hemagglutinin) و نورآمینیداز (NA یا Neuraminidase) پروتئین‌های ماتریکس M1 (Matrix1) و M2 (Matrix2) و پروتئین‌های غیر ساختمانی NS1 (Non structural1) و NS2 (Non structural2) را رمزدهی می‌کند. در مطالعات اخیر، وجود دو پروتئین PA-X و N40 در تعدادی از ویروس‌های آنفلوانزا مشخص شده است (۳).

چرخه‌ی آلوده شدن سلول‌های اپی‌تلیال میزبان توسط ویروس آنفلوانزا، یک فرایند چند مرحله‌ای شامل اتصال ویروس و هم‌جوشی غشای آن با غشای اندوزم سلول میزبان، پیامد شناسایی گیرنده‌ی اسید سیالیک سطح سلول توسط پروتئین HA و برش پروتئازی آن، تشکیل کانال یونی M2 و رهاسازی ریبونوکلئوپروتئین‌های ویروس (vRNPs یا Viral ribonucleoproteins) و RNA پلی‌مراز وابسته به RNA درون سیتوپلاسم، ورود vRNA (viral RNA) ها به هسته‌ی سلول و رونویسی از vRNA، و ترجمه‌ی Messenger RNA های (mRNA) ویروسی به پروتئین، و در نهایت، سر هم شدن اجزای ساختمانی ویروس و آزادسازی ویروس‌های تولید شده طی عمل جوانه زدن با دخالت پروتئین NA می‌باشد (۳-۴).

داروهای ضد آنفلوانزای در دسترس، دو مکانیسم عمل دارند: یا بازدارنده‌های NA هستند که از آزادسازی ویرون‌های جدید و انتشار ویروس به

لکتین، مواد قندی، اسید والزیانیک و اسید استیک است و دمنوش آن در درمان سرماخوردگی و بیماری‌های دستگاه تنفسی کاربرد دارد. گزارش شده است که مصرف شربت این گیاه پس از چهار روز سبب بهبود علائم بیماری آنفلوانزا و کاهش میزان تب می‌شود (۱۳).

در این پژوهش، اثر عصاره‌ی آبی میوه‌ی آقطی سیاه بر روی ویروس آنفلوانزا در دو مرحله‌ی پیش از اتصال ویروس به سلول و نیز بر روی تکثیر آن بررسی شد.

### روش‌ها

تهیه‌ی عصاره‌ی آبی میوه‌ی آقطی سیاه: میوه‌ی گیاه آقطی سیاه در مردادماه ۱۳۹۴ از روستای متکازین شهرستان بهشهر استان مازندران جمع آوری شد. سپس در سایه خشک شد و به پودر تبدیل گردید. ۱۰۰ گرم از پودر به دست آمده در ۳۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر با دمای ۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد. محلول با استفاده از کاغذ واتمن شماره‌ی یک صاف شد. سپس، از فیلتر ۰/۲۲ میکرونی عبور داده شد. پس از تبخیر محلول حاصل، عصاره‌ی خشک شده به وزن ۱۴/۵ گرم تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت.

سلول آلوئولار تنفسی انسان (A549): سلول‌های اپی‌تلیال تنفسی، اولین هدف ویروس‌های آنفلوانزا هستند. برای انجام این پژوهش، رده‌ی سلولی A549 (ATCC NO CCL-185) گرفته شده از آلوئولار تنفسی انسان، از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. سلول در محیط DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) به

هماندسازی و رونویسی ژنوم ویروس توسط RNA پلی‌مرز انجام می‌شود و تکثیر ویروس مستلزم مشارکت این آنزیم با NP برای تشکیل RNP است. آنالوگ‌های نوکلئوزیدی بازدارنده‌ی RNA پلی‌مرز ویروسی، از همانندسازی ویروس درون سلول و در نتیجه تکثیر آن جلوگیری می‌کنند. بنابراین، RNA پلی‌مرز هدف مناسب برای طراحی داروهای ضد ویروس با دامنه‌ی گسترده می‌باشد؛ چرا که ساختار آن بین سویه‌های آنفلوانزا بسیار حفظ شده است. بسیاری از مولکول‌های سلول میزبان، نقش مهمی در تکثیر ویروس‌های آنفلوانزا دارند (۱۱).

ترکیبات بازدارنده‌ی آبشارهای انتقال پیام داخل سلولی که کانال یونی M2 را غیر فعال می‌کنند و بازدارنده‌های پروتئازهای سلولی که فعال شدن پروتئازی HA را متوقف می‌کنند، اهداف مناسبی برای طراحی نسل جدید با اثر بر روی برهم‌کنش سلول-ویروس هستند (۱۲).

محققین بیوتکنولوژی دارویی با گرایش فزاینده به سمت فراورده‌های گیاهی، به طراحی و تولید داروهای نوین روی آورده‌اند. آقطی سیاه با نام علمی *Sambucus nigra* درختچه‌ای است که در مناطق کوهپایه‌ای مانند همدان و آذربایجان و همچنین، در مناطق مرطوب رشد می‌کند. برگ‌های آن سبز رنگ، بیضوی، دندانه‌دار و مرکب از ۷-۵ برگچه و گل‌های آن سفید و خوشه‌ای است که در اواخر بهار ظاهر می‌شوند. میوه‌ی این گیاه شبیه انگور به رنگ آبی تیره تا سیاه می‌باشد. تمام بخش‌های این گیاه که «انگور کولی» و «خمان کبیر» نیز نامیده می‌شود، قابل استفاده هستند. میوه‌ی آقطی سیاه، دارای انواع آنتوسیانین شامل Sanbucyanin, Sambucin, Chrysanthemین

عصاره بر فعالیت پروتئین HA ویروس، دو فرایند پیش‌آزمون (پیش از اتصال ویروس به سلول یا اثر مستقیم) و پس‌آزمون (پس از جذب ویروس به سلول یا اثر غیر مستقیم) طراحی شد. سلول‌های A549 در میکروپلیت‌های ۲۴ خانه با تراکم  $10^5$  سلول در هر چاهک کشت داده شدند. مخلوط عصاره و ویروس آنفلوانزا با دوزهای عفونی کننده (MOI یا Multiplicity of infection) برابر با ۰/۱ و ۱ جداگانه به هر چاهک اضافه گردید و برای هر غلظت، چهار چاهک در نظر گرفته شد.

در هر میکروپلیت، شاهد‌های چندگانه شامل سلول (سلول + محیط)، ویروس (سلول + ویروس) و عصاره (سلول + بیشترین غلظت غیر سمی عصاره‌ی گیاه) در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۱ ساعت از قرار دادن میکروپلیت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، مخلوط از سطح هر چاهک تخلیه گردید و محیط DMEM حاوی سرم جایگزین شد. میکروپلیت‌ها مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و  $CO_2$  ۵ درصد قرار داده شد. بر اساس روش ممانعت از CPE، اثر غلظت‌های مختلف عصاره که مانع بروز ۵۰ درصد CPE (Half maximal inhibitory concentration یا  $IC_{50}$ ) در یکی از چاهک‌ها شود، محاسبه شد و شاخص انتخابی (SI یا Selectivity index) یا بی‌ضرری از نسبت  $CC_{50}$  به  $IC_{50}$  به دست آمد.

در پیش‌آزمون، ویروس آنفلوانزا با  $MOI = 1$  روی سلول‌های A549 که در میکروپلیت‌های ۲۴ خانه با تراکم  $10^5$  سلول در هر چاهک کشت داده شده بودند، به مدت ۱ ساعت جذب داده شد. سپس، سوسپانسیون ویروسی از سطح هر چاهک تخلیه شده

همراه ۱۰ درصد سرم جنین گوساله (FBS یا Fetal bovine serum) و محلول آنتی‌بیوتیک شامل پنی‌سیلین و استرپتومایسین در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد کشت داده شد.

ویروس آنفلوانزا: ویروس آنفلوانزا H9N2 جدایی سال ۲۰۱۱ ایران ثبت شده در GenBank با شماره‌ی رهگیری JX456181 انتخاب شد. عیار ویروس با روش سنجش پلاک (۱۴) بر روی سلول A549 تعیین گردید.

سنجش میزان آستانه‌ی سمیت عصاره برای سلول‌های تنفسی: برای این منظور، از روش مشاهده‌ی میکروسکوپی آثار آسیب سلولی (CPE یا Cytopathogenic effect) و برآورد میزان (Cytotoxic concentration 50) با رنگ‌آمیزی Trypan blue استفاده شد. سلول‌های A549 در میکروپلیت‌های ۴۸ خانه با تراکم  $10^6$  سلول در هر چاهک کشت داده شد. پس از تشکیل تک لایه‌ی کاملی از سلول، رقت‌های مختلف عصاره به سلول‌ها اضافه گردید. با در نظر گرفتن شاهد مناسب از سلول، میکروپلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و  $CO_2$  ۵ درصد قرار گرفتند و روزانه از نظر پدیدار شدن CPE بررسی شدند. ۴۸ ساعت پس از کشت که بهترین زمان تکثیر سلولی است، پس از شستشوی سلول‌ها، رنگ Trypan blue ۴ درصد به تمام چاهک‌ها افزوده و درصد سلول‌های زنده محاسبه شد. بالاترین غلظت عصاره که به کاهش رشد کمتر از ۵۰ درصد سلول‌ها منجر شود، آستانه‌ی سمیت عصاره‌ی میوه‌ی آقطی سیاه برای سلول‌های تنفسی در نظر گرفته شد.

بررسی اثر ضد ویروسی عصاره‌ی میوه‌ی آقطی سیاه بر روی ویروس آنفلوانزا: برای بررسی اثر

مورد ارزیابی قرار گرفت و اختلاف با  $P < 0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

پس از گذشت ۴۸ ساعت از زمان تلقیح رقت‌های مختلف عصاره، میزان  $CC_{50}$  عصاره‌ی میوه‌ی آقطی سیاه بر روی سلول A549 برابر با  $82/6$  میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد؛ بدین معنی که غلظت‌های بیش از این برای سلول قابل تحمل نیست. در پیش‌آزمون در چاهک‌های شاهد سلول و هر دوی غلظت‌های عصاره، سیمای سلول‌ها طبیعی بود. در حالی که در چاهک‌های شاهد ویروس و چاهک‌های مربوط به اثر ضد ویروسی، CPE شامل گرد و بزرگ شدن سلول‌ها و در ساعات پایانی کنده شدن آن‌ها از بستر مشاهده شد (شکل ۱). میزان  $IC_{50}$  برابر با  $5/47$  و  $SI$  برابر با  $15/10$  میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

در مرحله‌ی پیش‌آزمون، بر اساس نتایج آزمایش عیارسنجی آقطی سیاه به طور مستقیم اثری بر روی ویروس آنفلوانزا نداشت و همانند سلول‌های شاهد که فقط با ویروس آلوده شده بودند، عیار ویروس در این دوز عفونی‌کننده، افزایش تدریجی داشت [از  $0/18 \pm 3/68$  به  $0/17 \pm 4/53$  واحد تشکیل. پلاک بر میلی‌لیتر (PFU/ml)]. به طور مشابه، افزایش تعداد رونوشت‌های NP ویروس (شکل ۲) نشان دهنده‌ی تکثیر ویروس در حضور عصاره است. داده‌ها بیانگر این هستند که عصاره‌ی میوه‌ی آقطی سیاه، اثر بازدارندگی روی فعالیت اتصال گلیکوپروتئین HA ویروس آنفلوانزا ندارد؛ چرا که ویروس وارد سلول شده و تکثیر یافته است.

در پس‌آزمون، میزان  $IC_{50}$  برابر با  $2/05$  و  $SI$  برابر

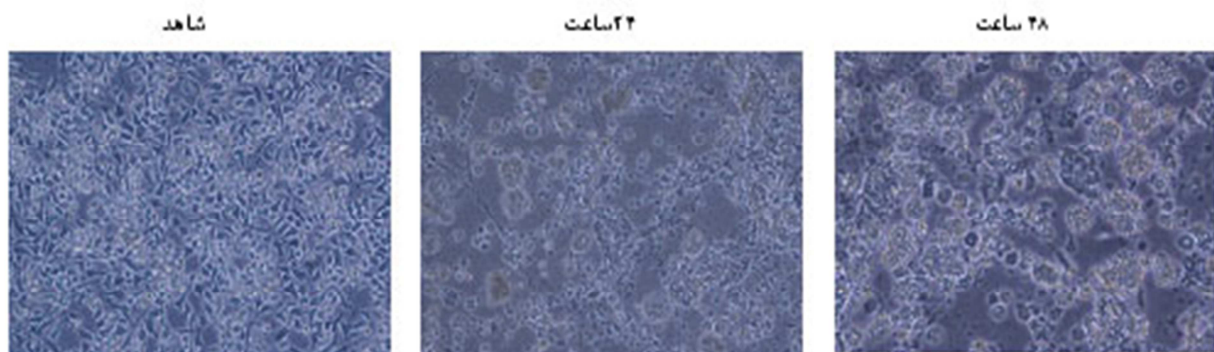
و غلظت‌های عصاره‌ی تهیه شده در محیط DMEM حاوی سرم، جایگزین شد. میکروپلیت‌ها مدت ۴۸ ساعت در دمای  $37$  درجه‌ی سانتی‌گراد و  $CO_2$  ۵ درصد قرار گرفت و SI محاسبه شد. به هنگام آلوده کردن سلول A549 به ویروس آنفلوانزا، محلول تریپسین افزوده نشد (۱۵).

ارزیابی تعداد رونوشت‌های mRNA ژن NP ویروس با استفاده از آزمایش Real time PCR (Real time reverse transcription polymerase chain reaction): برای استخراج RNA سوسپانسیون‌های کشت سلولی از کیت High Pure RNA Isolation (Roche, Germany) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. نمونه‌های RNA تهیه شده در دمای  $20-$  درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای ارزیابی بیان ژن NP ویروس و تشخیص این که «آیا ویروس وارد سلول شده و تکثیر یافته است؟»، از آغازگرهای NPF: 5'-ACTCAGCGACCAAGAAGGAA-3' و NPR: 5'-CAGCAGTTGCATCTTCTCCA-3' و کیت SuperScript@qRT-PCR SuperMix (Invitrogen, USA) استفاده شد (۱۶). مقدار محصول با استفاده از ۱ Fluorescence SYBRGreen reporter برای ردیابی قطعات دو رشته‌ای تکثیر شده و بیان ارزش چرخه‌ی آستانه (Ct یا Cycle threshold) در مقایسه با بیان ژن  $\beta$ -actin به عنوان شاهد داخلی با آغازگرهای  $\beta$ -actinF: 5'-TGCTGTGTTCCCATCTATCG-3' و  $\beta$ -actinR: 5'-TTGGTGACAATACCGTGTTC-3' برآورد گردید.

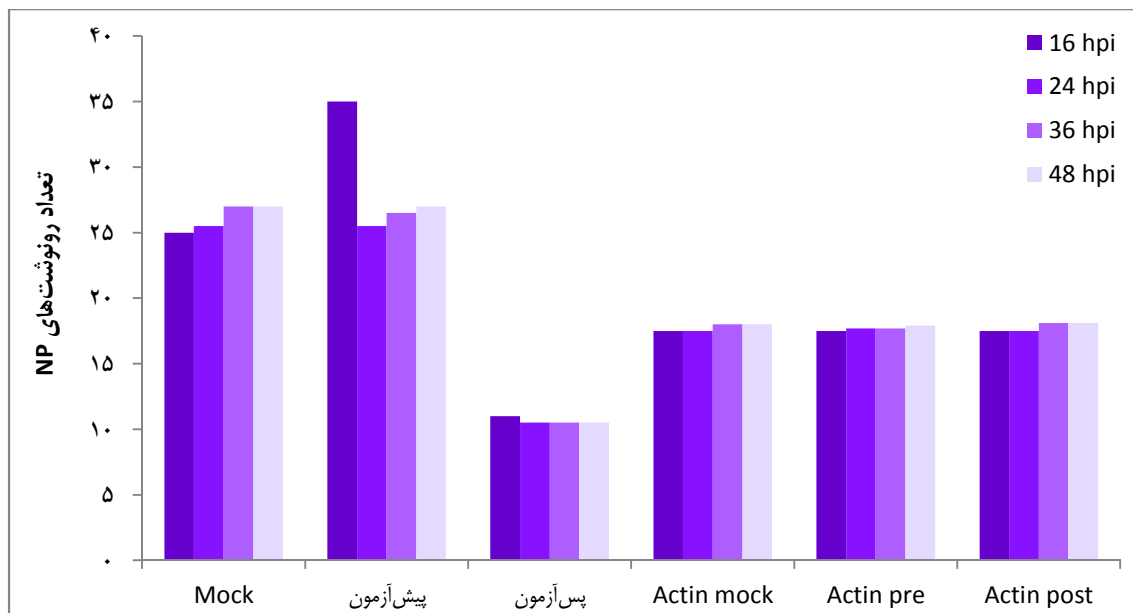
داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه‌ی ۱۶، SPSS Inc., Chicago, IL)

این است که عصاره پس از اتصال ویروس به گیرنده‌های سطح سلول، اثر خود را اعمال کرده است؛ چرا که ویروس‌های جذب شده، تکثیر یافته‌اند، اما در سلول‌های دیگر منتشر نشده‌اند (شکل ۲). بدین ترتیب، عصاره‌ی میوه‌ی آقطی سیاه، بازدارنده‌ی فعالیت اتصال HA نیست و بر روی تکثیر ویروس‌هایی که جذب و با آندوسیتوز درون سلول وارد شده‌اند، اثری ندارد.

با ۴۰/۲۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت، سیمای سلول‌ها طبیعی بود و همانند سلول‌های شاهد بود. با عدم وجود CPE، کاهش عیار ویروس از  $0/18 \pm 3/68$  به  $0/18 \pm 2/45$  PFU/ml و کاهش تعداد رونوشت‌های ژن NP مشاهده شد. میزان بیشتر SI، کاهش نسبی تعداد رونوشت‌های این ژن داخلی و کاهش شدید عیار ویروس در مقایسه با پیش‌آزمون، نشان دهنده‌ی



شکل ۱. سلول‌های A549 آلوده شده با ویروس آنفلوانزا در غیاب تریپسین در  $MOI = 1$  (Multiplicity of infection) در پیش‌آزمون با عصاره‌ی میوه‌ی آقطی سیاه. علایم آسیب سلولی شامل بزرگ شدن و کنده شدن سلول‌ها پس از ۲۴ ساعت مشاهده می‌شوند (بزرگ‌نمایی  $\times 100$ ).



شکل ۲. تعداد رونوشت‌های NP ویروس آنفلوانزا در حضور عصاره‌ی میوه‌ی آقطی سیاه در  $MOI = 1$  (Multiplicity of infection) در پیش‌آزمون و پس‌آزمون در مقایسه با سلول‌های A549 که فقط با ویروس آلوده شده‌اند (Mock) در ساعات مختلف پس از آلودگی

## بحث

همه‌گیری‌های گسترده و جهانی آنفلوانزا، تهدید جدی برای جمعیت‌های انسانی و حیوانی در سطح جهانی هستند. آسان بودن راه‌های انتقال و انتشار ویروس، تغییرات ژنتیک، بازپدید و نوپدید شدن تنوع‌های آنتی‌ژنی و پدیدار شدن سویه‌های مقاوم به داروهای رایج، نیاز به معرفی ترکیباتی که مراحل مختلف چرخه‌ی زندگی ویروس را هدف قرار می‌دهند، بیشتر کرده است (۱۷).

گیاهان به دلیل قدمت طب گیاهی، کم‌هزینه بودن تهیه‌ی آن نسبت به داروهای شیمیایی و همچنین عوارض بسیار کم ناشی از مصرف آن‌ها، بخش بزرگی از تحقیقات دارویی را به خود اختصاص داده‌اند. با وجود تحقیقات گسترده و اثبات اثر ضد ویروسی عصاره‌ی برخی گیاهان که دارای فلاونوئید، آنتراکینون و مشتقات آن‌ها هستند، چگونگی اثر آن‌ها بر روی ویروس‌های مورد مطالعه به طور کامل مشخص نشده است.

در این پژوهش، فعالیت بازدارندگی عصاره‌ی میوه‌ی آقطی سیاه در کشت‌های سلول تنفسی انسان آلوده شده با ویروس آنفلوانزا در دو مرحله‌ی پیش‌آزمون و پس‌آزمون بررسی و برای اطمینان از فعالیت ضد ویروسی عصاره، شاخص انتخابی یا بی‌ضرری آن محاسبه شد. این شاخص تأیید کننده‌ی فعالیت ضد ویروسی واقعی عصاره‌ی گیاه است؛ بی‌آن که اثر سمی بر روی سلول داشته باشد. برای تکثیر برخی سویه‌های ویروس آنفلوانزا، افزودن تریپسین به سلول‌های فاقد سرین پروتئاز ضروری است. این آنزیم، اتصال و چسبندگی پروتئین‌ها و برهم‌کنش‌های سلول-سلول و سلول-سلول-ماتریکس را از بین می‌برد.

به همین دلیل، برای کنده شدن سلول‌ها از بستر افزوده می‌شود. چنانچه مقدار تریپسین و مدت زمان اثردهی آن بر روی سلول زیاد شود، از توان زنده بودن سلول‌ها و در نتیجه عیار ویروس‌های آلوده کننده کاسته می‌شود.

نتایج مطالعات پیشین بیانگر این است که سلول‌های اپی‌تلیوم تنفسی انسان، دارای سرین پروتئازهایی مانند TMPRSS2 هستند که پروتئین HA ویروس‌های آنفلوانزا را برش می‌دهند و در نتیجه، شرایط ورود و تکثیر اولیه‌ی این ویروس بدون نیاز به افزودن تریپسین را فراهم می‌کنند (۱۵). از طرف دیگر، ویروس آنفلوانزا القاکننده‌ی مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی وابسته به دوز و زمان در سلول A549 است (۱۶). در این پژوهش، برای آن که تداخلی با اثر احتمالی ضد ویروسی عصاره‌ی گیاه ایجاد نشود، تریپسین به کشت‌های سلولی افزوده نشد و میزان MOI ویروس کمتر از ۲ در نظر گرفته شد. داده‌های این بررسی بیانگر این هستند که عصاره‌ی میوه‌ی آقطی سیاه، بر روی فعالیت HA اثری ندارد؛ چرا که در هر دوی مراحل پیش‌آزمون و پس‌آزمون، ویروس وارد سلول شده و تکثیر یافته است.

بر خلاف نتایج به دست آمده در این مطالعه، نشان داده شده است که عصاره‌ی آقطی سیاه اثر بازدارندگی بر روی ویروس آنفلوانزا در سلول‌های کلیه‌ی سگ سانان (MDCK) یا (Madin-Darby canine) دارد (۱۸). این سلول انتخابی، برای جداسازی ویروس آنفلوانزا از نمونه‌های بالینی است و برای ورود و تکثیر اولیه‌ی ویروس، افزودن تریپسین به آن ضروری می‌باشد. بنا بر این، احتمال دارد کاهش عیار ویروس‌های آلوده



کننده، ناشی از افزودن تریپسین به سلول باشد. Roschek و همکاران اثر بازدارندگی این گیاه بر فعالیت HA ویروس را به یک فلاونوئید متیله اسـتـرـیـفـیهـی آن (5,7,3',4-tetra-O-methyl-*quercetin* dihydromyricetin-3-yl-3,4,5-) و نسـبـت (trihydroxycyclohexanecarboxylate) نسـبـت داده‌اند (۱۹).

به طور کلی، گیاهانی که دارای ترکیبات پلی فنلی، فلاونوئید، ساپونین، گلوکوزید و آلكالوئید بیشتری هستند، احتمال دارد درجاتی از اثر بازدارندگی بر روی عفونت‌های ویروسی داشته باشند و در بهبودی علائم بالینی بیماری نیز مؤثر باشند (۲۰-۲۲). نتایج مطالعات متعدد بیانگر اثر بازدارندگی گاوزبان، گیاه کوشنه یا قسط چینی، گونه‌ای از گیاه به ژاپنی، شمعدانی، رز کوهی صورتی، انار، سرخارگل، آنگوزه، گل قاصدک و چای سبز بر روی ویروس آنفلوانزا است (۲۳-۲۸). عصاره‌های آبی و الکلی بیشتر این گیاهان، غنی از ترکیبات پلی فنلی است و به همین دلیل، مهار مراحل اولیه‌ی تکثیر ویروس با توقف اتصال HA به سلول در شرایط آزمایشگاهی و عملکرد احتمالی آن‌ها بیان می‌شود.

نشان داده شده است که عصاره‌ی ریشه‌ی گیاه آنگوزه، ساخت پروتئین M ویروس آنفلوانزا در سیتوپلاسم سلول میزبان را متوقف می‌کند و اثری شبیه به داروی تجاری آمانتادین علیه ویروس H1N1 دارد (۲۳). عملکرد اصلی گل قاصدک، بازداشتن فعالیت پلی مرازی و کاهش میزان mRNA نوکلئوپروتئین ویروس آنفلوانزا است (۲۸). بازدارندگی وابسته به دوز چای سبز مربوط به Epigallocatechin آن است

که علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی، بر روی فعالیت‌های HA و NA و ساخته شدن RNA پلی‌مراز ویروس در هر دو مرحله‌ی پیش‌آزمون و پس‌آزمون اثر می‌گذارد (۲۴).

پتانسیل ضد ویروسی تعداد معدودی از این گیاهان در مدل‌های حیوانی نیز بررسی شده است. عصاره‌های آبی و الکلی ریشه‌های هوایی شمعدانی، حاوی فلاونوئید و اسیدهای فنلی هستند و در مقدار کمتر از ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر روی مراحل اولیه‌ی تکثیر ویروس آنفلوانزا در کشت سلول اثر می‌گذارند. احتمال می‌رود پتانسیل بازدارندگی به دلیل تحریک عملکرد ماکروفاژها و تنش‌های اکسیداتیو القا شده توسط ویروس، در مدل حیوانی بیشتر باشد. عصاره‌ی آبی رز کوهی صورتی، غنی از ترکیبات پلی فنلی و آنتوسیانین است که در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بر روی مراحل اولیه‌ی تکثیر ویروس مؤثر است و مانع ورود آن به سلول می‌شود. مصرف خوراکی این عصاره در موش، حفاظتی علیه ویروس آنفلوانزا القا نکرده است (۲۰).

گزارش شده است مصرف شربت Sambucol حاوی ترکیبات گیاه آقطی سیاه، سبب کاهش تب و علائم بالینی در مبتلایان شده است (۲۹). بهبودی علائم بالینی، می‌تواند به دلیل وجود لکتین و آنتوسیانین در گیاه باشد که سبب تقویت سامانه‌ی ایمنی می‌شوند. داده‌های این مطالعه بیانگر این هستند که عصاره‌ی آبی میوه‌ی این گیاه، بازدارنده‌ی فعالیت گلیکوپروتئین HA نیست، اما ممکن است از دو جهت بر روی تکثیر ویروس اثر بگذارد: یکی آن که روی عملکرد NA اثر داشته باشد؛ چرا که این پروتئین با حذف بقایای اسید سیالیک، سبب رهاسازی ویروس از سلول آلوده شده‌ی

غشای سلول، انتقال داخل سلولی پروتئین‌های ویروس و جوانه زدن بر عهده دارند (۳۱-۳۰). بررسی اثر عصاره‌ی میوه‌ی آقطی سیاه بر روی عملکرد پروتئین NA ویروس آنفلوانزا و نیز نقش رشته‌های لیپیدی سلول میزبان در القای شرایط ضد ویروس، در مطالعات آتی پیشنهاد می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

منابع مالی اجرایی این پروژه توسط موسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تأمین شده است. بدین‌وسیله از دست اندرکاران سپاسگزاری می‌شود.

میزبان و ورود آن به سلول دیگر می‌شود. کاهش عیار اولیه در مدت ۴۸ ساعت در پس‌آزمون، بیانگر آن است که ویروس‌های تازه تکثیر یافته، نتوانسته‌اند از غشا جوانه بزنند و سلول مجاور را آلوده کنند. دوم آن که این ترکیب گیاهی با هدف قرار دادن رشته‌های لیپیدی سلول، مانع ورود ویروس به سیتوپلاسم سلول میزبان شود. هنگامی که ویروس، سلول میزبان را آلوده می‌کند، سامانه و پروتئین‌های سلول را در خدمت خود می‌گیرد تا با کمک آن‌ها ذرات ویروسی جدیدی بسازد.

رشته‌های لیپیدی نقش مهمی در مراحل مختلف تکثیر ویروس آنفلوانزا شامل هم‌جوشی ویروس با

### References

- Butt KM, Smith GJ, Chen H, Zhang LJ, Leung YH, Xu KM, et al. Human infection with an avian H9N2 influenza A virus in Hong Kong in 2003. *J Clin Microbiol* 2005; 43(11): 5760-7.
- Russell CJ, Webster RG. The genesis of a pandemic influenza virus. *Cell* 2005; 123(3): 368-71.
- Wright PF, Neumann G, Kawaoka Y. Orthomyxoviruses. In: Fields B N, Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2007. P. 1961-740.
- Shahsavandi Sh. A review: evaluating the dynamics of influenza viruses replication and host cell- virus interactions. *J Arak Univ Med Sci* 2015; 18(5): 1-20. [In Persian].
- Ong AK, Hayden FG. John F. Enders lecture 2006: antivirals for influenza. *J Infect Dis* 2007; 196(2): 181-90.
- Cheung CL, Rayner JM, Smith GJ, Wang P, Naipospos TS, Zhang J, et al. Distribution of amantadine-resistant H5N1 avian influenza variants in Asia. *J Infect Dis* 2006; 193(12): 1626-9.
- Kiso M, Mitamura K, Sakai-Tagawa Y, Shiraishi K, Kawakami C, Kimura K, et al. Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study. *Lancet* 2004; 364(9436): 759-65.
- Triana-Baltzer GB, Babizki M, Chan MC, Wong AC, Aschenbrenner LM, Campbell ER, et al. DAS181, a sialidase fusion protein, protects human airway epithelium against influenza virus infection: an in vitro pharmacodynamic analysis. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(2): 275-84.
- Furuta Y, Takahashi K, Shiraki K, Sakamoto K, Smee DF, Barnard DL, et al. T-705 (favipiravir) and related compounds: Novel broad-spectrum inhibitors of RNA viral infections. *Antiviral Res* 2009; 82(3): 95-102.
- Malakhov MP, Aschenbrenner LM, Smee DF, Wandersee MK, Sidwell RW, Gubareva LV, et al. Sialidase fusion protein as a novel broad-spectrum inhibitor of influenza virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(4): 1470-9.
- Eyer L, Hruska K. Antiviral agents targeting the influenza virus: a review and publication analysis. *Vet Med* 2015; 58(3): 113-85.
- Pinto R, Herold S, Cakarova L, Hoegner K, Lohmeyer J, Planz O, et al. Inhibition of influenza virus-induced NF-kappaB and Raf/MEK/ERK activation can reduce both virus titers and cytokine expression simultaneously in vitro and in vivo. *Antiviral Res* 2011; 92(1): 45-56.
- European Medicine Agency. Science Medicine Health. Assessment report on Sambucus nigra L., fructus. EMA/HMPC/44208/2012. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) [Online]. [cited 2013 Mar 12]; Available from: URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Herbal\\_-HMPC\\_assessment](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-HMPC_assessment)

- \_report/2013/04/WC500142245.pdf.
14. Shavsavandi S, Ebrahimi MM. Influenza. Tehran, Iran: Iranian Student Book Agency; 2013. [In Persian].
  15. Zarrin Lebas N, Shavsavandi S, Mohammadi A, Ebrahimi MM, Bakhshesh M. Replication efficiency of influenza a virus H9N2: A comparative analysis between different origin cell types. *Jundishapur J Microbiol* 2013; 6(9): e8584.
  16. Shavsavandi S, Ebrahimi MM, Sadeghi K, Mosavi SZ, Mohammadi A. Dose- and time-dependent apoptosis induced by avian H9N2 influenza virus in human cells. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 524165.
  17. Shavsavandi S. Virus genetic variations and evade from immune system, the present influenza challenges: review article. *Tehran Univ Med J* 2015; 73(7): 469-77. [In Persian].
  18. Zakay-Rones Z, Thom E, Wollan T, Wadstein J. Randomized study of the efficacy and safety of oral elderberry extract in the treatment of influenza A and B virus infections. *J Int Med Res* 2004; 32(2): 132-40.
  19. Roschek B, Jr., Fink RC, McMichael MD, Li D, Alberte RS. Elderberry flavonoids bind to and prevent H1N1 infection in vitro. *Phytochemistry* 2009; 70(10): 1255-61.
  20. Hudson JB. The use of herbal extracts in the control of influenza. *J Med Plants Res* 2009; 3(13): 1189-95.
  21. Wang X, Jia W, Zhao A, Wang X. Anti-influenza agents from plants and traditional Chinese medicine. *Phytother Res* 2006; 20(5): 335-41.
  22. Liu AL, Wang HD, Lee SM, Wang YT, Du GH. Structure-activity relationship of flavonoids as influenza virus neuraminidase inhibitors and their in vitro anti-viral activities. *Bioorg Med Chem* 2008; 16(15): 7141-7.
  23. Lee CL, Chiang LC, Cheng LH, Liaw CC, Abd El-Razek MH, Chang FR, et al. Influenza A (H1N1) Antiviral and Cytotoxic Agents from *Ferula assa-foetida*. *J Nat Prod* 2009; 72(9): 1568-72.
  24. Song JM, Lee KH, Seong BL. Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus. *Antiviral Res* 2005; 68(2): 66-74.
  25. Ketabchi S, Moatari A, Shadram M, Rostami Y. The anti influenza virus activity of *Anchusa Italica*. *Asian J Exp Biol Sci* 2011; 2(4): 758-61.
  26. Kwon HJ, Kim HH, Yoon SY, Ryu YB, Chang JS, Cho KO, et al. In vitro inhibitory activity of *Alpinia katsumadai* extracts against influenza virus infection and hemagglutination. *Virology* 2010; 7: 307.
  27. Sawai R, Kuroda K, Shibata T, Gomyou R, Osawa K, Shimizu K. Anti-influenza virus activity of *Chaenomeles sinensis*. *J Ethnopharmacol* 2008; 118(1): 108-12.
  28. He W, Han H, Wang W, Gao B. Anti-influenza virus effect of aqueous extracts from dandelion. *Virology* 2011; 8: 538.
  29. Vlachojannis JE, Cameron M, Chrubasik S. A systematic review on the sambuci fructus effect and efficacy profiles. *Phytother Res* 2010; 24(1): 1-8.
  30. Suzuki T, Suzuki Y. Virus infection and lipid rafts. *Biol Pharm Bull* 2006; 29(8): 1538-41.
  31. Takahashi T, Suzuki T. Function of membrane rafts in viral lifecycles and host cellular response. *Biochem Res Int* 2011; 2011: 245090.

## The Potential Inhibitory Effect of Sambucus Nigra Fruit on Early Replication of Influenza Virus

Ameneh Hasaninejad-Farahani<sup>1</sup>, Shahla Shahsavandi PhD<sup>2</sup>, Mohammad Ebrahimi PhD<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Influenza is considered as a serious threat to human and animal health worldwide. In recent years, with the rise of drug-resistant strains, antiviral property of herb natural components with fewer side effects is of great importance. In this study, the potential antiviral activity of *Sambucus nigra* fruit was evaluated in human epithelium cell (A549) cultures infected with influenza virus.

**Methods:** The aqueous extract of *Sambucus nigra* fruit was prepared and the cytotoxic concentration of the extract on A549 cells was determined. Subsequently, the 50 percent inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of various herbal extract concentrations for inhibiting the replication of influenza virus and the selective index (SI) were assessed following pre-treatment (before the virus attachment to cells or direct effect) and post-treatment (after virus absorption to cells or indirect effect) procedures. Inhibitory effect of the herb on virus replication was examined via using virus titration and quantitative real time reverse transcription polymerase chain reaction (real time RT-PCR).

**Findings:** The concentration of 82.6 µg/ml was the threshold dose of the substance that did not cause a cytotoxic effect against the cells. The estimated selective index of the extract before cellular attachment (15.10 µg/ml), increased viral titer as well as synthesized viral nucleoprotein RNAs indicating that the herb had no direct inhibitory effects on viral hemagglutinin activity. In post-treatment, the higher estimated selective index, a significant decrease was seen in virus titer and viral nucleoprotein copy numbers confirming that the herb inhibited virion budding and release activities.

**Conclusion:** The results suggest that *Sambucus nigra* treatment of the influenza virus infected-human epithelial cells may affect either inhibition of virus particle release or involving in cellular lipid raft function. Mechanism of this interaction will be investigated in future studies.

**Keywords:** Influenza virus, *Sambucus nigra*, Antiviral activity, Early replication

**Citation:** Hasaninejad Farahani A, Shahsavandi Sh, Ebrahimi M. **The Potential Inhibitory Effect of *Sambucus Nigra* Fruit on Early Replication of Influenza Virus.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(352): 1607-17

1- Department of Agricultural Biotechnology, Payame Noor University, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran

3- Associate Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Payame Noor University, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Shahla Shahsavandi PhD, Email: s.shahsavandi@rvsri.ac.ir

## بررسی میزان شیوع عفونت‌های درماتوفیتی در بین دانش‌آموزان مدارس ابتدایی شهرستان کوه‌رنگ در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴

امین سلطانیپور<sup>۱</sup>، حمید مروتی<sup>۱</sup>، دکتر پروین دهقان<sup>۲</sup>، مهری رجالی<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** هدف از انجام این مطالعه، تعیین شیوع نسبی عفونت‌های درماتوفیتی در بین دانش‌آموزان مدارس ابتدایی شهرستان کوه‌رنگ در سال ۱۳۹۴-۱۳۹۳ بود.

**روش‌ها:** در این مطالعه، تعداد ۸۹۱ نفر از دانش‌آموزان مدارس ابتدایی از نظر وجود ضایعات سطحی مشکوک بررسی و از افراد دارای ضایعه نمونه‌گیری به عمل آمد و با روش‌های مطالعه‌ی مستقیم و کشت، از نظر وجود عناصر قارچی مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** از ۴۳۱۳ دانش‌آموز مقطع ابتدایی، تعداد ۸۹۱ نفر مورد بررسی قرار گرفتند و از ۴۰ نفر دارای ضایعه‌ی مشکوک به عفونت قارچی، نمونه‌گیری به عمل آمد. در این میان، تعداد ۱۰ مورد مثبت تشخیص داده شد. موارد مثبت عبارت از ۸ مورد درماتوفیت شامل ۵ مورد *Trichophyton verrucosum*، ۱ مورد *Microsporoum canis*، ۱ مورد *Miorosporum gypseum*، ۱ مورد *Trichophyton violaseum* و ۲ مورد غیر درماتوفیت شامل جنس *Malassezia* عامل *Pityriasis* بودند.

**نتیجه‌گیری:** ۷۰ درصد موارد ابتلا در قشر ضعیف از نظر اجتماعی، اقتصادی و فرهنگی و همچنین از نظر بهداشت ظاهری قرار داشتند که مهم‌ترین علت آن، می‌تواند بهداشت پایین و سبک زندگی دامداری و کشاورزی در این خانواده‌ها باشد. با توجه به زئونوز بودن *Dermatophytosis*، بدیهی است که سبک زندگی در این طبقه‌ی اجتماعی تأثیر به‌سزایی در بروز این بیماری‌ها دارد. کشاورزی و دامداری و نیز زندگی نزدیک با سایر حیوانات از جمله گربه و سگ در کنار سطح بهداشت و آگاهی پایین، از عوامل زمینه‌ساز مهم در ابتلا به درماتوفیتوز می‌باشند.

**واژگان کلیدی:** عفونت‌های قارچی، *Dermatophytosis*، درماتوفیت

**ارجاع:** سلطانیپور امین، مروتی حمید، دهقان پروین، رجالی مهری. بررسی میزان شیوع عفونت‌های درماتوفیتی در بین دانش‌آموزان مدارس ابتدایی شهرستان کوه‌رنگ در سال‌های ۱۳۹۴-۱۳۹۳. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۲): ۱۶۲۷-۱۶۱۸

### مقدمه

در مورد عفونت‌های قارچی سطحی و جلدی در ایران (به عنوان یکی از مشکلات بهداشت عمومی) تاکنون هیچ گونه بررسی اپیدمیولوژیک جامعی صورت نگرفته است. به همین دلیل، بروز و انتشار

این عفونت‌ها بر اساس مناطق جغرافیایی، فصل، سن، جنس، شغل و وضع اقتصادی، به طور کامل و دقیق مشخص نشده است (۱).

برای ایجاد عفونت قارچی غیر از حضور فیزیکی عامل بیماری‌زا در محیط، عوامل دیگر مانند بالا بودن

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه قارچ‌شناسی و انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی و کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران  
 ۲- استادیار، گروه قارچ‌شناسی و انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران  
 ۳- مربی، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

در بررسی مراجعین به کلینیک درماتولوژی در اهواز، ۲۱/۶ درصد موارد مبتلا به Dermatophytosis بودند که ضایعات کچلی سر در ۱۱ درصد و ضایعات نوع Ectothrix در ۸۸/۹ درصد موارد مشاهده شد و Endothrix و Tinea favosa به ترتیب در رده‌های بعدی قرار داشتند. Trichophyton verrucosum بیشترین عامل بیماری بود (۴). در مطالعه‌ی محسن‌زاده در گناباد نیز Ectothrix ۴۷/۱۵ درصد، Endothrix ۳۰/۵۷ Tinea Favosa درصد و Endothrix ۲۲/۲۸ درصد گزارش گردید (۵). در کرمانشاه، Endothrix ۵۴ درصد، Tinea favosa ۳۸/۶ درصد و Ectothrix ۸/۴ درصد موارد بیان شده بود که شیوع عوامل Endothrix مثل Trichophyton violaceum در آن منطقه گزارش شده بود (۶). در بندرعباس، کچلی کشاله‌ی ران ۳۷/۵ درصد، کچلی سر ۲۲/۵ درصد، کچلی بدن ۲۰/۷ درصد و شایع‌ترین عوامل، Trichophyton mentagrophytes (۳۵/۸ درصد)، Trichophyton rubrum (۲۵/۱ درصد) و Epidermophyton floccosum (۲۲/۴ درصد) بودند (۷).

در مطالعه‌ی یوسفی و کیوانی در شهرکرد هیچ کدام از موارد مشکوک در آزمایشگاه تأیید نگردید (۸). امامی نیز میزان شیوع بیماری‌های قارچی در دانش‌آموزان ابتدایی کاشان و حومه را ۱/۳۶ درصد اعلام نمود (۹). قجری در چابهار این رقم را ۲ درصد (۱۰)، قوامیان در بروجرد و حومه آن را ۲ درصد (۱۱)، اسدی در محلات و حومه آمار مطالعه مشابه خود را ۱ درصد (۱۲) و امرالهی در سمنان و حومه آلودگی قارچی را ۱/۱ درصد بیان کردند (۱۳). در مطالعه‌ای قدیمی‌تر، ممتاز و همکاران در اصفهان میزان

درجه‌ی حرارت، رطوبت، سن، شغل، شرایط زندگی و عدم رعایت موازین بهداشتی اهمیت به‌سزایی دارند؛ به طوری که مجموعه‌ای از یک یا چند عامل پیش‌گفته در یک دسته از افراد باعث انتشار بیماری در آن‌ها می‌شود (۲).

کچلی سر، عفونت درماتوفیتی موی سر، ابرو و مژه است که در افراد زیر ۱۰ سال شیوع بیشتری دارد و به طور معمول، جنس مذکر بیشتر از جنس مؤنث به آن مبتلا می‌شوند. این بیماری بر اساس تهاجم قارچ به مو است و علایم بالینی بیماری به سه فرم Ectothrix, Endothrix و Tinea favosa دیده می‌شود (۳).

شایع‌ترین نوع بیماری کچلی در اطفال قبل از دبستان و کودکان دبستانی و افراد تا ۱۴ سال کچلی سر می‌باشد؛ به طوری که طبق آمار، حدود ۱۵ میلیون نفر در دنیا دچار کچلی سر می‌باشند (۱). در مطالعه‌ای در شهرستان ورامین از نظر شیوع کچلی سر و بدن، از بین ۲۰۵۵ دانش‌آموز دختر و پسر، ۲۰ مورد ضایعه‌ی کاندیدای دور ناخن دست، ۲ مورد کچلی بدن (۲ دانش‌آموز دختر، ۰/۱ درصد) و ۱ مورد کچلی سر (۱ دختر ۷ ساله، ۰/۰۵ درصد) با عامل Trichophyton violaceum گزارش شده است (۱).

در مشکین‌شهر ۰/۷ درصد موارد مورد بررسی، مبتلا به کچلی سر بودند. میزان شیوع در پسرها ۰/۸ درصد و در دخترها ۰/۶ درصد بود. بیشتر مبتلایان در سن ۱۱ سالگی (۳۹/۵ درصد) مشاهده شدند و قارچ Trichophyton violaceum به عنوان عامل شایع کچلی سر در دانش‌آموزان این شهر بود (۲). مطالعه‌ای نیز با هدف بررسی شیوع کچلی سر در کرمان صورت گرفت که هیچ موردی یافت نشد (۳).

کشور که شیوع Dermatophytosis در آن مشخص شده بود، ارایه شد (۲۰).

در ایران، عوامل شایع کچلی سر *Ectothrix verrucosum* Trichophyton (۲۴-۲۱) و *Microsporoum canis* (۲۸-۲۵) گزارش شده است. عوامل مسبب کچلی سر *Endothrix* و *Tinea favosa* در ایران به ترتیب *Trichophyton violaseum* و *Shaun lines trichophyton* (۲۸-۲۹) می‌باشند. در حالی که در آمریکا و انگلستان، عامل اصلی *Endothrix*، *Trichophyton tonsurans* گزارش شده است (۳۰-۳۱).

توزیع عوامل مختلف کچلی سر در نواحی مختلف جغرافیایی متفاوت است. برخی بر این معتقدند که شرایط اقلیمی عامل مهمی در وجود یا عدم وجود گونه‌ی خاص درماتوفیتی نمی‌باشد (۳۲). برای مثال، در طول سال‌های گذشته در ایران (۲۵-۲۸)، عربستان (۳۳)، کویت (۳۴)، قطر (۳۵) و ایتالیا (۳۶-۳۷) شایع‌ترین عامل کچلی سر *Microsporoum canis* بوده است. در حالی که در مصر (۱۹)، عراق (۳۸)، ترکیه (۳۹) و لیبی (۴۰) شایع‌ترین عامل *Trichophyton violaseum* گزارش شده است.

با توجه به این که هیچ مطالعه‌ای بر روی انواع کچلی در استان چهارمحال و بختیاری گزارش نشده بود، این مطالعه با هدف پیشبرد اهداف کلان در مدیریت بهداشت منطقه و آگاهی جامعه‌ی علمی از وضعیت بهداشتی در این منطقه انجام شد.

## روش‌ها

تیم تحقیق به همراه یک نفر مربی بهداشت اداره‌ی

بیماری قارچی را ۱۶/۴ درصد کل بیماری‌های پوستی گزارش نمودند که از این بین، کچلی سر بیشترین مورد و به دنبال آن کچلی بدن و *Tinea versicolor* در رده‌های بعد قرار داشتند (۱۴).

در مطالعه‌ای که توسط Abdel-Rahman و همکاران در منطقه‌ی شهری Kansas city روی ۴۴ مرکز آموزشی در سنین زیر ۱۴ سال از نظر شیوع انواع درماتوفیت صورت گرفت، ۶/۶۲ درصد موارد کشت مثبت بودند که آلودگی افراد سیاه پوست بیشتر از افراد تیره‌رنگ و سفید پوست بود (۱۵). در مطالعه‌ی Laczynski و Cestari در منطقه‌ای روستایی در برزیل، هیچ مورد Dermatophytosis گزارش نشد (۱۶). Bilge Hapchioglu در بررسی کچلی پا و کچلی در استانبول، ۱۱ مورد کچلی پا و ۲۴ مورد کچلی ناخن گزارش کرد. *Trichophyton rubrum* عامل شایع کچلی پا و *Candida albicans* و *Candida glabrata* عوامل شایع کچلی ناخن بودند (۱۷).

در مطالعه‌ی Hussein در فلسطین، آمار بسیار عجیبی از کچلی سر (۲۷/۷ درصد)، کچلی پا (۲۳/۴ درصد)، کچلی ناخن (۲۲/۳ درصد)، کچلی کشاله‌ی ران (۲۰/۲ درصد) و کچلی بدن (۶/۴ درصد) گزارش شد. شایع‌ترین عامل *Microsporoum canis* (۷۵/۳۷ درصد) بود (۱۸). مطالعه‌ای در قاهره، کچلی سر را شایع‌ترین بیماری قارچی در این منطقه می‌داند (۱۹). در مطالعه‌ی نقشه‌سازی پراکندگی جغرافیایی بیماری‌های قارچی در ایران که توسط نوروزی و همکاران صورت گرفت، پراکندگی کشوری بیماری‌های کچلی در قالب یک مقاله‌ی قابل تحسین و منحصر به فرد و با تهیه‌ی نقشه‌ی پراکندگی Dermatophytosis در مناطقی از

آموزش و پرورش شهرستان مربوط به محل اعزام شد. جلب رضایت اداره‌ی آموزش و پرورش شهرستان کوهرنگ، قبل از اعزام به صورت کتبی انجام گرفت.

پس از انتخاب مدارس، موافقت کتبی و شفاهی از مدیران مربوط اخذ و سپس اقدام به معاینه‌ی دانش‌آموزان شد. ابتدا دانش‌آموزان نسبت به بیماری قارچی توجیه شدند تا در موقع نمونه‌گیری و معاینه دچار استرس نشوند. همچنین، پرسش‌نامه‌ای به ازای هر فرد معاینه شده تنظیم گردید.

دانش‌آموزان در زیر نور معمولی از نظر ضایعات سر و بدن معاینه شدند. در صورت مواجهه با ضایعه‌ی مشکوک، محل ضایعه با الکل ۷۰ درصد تمیز و سپس اقدام به نمونه‌گیری شد.

برای نمونه‌گیری از ضایعات مشکوک به کچلی، سر مو با قیچی کوتاه شد و سپس با موچین دو سر پهن از عمق فولیکول خارج و پوسته‌ی محل درگیری تراشیده شد. نمونه‌گیری از ضایعات صورت، دست، پا و بدن به روش اسکرابینگ با استفاده از بیستوری استریل انجام شد. برای نمونه‌گیری از ناخن نیز تیغ بیستوری استریل استفاده شد.

کلیه‌ی نمونه‌های گرفته شده، پس از پیچیده شدن در فویل آلومینیومی نازک در پاکت به ابعاد ۱۰ × ۵ سانتی متر قرار داده شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده در آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد مطالعه قرار گرفتند.

پس از شفاف‌سازی نمونه‌های مشکوک با پتاس ۱۰ درصد و مطالعه‌ی میکروسکوپی، نمونه‌های دارای عناصر قارچی جهت مراحل تشخیصی کشت داده شدند.

کشت نمونه‌های مشکوک در محیط‌های Mycobiotic agar و Sabouraud dextrose agar پس از مثبت بودن آزمایش مستقیم انجام شد که پس از رشد عناصر قارچی بر اساس نوع قارچ رشد کرده در محیط کشت، تشخیص نهایی صورت گرفت.

با توجه به استعلام کتبی از اداره‌ی آموزش و پرورش شهرستان کوهرنگ، تعداد ۴۳۱۳ دانش‌آموز در ۸ بخش یا دهستان متعلق به این شهرستان مشغول به تحصیل بودند. نمونه‌گیری از این ۸ بخش به صورت چند مرحله‌ای (طبقه‌ای و خوشه‌ای) و با به دست آوردن حجم نمونه به تعداد ۸۹۱ نفر، صورت گرفت.

#### یافته‌ها

از ۸۹۱ نفر افراد مورد مطالعه، ۱۰ مورد مثبت گزارش شد که از این بین، ۸ مورد درماتوفیت شامل ۵ مورد *Trichophyton verrucosum* (۶۲/۵ درصد)، ۱ مورد *Microsporoum canis* (۱۲/۵ درصد)، ۱ مورد *Miorosporoum gypseum* (۱۲/۵ درصد) و ۱ مورد *Trichophyton violaseum* (۱۲/۵ درصد) عامل *Endothrix* (۱۲/۵) بودند. ۲ مورد غیر درماتوفیتی شامل جنس *Malassezia* عامل *Pityriasis* بودند.

لازم به ذکر است که قسمت عمده‌ی مطالعه در منطقه‌ی سردسیر شهرستان کوهرنگ صورت گرفت (۶۶۴ نفر). با این وجود، عمده‌ی موارد مثبت یافت شده (۶۰ درصد موارد مثبت)، از منطقه‌ی گرمسیر و با آب و هوای گرم و مرطوب به دست آمدند. با توجه به این که شهرستان کوهرنگ دارای دو اقلیم آب و هوایی گرم و مرطوب و سرد و خشک می‌باشد، مطالعه در سطح شهرستان این امکان را فراهم کرد که شیوع عفونت درماتوفیتی در دو اقلیم



## بحث

در این مطالعه، هیچ موردی از Candidiasis ناخن یافت نشد، این در حالی است که در ورامین از ۲۰۵۵ دانش‌آموز مورد بررسی، ۲۰ مورد Candidiasis ناخن یافت شده است. از نظر عفونت درماتوفیتی نیز در ورامین ۰/۱ درصد از دختران و ۰/۵ درصد از پسران مبتلا بودند (۱)، اما در مطالعه‌ی حاضر، حدود ۰/۵ درصد دختران و ۱/۳ درصد از پسران مبتلا بودند که با توجه به مشاهدات مستقیم در طول زمان مطالعه، احتمال می‌رود این اختلاف به دلیل بهداشت بسیار مناسب دختران نسبت به پسران در منطقه‌ی مورد بررسی باشد.

در مطالعه‌ی مشابه دیگر که شیوع کچلی سر در دانش‌آموزان ابتدایی شهرستان مشکین‌شهر را مورد بررسی قرار داده است، شیوع کچلی سر ۰/۷ درصد گزارش شده است که ۰/۸ درصد مبتلایان پسر و ۰/۶ درصد دختر بوده‌اند (۲)، اما در مطالعه‌ی حاضر،

آب و هوایی بررسی شود؛ به این صورت که تعداد ۲۲۷ نفر از افراد تحت مطالعه در اقلیم آب و هوایی گرم قرار داشتند که از این بین، ۶ مورد بیماری قارچی جلدی یافت شد و ۲/۵۷ درصد از دانش‌آموزان ساکن منطقه‌ی آب و هوایی گرم و مرطوب را به خود اختصاص می‌داد. همچنین، ۶۶۴ نفر از دانش‌آموزان مورد مطالعه، در اقلیم سردسیر این شهرستان ساکن بودند. از میان آن‌ها، ۴ مورد مبتلا به بیماری قارچی جلدی (۰/۶۱ درصد موارد مثبت) یافت شد (جدول ۱).

۶۰ درصد موارد یافت شده، در گروه سنی ۱۰-۱۲ سال بودند و در گروه سنی ۶-۸ سال، موردی گزارش نشد که به نظر می‌رسد، به دلیل نظارت بهتر بر گروه ۶-۸ سال باشد. همچنین، ۷۰ درصد موارد مثبت در وضعیت زندگی ضعیف قرار داشتند. با توجه به این که ۶۰ درصد موارد مثبت در شرایط اقلیمی گرم ساکن بودند، از نظر آماری معنی‌دار بود.

جدول ۱. نتایج مطالعه بر روی دانش‌آموزان به تفکیک متغیرهای سن، جنس، وضعیت زندگی و شرایط اقلیمی

مقدار P	مبتلایان غیر	مبتلایان					Trichophyton verrucosum	سن (سال)
		تعداد (درصد)	Malassezia	Microsporoum canis	Trichophyton violaseum	Miorosporum gypseum		
۰/۰۸۰	۱۵۴	۰ (۰)	-	-	-	-	۶-۸	سن
	۲۵۲	۱ (۱۰)	-	-	-	۱	۸-۱۰	(سال)
	۳۴۱	۶ (۶۰)	-	۱	۱	۳	۱۰-۱۲	
	۱۳۹	۳ (۳۰)	۲	-	-	۱	+۱۲	
۰/۲۳۵	۴۷۰	۷ (۷۰)	۱	۱	۱	۳	پسر	جنس
	۴۱۱	۳ (۳۰)	۱	-	-	۲	دختر	
۰/۰۲۰	۶۷	۱ (۱۰)	-	-	-	۱	خوب	وضعیت زندگی
	۴۰۹	۲ (۲۰)	-	۱	-	۱	متوسط	
	۴۰۵	۷ (۷۰)	۲	-	۱	۳	ضعیف	
۰/۰۰۱	۶۶۴	۴ (۴۰)	۱	-	۱	۲	سرد	شرایط اقلیمی
	۲۲۷	۶ (۶۰)	۱	۱	-	۳	گرم	

کچلی سر را *Trichophyton verrucosum* به خود اختصاص داده است.

در مطالعه‌ای که توسط Abdel-Rahman و همکاران روی ۴۴ مرکز آموزشی در سنین زیر ۱۴ سال صورت گرفت، ۶/۶۲ درصد موارد کشت مثبت بودند (۱۵). در مطالعه‌ی Hussein در فلسطین، از بین ۲۲۰ نفر جامعه‌ی آماری، از ۱۸۸ نفر مورد مشکوک نمونه‌برداری شد که همه‌ی این ۱۸۸ نفر از نظر عفونت درماتوفیتی مثبت تشخیص داده شدند. از بین آن‌ها، کچلی سر ۲۷/۷ درصد، کچلی پا ۲۳/۴ درصد، کچلی ناخن ۲۲/۳ درصد، کچلی کشاله‌ی ران ۲۰/۲ درصد و کچلی بدن ۶/۴ درصد بود. شایع‌ترین عامل، *Microsporoum canis* (۷۵/۳۷ درصد) بود (۱۸). این در حالی است که در منطقه‌ای مثل شهرستان کوه‌رنگ با محرومیت بالا در کشور ما، تنها ۱۰ مورد عفونت قارچی جلدی یافت شده است که نشان دهنده‌ی وضعیت بهداشتی بسیار مناسب‌تر در ایران حتی در مناطق بسیار محروم و با بهداشت پایین نسبت به آن منطقه می‌باشد.

در مطالعه‌ی حاضر، از ۴۰ مورد مشکوک نمونه‌گیری به عمل آمد که پس از انجام آزمایش‌های مستقیم و کشت ۱۰ مورد عفونت قارچی، اثبات شد که *Trichophyton verrucosum* ۵۰ درصد عوامل را تشکیل می‌داد. سایر عوامل قارچی عبارت از *Miorosporum gypseum*، *Trichophyton violaseum*، *Microsporoum canis* و جنس *Malassezia* بودند. با توجه به مطالعات قبلی، به وضوح پیداست که *Trichophyton verrucosum* شایع‌ترین عامل کچلی در ایران است که افراد مبتلا در این مطالعه نیز از این مهم مستثنی نبودند.

در دختران موردی از کچلی سر دیده نشد، اما ۲ مورد (۱ مورد *Endothrix* و ۱ مورد *Ectothrix*) در پسران ۱۰-۱۲ ساله یافت شد.

در بررسی کچلی سر در مراجعین به چند کلینیک درماتولوژی در اهواز، ۲۱/۶ درصد از موارد مشکوک *Dermatophytosis* بودند که ۱۱ درصد مبتلا به کچلی سر بودند (۸۸/۹ درصد موارد *Ectothrix* بودند و *Endothrix* و *Tinea favosa* در رده‌های بعدی قرار داشتند) (۴).

در مطالعه‌ی محسن‌زاده در گناباد نیز *Ectothrix* ۴۷/۱۵ درصد، *Tinea favosa* ۳۰/۵۷ درصد و *Endothrix* ۲۲/۲۸ درصد گزارش گردید (۵). در مطالعه‌ی حاضر، ۸۰ درصد موارد مبتلا را *Dermatophytosis* به خود اختصاص داده است که *Ectothrix* و *Endothrix* هر کدام ۵۰ درصد موارد کچلی سر را شامل شده‌اند.

در مطالعه‌ای دیگر در بندرعباس که توسط محبوبی و همکاران صورت گرفته است، کچلی کشاله‌ی ران ۳۷/۵ درصد، کچلی سر ۲۲/۵ درصد و کچلی بدن ۲۰/۷ درصد بود و درگیری در جنس مذکر بیش از مؤنث بود. شایع‌ترین عوامل، *Trichophyton mentagrophytes* (۳۵/۸ درصد)، *Trichophyton rubrum* (۲۵/۱ درصد) و *Epidermophyton floccosum* (۲۲/۴ درصد) بوده‌اند (۷).

در مطالعه‌ی حاضر، ۲۵ درصد موارد *Dermatophytosis* کچلی سر، ۱۲/۵ درصد کچلی دست و ۶۲/۵ درصد موارد کچلی بدن (۲ مورد روی ساعد دست، ۱ مورد پشت گوش، ۱ مورد گردن و ۱ مورد روی زانو) بود که شایع‌ترین عامل غیر از

زندگی در این طبقه‌ی اجتماعی تأثیر به‌سزایی در بروز این بیماری‌ها دارد. کشاورزی و دامداری و نیز زندگی نزدیک با سایر حیوانات از جمله گربه و سگ، در کنار سطح بهداشت و آگاهی پایین، از عوامل زمینه‌ساز مهم در ابتلا به Dermatophytosis می‌باشند.

در مطالعه‌ی حاضر، ۳ مورد از موارد ابتلا در وضعیت زندگی خوب از نظر اجتماعی، اقتصادی و فرهنگی و همچنین از نظر بهداشت ظاهری قرار داشتند که مبتلا شدن این افراد ممکن است ناشی از تماس با هم‌کلاسی‌ها یا هم‌بازی‌های مبتلا و ناقل در مدرسه یا محل زندگی باشد.

### تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی شماره‌ی ۲۹۳۲۶۲ مصوب در دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. بدین وسیله، از همکاری معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری این دانشکده جهت انجام این طرح و نیز از مدیریت محترم شبکه‌ی بهداشت و درمان شهرستان کوه‌رنگ و رابط بهداشتی آموزش و پرورش شهرستان جناب آقای علیخانی و کلیه‌ی معلمانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نموده‌اند، سپاسگزاری می‌گردد.

یکی از نقاط قوت مطالعه‌ی حاضر، نمونه‌گیری در مناطق اقلیمی مختلف است. شهرستان کوه‌رنگ در دامنه‌ی شمالی زردکوه در رشته‌کوه‌های زاگرس دارای آب و هوای سرد و خشک و در دامنه‌ی جنوبی زردکوه دارای آب و هوای گرم و مرطوب است. ۲۶/۲ درصد افراد تحت مطالعه، ساکن مناطق گرمسیری بودند که ۶ مورد از مبتلایان، مربوط به این اقلیم آب و هوایی بودند و ۲/۵۷ درصد از دانش‌آموزان ساکن منطقه‌ی دارای آب و هوای گرم و مرطوب، مبتلا به عفونت قارچی جلدی بودند. ۷۳/۸ درصد افراد مورد مطالعه، ساکن مناطق سردسیری بودند که از این بین، فقط ۴ مورد مبتلا یافت شد و ۰/۶۱ درصد از دانش‌آموزان، ساکن منطقه‌ی دارای آب و هوای سرد و خشک بودند.

این نتایج تأکیدی بر این اصل است که Dermatophytosis در آب و هوای گرم، شیوع بالاتری دارد. ۷۰ درصد موارد ابتلا در قشر ضعیف از نظر اجتماعی، اقتصادی و فرهنگی و همچنین از نظر بهداشت ظاهری قرار داشتند که مهم‌ترین علت آن، می‌تواند بهداشت پایین و سبک زندگی دامداری و کشاورزی در این خانواده‌ها باشد. با توجه به زئونوز بودن Dermatophytosis، بدیهی است که سبک

### References

1. Ansarin H, Ghaffarpour G, Falahati M. A survey of frequency and etiology of mycoses of the head and body among primary school students in Varamin (south Tehran). Razi J Med Sci 2001; 8 (24):128-33. [In Persian].
2. Hashemi S, Moheb Ali M, Zarehee Z. Epidemiology of tinea capitis in Meshkin Shahr primary schools. J Ardabil Univ Med Sci 2005; 5(3): 278-81. [In Persian].
3. Ayatollahi Moussavi SA, Fekri AR, Dehghani Ghanatghehstani A, Nikian Y. Prevalence of Tinea Capitis in elementary schools in the city of Kerman. J Kerman Univ Med Sci 1995; 2(4): 200-4. [In Persian].
4. Amir Rajab N, Rafiei A, Omodian M, Mapar M, Yaghoubi R, Rasaei S. Tinea capitis in Ahvaz. Iran J Infect Dis Trop Med 2007; 12(37): 71-6. [In Persian].
5. Mohsenzade AR. Epidemiological study of tinea capitis in Gonabad [PhD Thesis]. Tehran, Iran: Tehran University of Medical Sciences; 1988. [In Persian].

6. Saboktakin Y. Epidemiological study of tinea capitis in Kermanshah children [PhD Thesis]. Tehran, Iran: Tehran University of Medical Sciences; 1967. [In Persian].
7. Mahboubi A, Baghestani Sh, Hamed Y, Heydari M, Vahdani M. Epidemiology of dermatophytosis in Bandar Abbas, Iran (2003-2004). *Hormozgan Med J* 2006; 9(4): 227-34. [In Persian].
8. Yoosefi H, Kavyani J. Epidemiological study of parasite infection and tinea capitis in Shahrekord students in 1999-2000. Shahrekord, Iran: Shahrekord University of Medical Sciences; 2003. [In Persian].
9. Emami M. Distribution of mycological lesions in school children in city of Kashan and its suburbs (1993-1994) [MD Thesis]. Tehran, Iran: University of Tehran; 1994. [In Persian].
10. Ghajari A. Epidemiological study of tinea capitis in preschool and school children in Chabahar [MD Thesis]. Tehran, Iran: Tarbiat Modares University; 1986. [In Persian].
11. Ghavamian M. Frequency of fungal diseases among school children in city of Brojerd [MD Thesis]. Tehran, Iran: University of Tehran; 1995. [In Persian].
12. Asadi MA. Epidemiological study of fungal diseases in preschool and school children in Mahalat [PhD thesis]. Tehran, Iran: University of Tehran; 1990. [In Persian].
13. Amrollahi H. Determine the prevalence of the superficial and cutaneous fungal infection in Semnan elementary children schools [MD Thesis]. Tehran, Iran: University of Tehran; 1991. [In Persian].
14. Momtaz AH, Moshtaghi M, Ghadiri H. Epidemiological study of cutaneous disease between children in Isfahan and its suburb. *Iran J Public Health* (4). 2. [In Persian].
15. Abdel-Rahman SM, Farrand N, Schuenemann E, Sterling TK, Preuett B, Magie R, et al. The prevalence of infections with Trichophyton tonsurans in schoolchildren: the CAPITIS study. *Pediatrics* 2010; 125(5): 966-73.
16. Laczynski CM, Cestari SC. Prevalence of dermatosis in scholars in the region of ABC paulista. *An Bras Dermatol* 2011; 86(3): 469-76.
17. Bilge Hapchioglu S. The prevalence of superficial mycosis (tinea pedis and onychomycosis) in elementary school children in Istanbul. *J Ist Faculty Med* 2005; 68(4): 113-8.
18. Hussein EYM. Epidemiology of dermatophyte infections in Palestine [MSc Thesis]. Nablus, Palestinian: An-Najah National University; 2013.
19. Mohammed BH. Tinea capitis in Fayoum city elementary school children: Incidence and aetiology [MSc Thesis]. Faiyum, Egypt: Fayoum University; 2013.
20. Norouzi Sh, Salahi Moghadam A, Khoshdel A, Nourifard M, Ayatollahi Mousavi SA. Geographic information system of fungal disease of Iran. *J Army Univ Med Sci* 2014; 11(4): 357-74. [In Persian].
21. Chadeganipour M, Shadzi S, Dehghan P, Movahed M. Prevalence and aetiology of dermatophytoses in Isfahan, Iran. *Mycoses* 1997; 40(7-8): 321-4.
22. Hedayatifar MA. A kind of dermatophytes in khozestan. *Journal of Ahvaz University of Medical Sciences* 1989; 10: 59-65. [In Persian].
23. Talari SA, Asadi MA, Yousefian A. Determine the prevalence of the superficial and cutaneous fungal infection in Kashan University of Medical Sciences mycology laboratory clientele. *Teb Tazkiyeh* 2000; 35: 21-5. [In Persian].
24. Zarei Mahmoudabadi A. A survey of 382 suspected patients with tinea capitis, Ahvaz. *Jundishapur Sci Med J* 1997; 22: 45-52. [In Persian].
25. Rafiei A. Cutaneous fungal disease in Khozestan [MD Thesis]. Tehran, Iran: Tarbiat Modares University; 1988. [In Persian].
26. Omidian M. Study of 100 cases of dermatophytosis in Ahwaz. *Iran J Dermatol* 1999; 2(8). [In Persian].
27. Khosravi AR, Aghamirian MR, Mahmoudi M. Dermatophytoses in Iran. *Mycoses* 1994; 37(1-2): 43-8.
28. Shokouhi T. A survey on the epidemiology and the ethiology of dermatophytosis in the patients admitted to the Department of Mycological, School of Public Health, University of Tehran during 1981 to 1985 [PhD Thesis]. Tehran, Iran: University of Tehran; 1992. [In Persian].
29. Aliloo M. Determine tinea capitis in Kazeroon, Borazjan, Booshehr [Thesis]. Tehran, Iran: University of Tehran; 1970. [In Persian].
30. Hubbard TW. The predictive value of symptoms in diagnosing childhood tinea capitis. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1999; 153(11): 1150-3.
31. Ghannoum M, Isham N, Hajjeh R, Cano M, Al-Hasawi F, Yearick D, et al. Tinea capitis in Cleveland: survey of elementary school students. *J Am Acad Dermatol* 2003; 48(2): 189-93.
32. Cabrita J, Esteves J, Sequeira H. Dermatophytes in Portugal (1972-1981). *Mycopathologia* 1984; 84(2-3): 159-64.
33. Venugopal PV, Venugopal TV. Tinea capitis in Saudi Arabia. *Int J Dermatol* 1993; 32(1): 39-40.
34. Al-Fouzan AS, Nanda A. Dermatophytosis of children in Kuwait. *Pediatr Dermatol* 1992; 9(1): 27-30.
35. el-Benhawi MO, Fathy S, Moubasher AH, Alem

- NS. Mycologic study of tinea capitis in Qatar. *Int J Dermatol* 1991; 30(3): 204-5.
36. Flammia M, Vannini P, Difonzo EM. Tinea capitis in the Florence area between 1985 and 1993. *Mycoses* 1995; 38(7-8): 325-8.
37. Aste N, Pau M, Biggio P. Tinea capitis in children in the district of Cagliari, Italy. *Mycoses* 1997; 40(5-6): 231-3.
38. Al-Duboon AH, Muhsin TM, al-Rubaiy KK. Tinea capitis in Basrah, Iraq. *Mycoses* 1999; 42(4): 331-3.
39. Akpolat NO, Akdeniz S, Elci S, Atmaca S, Ozekinci T. Tinea capitis in Diyarbakir, Turkey. *Mycoses* 2005; 48(1): 8-10.
40. Ellabib MS, Agaj M, Khalifa Z, Kavanagh K. *Trichophyton violaceum* is the dominant cause of tinea capitis in children in Tripoli, Libya: results of a two year survey. *Mycopathologia* 2002; 153(3): 145-7.

## The Epidemiology of Dermatophytosis among Elementary School Children in Koohrang City, Iran, in 2014 and 2015

Amin Soltanpoor<sup>1</sup>, Hamid Morovati<sup>1</sup>, Parvin Dehghan PhD<sup>2</sup>, Mehri Rejali<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** This study aimed to determine the prevalence of dermatophytosis among elementary school students in Koohrang city, Iran, in 2014 and 2015.

**Methods:** From a total of 4313 elementary schools students, 891 cases were evaluated for cutaneous lesions. The suspicious head, nail or cutaneous lesions were examined for the presence of fungal elements using direct smears and culture methods.

**Findings:** Out of 891 subjects, 40 cases were suspicious; of them, 10 cases were confirmed to be positive for fungal infections. The causative agents of 8 cases of dermatophytosis were identified as *Trichophyton verrocosum* (5 cases), *Microsporum canis* (1 case), *Microsporum gypseum* (1 case), *Trichophyton violaceum* (1 case). Two cases were *Malassezia pityriasis* positive.

**Conclusion:** Seventy percent of positive cases lived in poor hygienic quality. Probably more important causes of this condition are lower health and lifestyle of ranching and farming. As dermatophytosis is a zoonotic disease, lifestyle has significant role in prevalence of it. Agriculture and ranching and living closely with animals such as cats and dogs, in addition to low health and low awareness are important risk factors for dermatophytosis.

**Keywords:** Fungal infection, Dermatomycosis, Dermatophytosis, Dermatophyte

**Citation:** Soltanpoor A, Morovati H, Dehghan P, Rejali M. **The Epidemiology of Dermatophytosis among Elementary School Children in Koohrang City, Iran, in 2014 and 2015.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(352): 1618-27

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

2- Assistant Professor, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Instructor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Parvin Dehghan PhD, Email: dehghan@med.mui.ac.ir

تخمین دوز جذبی ناشی از رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  در بیماران تحت اسکن استخوان

دکتر داریوش شهبازی گهروی<sup>۱</sup>، مهروی دموری<sup>۲</sup>، دکتر محمد باقر توکلی<sup>۱</sup>، دکتر مسعود مصلحی<sup>۳</sup>،  
صدیقه رستاقی<sup>۴</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** تخمین صحیح میزان دوز جذبی رادیوداروها در کاربردهای تشخیصی و درمانی در پزشکی هسته‌ای، به منظور ارزیابی سود و زیان رسیده به بیمار ضروری می‌باشد. روش MIRD (Medical internal radiation dosimetry)، روشی معمول جهت تخمین دوز جذبی اندام‌ها از گسیل کننده‌های پرتوی داخلی است. هدف از انجام این مطالعه، تخمین دوز جذبی اندام‌ها ناشی از رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  در بیماران تحت اسکن استخوان بود.

**روش‌ها:** این مطالعه بر روی ۲۲ بیمار که به بخش پزشکی هسته‌ای بیمارستان شهید چمران اصفهان جهت بررسی متاستاز استخوانی مراجعه کرده بودند، انجام گرفت. پس از تزریق رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  از بیماران در زمان‌های ۱۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از تزریق رادیودارو، اسکن گرفته شد. با استفاده از روش تلفیق نماها (به کارگیری روش تصحیح متداول حذف زمینه)، مقدار اکتیویته‌ی جذب شده در هر یک از اندام‌ها به دست آمد. سپس دوز جذبی آن‌ها با استفاده از روش MIRD محاسبه شد.

**یافته‌ها:** میزان دوز جذبی ناشی از تزریق رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  برای استخوان، مثانه و کلیه‌ها با استفاده از روش متداول حذف زمینه، به ترتیب برابر  $0.04 \pm 0.13$ ،  $0.01 \pm 0.08$  و  $0.00 \pm 0.02$  راد بر میلی کوری بود.

**نتیجه‌گیری:** مقادیر دوز به دست آمده از روش تصحیح متداول حذف زمینه، تطابق خوبی با مقادیر استاندارد گزارش شده در گزارش ۱۳ کمیته‌ی MIRD دارد.

**واژگان کلیدی:** دوز جذبی، روش تلفیق نماها، اکتیویته‌ی تجمعی، Medical internal radiation dosimetry

**ارجاع:** شهبازی گهروی داریوش، دموری مهروی، توکلی محمد باقر، مصلحی مسعود، رستاقی صدیقه. تخمین دوز جذبی ناشی از رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  در بیماران تحت اسکن استخوان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۲): ۱۶۳۶-۱۶۲۸

اطلاعات اساسی و مهمی در مورد تغییرات دقیق بازگردش و پرفیوژن استخوان، جهت آشکارسازی ناهنجاری‌های آناتومیکی و فیزیولوژیکی سیستم استخوانی را در پاتولوژی استخوانی فراهم می‌کند (۳). بیماری متاستاتیک استخوان، یکی از شایع‌ترین

## مقدمه

اسکن استخوان به وسیله‌ی رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  ( $^{99m}\text{Tc-methylene diphosphonate}$ )، به طور گسترده‌ای در آشکارسازی متاستاز استخوان با حساسیت بالا استفاده می‌شود (۱-۲)؛ این روش،

۱- استاد، گروه فیزیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۳- استادیار، گروه فیزیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- کارشناس ارشد، گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

منظور استفاده‌ی بهینه از روش‌های مختلف تشخیصی و بررسی سود و زیان رسیده به بیمار، پایه و اساس استفاده از رادیوداروها در پزشکی هسته‌ای است (۸-۱۳). در این روش‌ها، دوزیمتری صحیح به روش‌های اندازه‌گیری اکتیویته (کمی‌سازی اکتیویته)، کمیت داده‌ها، مهارت تکنسین و ابزار محاسبات بستگی دارد (۱۴).

روش‌های معمول دوزیمتری در پزشکی هسته‌ای، عبارت از اندازه‌گیری مستقیم توسط دوزیمتر ترمولومینسانس (Thermoluminescent dosimeter) یا TLD) و روش محاسباتی بر اساس روابط ریاضی و نرم‌افزارهای شبیه‌سازی و روش MIRD (Medical internal radiation dosimetry) است (۱۴).

مشکل استفاده از دوزیمتر ترمولومینسانس در پزشکی هسته‌ای، این است که این دوزیمتر بر روی سطح پوست در ناحیه‌ای که اندازه‌گیری دوز مورد توجه است، قرار داده می‌شود. حال اگر رادیوداروی پرتوهای آلفا و بتا گسیل کند، با توجه به قدرت نفوذ بسیار پایین این ذرات و عدم خروج این ذرات از بدن، توسط دوزیمتر لومینسانس آشکار نمی‌شوند و مقادیر دوز جذبی که این دوزیمتر نشان می‌دهد، ناشی از پرتوهای گامای گسیل شده از رادیودارو بوده، نشان‌گر مقادیر واقعی دوز جذبی نمی‌باشد (۹).

روش MIRD، روش استاندارد و معمول دوزیمتری در پزشکی هسته‌ای است. با فرض این که تمام ماده‌ی رادیواکتیو تزریقی در اندام منبع تمرکز یابد و در تمام مدت حضور در بدن با آهنگ یکسانی اندام هدف را تحت تابش قرار مدهد، می‌توان دوز مؤثر رسیده به اندام هدف را در هر یک از انواع آزمایش‌های پزشکی هسته‌ای محاسبه نمود (۱۵).

عوامل درد در بیماران مبتلا به سرطان می‌باشد که بر کیفیت زندگی آنان اثر دارد. متاستاز به استخوان‌ها از عوارض مکرر سرطان است که در ۷۰ درصد بیماران مبتلا به سرطان پستان و پروستات و حدود ۳۰-۱۵ درصد بیماران مبتلا به کارسینومای ریه، روده‌ی بزرگ، معده، مثانه، رحم، تیروئید و کلیه‌ها اتفاق می‌افتد. متاستازهایی که از طریق خون درگیری ایجاد کرده‌اند، تمایل به مغز قرمز استخوان دارند و در اسکلت محوری، مثل مهره‌ها، استرنوم و لگن، متاستاز استخوانی بیشتر دیده می‌شود (۴-۶).

تصویربرداری، بر اساس حداقل دوز جذبی بیمار و مشخصات آشکارسازی دستگاه‌های پزشکی هسته‌ای صورت می‌گیرد، که در آن از  $^{99m}\text{Tc}$  استفاده می‌شود. این رادیوایزوتوپ با نیمه‌عمر ۶ ساعت، انتشار پرتوی گامای  $140\text{ keV}$  و حداقل پرتو ذره‌ای به شرایط پیش‌گفته بسیار نزدیک است؛ این خواص باعث استفاده‌ی وسیع از آن، در پزشکی هسته‌ای گردیده است. جذب استخوانی این رادیودارو سریع است و در مدت ۲ تا حداکثر ۶ ساعت پس از تزریق در استخوان‌ها قابل ردیابی می‌باشد. پس از تزریق وریدی، حدود ۶۰-۵۰ درصد دوز تزریقی، بین ۲۰-۱۵ دقیقه در استخوان‌های اسکلتی متمرکز می‌شود و مابقی آن در بافت نرم و پلاسما توزیع و از طریق ادرار به آهستگی دفع می‌گردد. ۳۰-۲۰ درصد دوز تزریقی در مدت ۳ ساعت پس از تزریق دفع می‌شود (۷).

در پزشکی هسته‌ای، ترکیبات نشان‌دار شده با مواد رادیواکتیو وارد بدن می‌شوند و از این رو، باعث رسیدن دوز پرتو به تمام بافت‌ها و اندام‌های بدن می‌گردند. بررسی میزان دوز جذبی در اندام‌ها، به



دوشیده شد و سپس، داخل کیت متیلن دی فسفونات ریخته شد تا رادیوداروی تکنسیوم متصل شده به متیلن دی فسفونات ( $^{99m}\text{Tc-MDP}$ ) تهیه گردد. پس از آن، به میزان ۲۲ میلی کوری (mCi) رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  برای تزریق به هر کدام از بیماران فراهم شد.

از هر یک از بیماران خواسته شد که در زمان‌های ۱۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از تزریق رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$ ، زیر دستگاه دوربین گامای دو سر به صورت تاق‌باز دراز بکشند، تا از ناحیه‌ی شکم و لگن، از دو نمای خلفی و قدامی آن‌ها اسکن گرفته شود. همچنین، از نمای جانبی بیماران برای اطلاع از ضخامت کلی بدن در ناحیه‌ی اندام مورد نظر و اندام‌های تحت مطالعه، تصویربرداری شد.

پس از انجام مراحل اسکن برای هر یک از بیماران در زمان‌های ۱۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه بعد از تزریق رادیودارو، به دور اندام‌های مورد نظر (استخوان لگن، مثانه و کلیه‌ها) در تصاویر به دست آمده از اسکن‌های نمای قدامی و خلفی ناحیه‌ی شکم و لگن، یک ROI (Region of interest) در ناحیه‌ی آناتومیکی و یک ROI در خارج از ناحیه‌ی آناتومیکی هر یک از آن‌ها رسم شد. با استفاده از نمایشگر متصل به دوربین گاما، میزان شمارش در دقیقه‌ی هر (CPM یا Counts per minute) تصحیح نشده‌ی هر یک از اندام‌ها، به دست آمد.

برای به دست آوردن آهنگ شمارش تصحیح شده، آهنگ شمارش‌های زمینه که ناشی از اکتیویته‌ی موجود در بافت‌ها و اندام‌های اطراف اندام مورد مطالعه بود، باید حذف می‌شد و یا به عبارتی، باید تصحیح زمینه صورت می‌گرفت. در این مطالعه، از روش تصحیح متداول حذف زمینه استفاده شد که

در این روش، مهم‌ترین پارامتر، اندازه‌گیری دقیق میزان اکتیویته‌ی موجود در هر اندام، در زمان‌های مختلف بعد از تزریق رادیودارو و سپس، محاسبه‌ی اکتیویته‌ی تجمعی است. آن‌گاه، با استفاده از روابط ریاضی و عوامل فیزیکی مربوط به نوع رادیودارو، می‌توان دوز جذبی هر یک از اندام‌ها را محاسبه نمود (۵). هدف از انجام این مطالعه، تخمین دوز جذبی رسیده به استخوان، مثانه و کلیه‌ها در اسکن استخوان با رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  با استفاده از روش دوزیمتری MIRD بود.

### روش‌ها

این مطالعه بر روی ۲۲ بیمار بزرگسال (۱۱ مرد و ۱۱ زن) با متوسط سنی  $12 \pm 38$  سال که به بخش پزشکی هسته‌ای بیمارستان شهید چمران اصفهان جهت بررسی متاستاز استخوانی مراجعه کرده بودند، انجام گرفت. افراد با سابقه‌ی شکستگی، بیماری‌های استخوانی و بیماری فعال کلیوی، از این مطالعه حذف شدند. انجام اسکن بر روی بیماران تحت مطالعه، با رضایت کامل بیماران و تکمیل فرم رضایت آگاهانه توسط آن‌ها صورت پذیرفت.

دوربین گامای مورد استفاده (Philips ADAC, forte, Netherlands) بر روی فتوپیک  $140 \text{ keV}$  با عرض پنجره‌ی  $20 \pm$  درصد برای چشمه‌ی رادیواکتیو تکنسیوم ( $^{99m}\text{Tc}$ ) جهت اسکن از بیماران تنظیم شد. هدف از کالیبراسیون دوربین گاما، تعیین رابطه‌ی بین میزان اکتیویته‌ی رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc}$  و میزان شمارش دوربین گاما به ازای مقدار اکتیویته بود.

ابتدا، تکنسیوم از ژنراتور مولیبدن-تکنسیوم

پس از به دست آوردن مقدار اکتیویته‌ی بیماران در هر یک از زمان‌های ۱۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه بعد از تزریق رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$ ، نمودار اکتیویته بر حسب زمان هر یک از اندام‌ها (استخوان لگن، مثانه و کلیه‌ها)، در نرم‌افزار MATLAB (MathWorks, Natick, MA) رسم شد. با محاسبه‌ی مساحت زیر نمودار، اکتیویته‌ی تجمعی  $\tilde{A}$  برای هر یک از اندام‌ها به دست آمد. برای محاسبه‌ی دوز اندام‌ها نیز از رابطه‌ی ۳ استفاده شد (۱۷).

$$D_T = \tilde{A}_S \times S \quad (S \leftarrow T) \quad ۳$$

که در آن،  $D_T$  دوز اندام هدف،  $S$  آهنگ دوز جذبی ( $\text{rad}/(\text{hr.Ci})$ ) و  $\tilde{A}$  اکتیویته‌ی تجمعی اندام‌های چشمه ( $\text{mCi.hour}$ ) است (۱۸).

عامل  $S$  یا کسر جذبی انرژی، فقط به داده‌های فیزیکی (جرم اندام، کسر جذب و انرژی پرتو) وابسته بوده، برای هر رادیونوکلوئید و اندام‌های مختلف بدن انسان استاندارد، منحصر به فرد است (۱۹). این مقادیر در گزارش ۱۱ کمیته‌ی MIRD که با نرم‌افزار (Palisade Corporation, Ithaca, NY) Monte Carlo بر روی فانتوم شبیه‌سازی شده است، موجود می‌باشد. استفاده از مقادیر جرم انسان استاندارد در کاربردهای تشخیصی قابل قبول و مورد تأیید ICRP (International commission on radiological protection) است (۱).

نتایج به دست آمده، در نرم‌افزار آماری SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و با استفاده از آزمون  $t$  تک نمونه‌ای (One-Sample  $t$ )، با مقادیر استاندارد MIRD شده در گزارش شماره‌ی ۱۳ کمیته‌ی MIRD مقایسه و صحت آن‌ها بررسی شد.

طبق رابطه‌ی ۱، آهنگ شمارش تصحیح شده‌ی نمای قدامی و خلفی هر یک از اندام‌ها با استفاده از آن محاسبه می‌شود (۱۶).

$$I_A = I_A^{\text{ROI source}} - I_A^{\text{ROI background}} \times S_A^{\text{source}} \quad ۱$$

$$I_P = I_P^{\text{ROI source}} - I_P^{\text{ROI background}} \times S_P^{\text{source}}$$

در این رابطه،  $I_A$  و  $I_P$  آهنگ شمارش تصحیح شده‌ی نمای قدامی و خلفی هر یک از اندام‌ها،  $I_A^{\text{ROI source}}$  و  $I_P^{\text{ROI source}}$  آهنگ شمارش تصحیح نشده‌ی نمای قدامی و خلفی هر یک از اندام‌ها،  $I_A^{\text{ROI background}}$  و  $I_P^{\text{ROI background}}$  مقدار متوسط آهنگ شمارش بر پیکسل در منطقه‌ی زمینه‌ی نمای قدامی و خلفی هر یک از اندام‌ها و  $S_A^{\text{source}}$  و  $S_P^{\text{source}}$  مساحت ناحیه‌ی نمای قدامی و خلفی هر یک از اندام‌ها، به صورت تعداد پیکسل می‌باشد.

برای محاسبه‌ی مقادیر اکتیویته‌ی جذب شده‌ی رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  در هر یک از اندام‌های مورد مطالعه، در فواصل زمانی ۱۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه بعد از تزریق رادیودارو، از رابطه‌ی ۲ استفاده شد (۱).

$$A = \sqrt{\frac{I_A \times I_P}{e^{-\mu_e t}}} \times \frac{f}{c} \quad ۲$$

در این رابطه،  $I_A$  ( $I_P$ ) آهنگ شمارش تصحیح شده‌ی نمای قدامی و خلفی هر یک از اندام‌ها و  $t$  ضخامت کلی بدن بیمار در ناحیه‌ی اندام مورد نظر بر حسب سانتی‌متر است که از روی تصویر جانبی از بدن بیمار به دست می‌آید.  $\mu_e$  ضریب تضعیف خطی است که برای چشمه‌ی  $^{99m}\text{TC}$ ، برابر  $0.143/\text{cm}$  می‌باشد.  $f$  تصحیح تضعیف در چشمه‌ی  $^{99m}\text{Tc}$  است که با استفاده از رابطه‌ی  $f = \frac{(\mu_e t/2)}{\sinh(\mu_e t/2)}$  به دست می‌آید و  $C$  عامل کالیبراسیون دوربین گاما (شمارش بر ثانیه/میلی‌کوری) می‌باشد (۱۷).

## یافته‌ها

پس از اعمال تصحیح زمینه بر روی شمارش‌های به دست آمده از رسم ROI بر روی تصاویر حاصل از نمای اسکن قدامی و خلفی استخوان لگن، مthane و کلیه‌ها در زمان‌های مختلف ۱۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از تزریق  $^{99m}\text{Tc-MDP}$ ، شمارش‌های مورد نیاز جهت محاسبه‌ی اکتیویته به دست آمد. پس از محاسبه‌ی اکتیویته در زمان‌های مختلف برای هر یک از بیماران، نمودار اکتیویته‌ی زمان اندام‌های مورد نظر در نرم‌افزار MATLAB رسم گردید.

با تعیین میانگین از مقادیر اکتیویته‌ی جذب شده در اندام‌های استخوان لگن، مthane و کلیه‌های بیماران در زمان‌های ۱۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از تزریق رادیودارو، مقادیر میانگین اکتیویته حاصل شد (جدول ۱).

همان‌طور که در جدول ۱ دیده می‌شود، مقدار اکتیویته‌ی استخوان با گذشت زمان پس از تزریق رادیودارو افزایش یافت. این روند افزایش تا ۳ ساعت پس از تزریق رادیودارو ادامه داشت و پس از آن کاهش یافت که نشان دهنده‌ی افزایش نسبت جذب استخوانی به جذب زمینه‌ای رادیودارو پس از گذشت حدود ۳ ساعت پس از تزریق رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  بود. در کلیه با گذشت زمان، مقادیر شمارش بر دقیقه کاهش یافت (به علت تخلیه‌ی اکتیویته با

ادرار به داخل مthane) و در رابطه با مthane، در تعدادی از بیماران دیده شد که مقادیر شمارش بر دقیقه با گذشت زمان کاهش و در تعدادی دیگر تا ۶۰ دقیقه پس از تزریق رادیودارو، در این اندام افزایش یافت و پس از ۶۰ دقیقه و تخلیه‌ی مthane با گذشت زمان، مقدار شمارش بر دقیقه‌ی مthane کاهش یافت.

با محاسبه‌ی مساحت زیر سطح منحنی‌های اکتیویته- زمان برای اندام‌های استخوان، مthane و کلیه‌ها، مقدار اکتیویته‌ی تجمعی بر حسب mCi.hour به ترتیب برابر  $۱۰/۴۰ \pm ۳۵/۲۱$ ،  $۱/۲۵ \pm ۱۱/۸۰$  و  $۲/۸۱ \pm ۰/۲۸$  به دست آمد.

پس از محاسبه‌ی اکتیویته‌ی تجمعی هر یک از اندام‌های استخوان، مthane و کلیه‌ها، مقادیر دوز تجمعی آن‌ها به دست آمد (جدول ۲). همچنین، مقادیر دوز جذبی به دست آمده با مقادیر استاندارد کمیته‌ی MIRD مقایسه شد و مقدار درصد خطا و مقدار P آن‌ها گزارش شد.

## بحث

پس از تزریق داخل وریدی متیلن دی‌فسفونات نشان‌دار شده با تکنسیوم، زمان اندکی داخل عروق باقی می‌ماند و سپس به فضای خارج عروقی وارد می‌شود و در نهایت، جذب استخوان می‌گردد، که پس از ۳-۴ ساعت، نیمی از دوز تزریق شده دفع و

جدول ۱. میانگین مقادیر اکتیویته‌ی جذب شده در استخوان لگن، مthane و کلیه‌های بیماران بر حسب میلی‌کوری (mCi)

اندام	زمان (دقیقه)	۱۰	۶۰	۹۰	۱۸۰
استخوان لگن		$۰/۹۰ \pm ۰/۴۱$	$۲/۹۷ \pm ۰/۹۸$	$۵/۳۳ \pm ۲/۰۸$	$۱۰/۳۹ \pm ۲/۸۶$
مthane		$۴/۰۳ \pm ۱/۷۱$	$۴/۲۰ \pm ۰/۷۱$	$۲/۷۰ \pm ۰/۳۶$	$۱/۷۰ \pm ۰/۴۱$
کلیه‌ها		$۱/۶۷ \pm ۰/۲۵$	$۱/۲۹ \pm ۰/۱۳$	$۰/۴۹ \pm ۰/۱۳$	$۰/۲۰ \pm ۰/۰۴$

جدول ۲. مقادیر دوز جذبی برای هر یک از اندام‌ها

مقدار P	درصد خطا	دوز جذبی استاندارد (rad/mCi)	میانگین دوز جذبی محاسبه شده $\pm$ انحراف معیار (rad/mCi)	اندام‌ها
< ۰/۰۵	۴۳	۰/۲۳	۰/۱۳ $\pm$ ۰/۰۴	استخوان
< ۰/۰۵	۳۵	۰/۱۳	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۱	مثانه
< ۰/۰۵	۲۲	۰/۰۳	۰/۰۲ $\pm$ ۰/۰۰	کلیه‌ها

تفکیک انرژی و داده‌های از دست رفته ناشی از پراکندگی و تضعیف بر شمردند (۱۹). همچنین، روش تصحیح زمینه‌ی به کار رفته، عامل کالیبراسیون و تفاوت آناتومیکی بین بدن انسان و فانتوم‌ها، می‌توانند باعث ایجاد خطا شوند.

مقادیر مرجع مورد استفاده برای مقایسه با نتایج مطالعه‌ی حاضر، با نرم‌افزار MIRD محاسبه شده است که در گزارش‌های جهانی برای محاسبه‌ی دوز مورد استفاده قرار می‌گیرد. MIRD نرم‌افزاری معتبر برای محاسبه‌ی دوز جذبی است. این نرم‌افزار دارای اطلاعاتی دقیق برای بیش از ۸۰۰ رادیودارو است که در آن، تمام اطلاعات دقیق درباره‌ی انواع واپاشی‌های فیزیکی رادیوداروها و نحوه‌ی توزیع بیولوژیکی آن‌ها در بدن وجود دارد. در انجام محاسبات دوز جذبی توسط این نرم‌افزار، فرضیات کامل و دقیق به همراه فانتوم‌های مختلف از اندام‌ها طراحی و در نظر گرفته شده است؛ اما محدودیتی که در استفاده از این نرم‌افزار در کشور وجود دارد، باعث می‌شود که مقادیر به دست آمده، به صورت تجربی در این طرح با مقادیر استاندارد در گزارش‌ها متفاوت باشد.

اساس این مطالعه، تخمین دوز جذبی رسیده به استخوان، مثانه و کلیه‌ها در اسکن استخوان با رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان شهید چمران اصفهان و با استفاده از

باعث افزایش نسبت جذب استخوانی به جذب زمینه‌ای می‌گردد. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که با به کار بردن روش تصحیح متداول حذف زمینه‌ی اکتیویته‌ی رادیوداروی  $^{99m}\text{Tc-MDP}$  در استخوان، پس از گذشت ۳ ساعت با روند صعودی به حداکثر میزان خود رسید. در مورد مثانه، مشاهده شد که در تعدادی از بیماران، اکتیویته‌ی این اندام در دقایق اولیه کم بود و با گذشت زمان افزایش یافت و پس از تخلیه‌ی مثانه، کاهش پیدا کرد. در تعدادی دیگر از بیماران، مقدار اکتیویته‌ی مثانه با گذشت زمان کاهش پیدا کرد. در مورد کلیه‌ها، مقدار اکتیویته با گذشت زمان کاهش یافت.

بیشترین دوز جذبی را پس از استخوان، مثانه و سپس کلیه‌ها دریافت کردند؛ نتایج به دست آمده، با گزارش‌های MIRD مطابقت داشت. یافته‌های ما نشان داد که بین مقادیر دوز جذبی به دست آمده و مقادیر استاندارد، برای استخوان، مثانه و کلیه‌ها، تفاوت معنی‌داری وجود داشت. مقادیر درصد خطای محاسبه شده از مقادیر دوز جذبی به دست آمده در مطالعه با مقادیر استاندارد دوز جذبی برای استخوان، مثانه و کلیه‌ها به ترتیب ۴۳، ۳۵ و ۲۲ درصد بود.

Siegel و همکاران، عوامل ایجاد خطا و محدودیت‌های تأثیرگذار در تعیین اکتیویته‌ی اندام‌ها را شامل محدودیت‌های ذاتی دستگاه در قدرت

## تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد مہری دموری دانشجوی رشته‌ی فیزیک پزشکی، تصویب شده با شماره‌ی طرح تحقیقاتی ۳۹۴۰۳۵ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد.

روش دوزیمتری MIRD بود. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، دوز جذبی به دست آمده با روش تجربی و نیز با اعمال روش تلفیق نماها (با استفاده از روش تصحیح متداول حذف زمینه)، مطابقت خوبی با مقادیر استاندارد MIRD دارد.

## References

1. Shahbazi-Gahrouei D, Cheki M, Moslehi M. Estimation of organ absorbed doses in patients from  $(99\text{m})\text{Tc}$ -diphosphonate using the data of MIR dose software. *J Med Signals Sens* 2012; 2(4): 231-4.
2. Salih S. Bone and spleen uptake of technetium- $99\text{m}$ -methylene diphosphonate in a patient with sickle-cell disease: A case report from Sudan. *J Taibah Univ Med Sci* 2014; 9(1): 78-80.
3. Wong KK, Piert M. Dynamic bone imaging with  $99\text{mTc}$ -labeled diphosphonates and  $18\text{F}$ -NaF: mechanisms and applications. *J Nucl Med* 2013; 54(4): 590-9.
4. Ravanbod MR, Nemati R, Javadi H, Nabipour I, Assadi M. Diffuse hepatic and spleen uptake of  $\text{Tc}$ - $99\text{m}$  MDP on Bone scintigraphy resembling liver-spleen scintigraphy in a patient of plasma cell tumor. *Case Rep Radiol* 2014; 2014: 264904.
5. Shahbazi-Gahrouei D, Cheki M, Moslehi M. Assessment of organ absorbed dose in patients following bone scan with technetium- $99\text{m}$ -labeled methylene diphosphonate (MDP) using of MIRD method. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2013; 40(2 Suppl): S402.
6. Chen YW, Huang MY, Hsieh JS, Hou MF, Chou SH, Lin CL. Discordant findings of skeletal metastasis between  $99\text{mTc}$  MDP bone scans and  $\text{F18}$  FDG PET/CT imaging for advanced breast and lung cancers--two case reports and literature review. *Kaohsiung J Med Sci* 2007; 23(12): 639-46.
7. Blake GM, Moore AE, Park-Holohan SJ, Fogelman I. A direct in vivo measurement of  $99\text{mTc}$ -methylene diphosphonate protein binding. *Nucl Med Commun* 2003; 24(7): 829-35.
8. Shahbazi-Gahrouei D, Ayat S. Comparison of three methods of calculation, experimental and monte carlo simulation in investigation of organ doses (thyroid, sternum, cervical vertebra) in radioiodine therapy. *J Med Signals Sens* 2012; 2(3): 149-52.
9. Shahbazi-Gahrouei D, Nikzad S, Shokrani P, Shahi Z, Monadi Sh. Determination of absorbed dose of organs (thyroid, sternum, cervical vertebra) in thyroid cancer patients following radioiodine therapy. *Iran J Nucl Med* 2009; 17(1): 27-33.
10. Shahbazi-Gahrouei D, Ayat S. Determination of Organ Doses in Radioiodine Therapy using Monte Carlo Simulation. *World J Nucl Med* 2015; 14(1): 16-8.
11. Shahbazi-Gahrouei D, Ayat S. Comparison of three method of calculation, experimental and Monte Carlo simulation to determine absorbed organs dose in thyroid cancer patients following radioiodine therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2011; 38(Suppl 2): S434.
12. Shahbazi-Gahrouei D, Bonyadi P, Moslehi M, Shahi Z. Effects of early liothyronine consumption after radioiodine therapy on accumulated dose and exposure rate in patients with thyroid carcinoma. *Iran J Nucl Med* 2008; 16(2): 8-15.
13. Shahbazi-Gahrouei D, Shahi Z, Ziaei K, Khodamoradi E. Estimation of absorbed dose of salivary glands in radioiodine therapy and its reduction using pilocarpine. *Iran J Nucl Med* 2007; 15(2): 1-8.
14. Shahbazi-Gahrouei D, Nikzad S. Determination of organ doses in radioiodine therapy using medical internal radiation dosimetry (MIRD) method. *Iran J Radiat Res* 2011; 8(4): 249-52.
15. Cheki M, Shahbazi Gahrouei D, Moslehi M. Determination of organ absorbed doses in patients following bone scan with using of MIRD method. *Iran South Med J* 2013; 16(5): 296-303. [In Persian].
16. Pereira JM, Stabin MG, Lima FR, Guimaraes MI, Forrester JW. Image quantification for radiation dose calculations--limitations and uncertainties. *Health Phys* 2010; 99(5): 688-701.
17. Jonsson L, Ljungberg M, Strand SE. Evaluation of accuracy in activity calculations for the conjugate view method from Monte Carlo simulated scintillation camera images using experimental data in an anthropomorphic phantom. *J Nucl Med* 2005; 46(10): 1679-86.

18. Vakili A, Jalilian AR, Moghadam AK, Ghazi-Zahedi M, Salimi B. Evaluation and comparison of human absorbed dose of  $(90)\text{Y}$ -DOTA-Cetuximab in various age groups based on distribution data in rats. *J Med Phys* 2012; 37(4): 226-34.
19. Siegel JA, Thomas SR, Stubbs JB, Stabin MG, Hays MT, Koral KF, et al. MIRD pamphlet no. 16: Techniques for quantitative radiopharmaceutical biodistribution data acquisition and analysis for use in human radiation dose estimates. *J Nucl Med* 1999; 40(2): 37S-61S.

## Estimating the Absorbed Doses from <sup>99m</sup>Tc-MDP in Patients Following Bone Scan

Daryoush Shahbazi-Gahrouei PhD<sup>1</sup>, Mehri Damoori<sup>2</sup>, Mohammad Bagher Tavakoli PhD<sup>1</sup>, Masoud Moslehi PhD<sup>3</sup>, Sedigheh Rastaghi MSc<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** In nuclear medicine, reliable estimation of radiation doses from the diagnostic or therapeutic radiopharmaceuticals is essential to evaluate the risks and benefits of their use. The general Medical Internal Radiation Dose (MIRD) method is used in analysis to estimate the internal emitter whole organ absorbed dose. This study aimed to estimate the absorbed doses from <sup>99m</sup>Tc-methylene diphosphonate (<sup>99m</sup>Tc-MDP) in patients following bone scan.

**Methods:** 22 patients referred to the Nuclear Medicine Department of Shahid Chamran Hospital, Isfahan, Iran, for investigation bone metastases were enrolled. Whole-body images were acquired at 10, 60, 90 and 180 minutes after the injection of <sup>99m</sup>Tc-MDP. Organ activities were calculated via the conjugate view method, using conventional background correction method. Finally, the absorbed dose was calculated using the MIRD technique.

**Findings:** The absorbed doses of <sup>99m</sup>Tc-MDP in bone, bladder and kidneys, using the conventional background correction method, were  $0.13 \pm 0.04$ ,  $0.08 \pm 0.01$  and  $0.02 \pm 0.00$  rad/mCi, respectively.

**Conclusion:** The results of this study showed that the calculation of absorbed dose, using conventional background correction method, was in good agreement with MIRD report No. 13.

**Keywords:** Absorbed dose, Conjugate view method, Cumulated activity, Medical Internal Radiation Dose (MIRD) method

**Citation:** Shahbazi-Gahrouei D, Damoori M, Tavakoli MB, Moslehi M, Rastaghi S. **Estimating the Absorbed Doses from <sup>99m</sup>Tc-MDP in Patients Following Bone Scan.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(352): 1628-36

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

2- MSc Student, Department of Medical Physics and Engineering, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Department of Medical Physics and Engineering, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Department of Biostatistics, School of Public Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Mehri Damoori, Email: mehrdamoori@gmail.com

## التهاب در سندرم متابولیک: نقش بافت چربی

دکتر مجید خزاعی<sup>۱</sup>

نامه به سردبیر

### سردبیر محترم مجله‌ی دانشکده پزشکی

مطالعه‌ی اخیر گلشاهی و همکاران نشان داد، سطح عامل پروتئین حاد التهابی با حساسیت بالا (hsCRP یا High-sensitivity C-reactive protein) در افراد دچار سندرم متابولیک افزایش یافته است (۱). سندرم متابولیک، مجموعه‌ای از عوامل خطر قلبی است که شامل چاقی تنه‌ای، دیس‌لیپیدمی، مقاومت به انسولین و فشار خون بالا است. امروزه مشخص شده است که التهاب، یکی از علل مقاومت به انسولین در افراد چاق و مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشد.

در واقع، در سندرم متابولیک، یک التهاب مزمن خفیف (Chronic low-grade Inflammation) وجود دارد و مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که التهاب مزمن خفیف با سندرم متابولیک و مقاومت به انسولین همراه است (۲). به نظر می‌رسد، التهاب یک جزء مشترک اختلال در متابولیسم گلوکز، چربی‌ها و انسولین باشد که زمینه‌ساز ایجاد و پیشرفت سندرم متابولیک است (۲). مطالعات زیادی، ارتباط بین سطح پلاسمایی CRP و مشخصات سندرم متابولیک مثل چاقی، هیپرانسولینمی، مقاومت به انسولین، هیپرتری‌گلیسیریدمی را نشان داده است؛ اما، التهاب

مزمن خفیف در سندرم متابولیک نه تنها به صورت سیستمیک با افزایش CRP و برخی مسیرهای التهابی مثل NFκB (Nuclear factor kappa B) - که مسیر اصلی در پاسخ التهابی ذاتی است - همراه است، بلکه التهاب در بافت چربی با آزاد شدن آدیپوکین‌هایی به گردش خون همراه است که نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی سندرم متابولیک دارد (۳).

در تأیید مطالعات پیش‌گفته، مطالعه‌ی جدیدی نشان داد که افراد مبتلا به سندرم متابولیک، شاخص‌های التهابی در خون آن‌ها که شامل CRP و ایتترلوکین-۶ است نسبت به افرادی که سندرم متابولیک ندارند افزایش نشان می‌دهد (۴). از سوی دیگر، نشان داده شده است که افزایش CRP و فیبرینوژن در سندرم متابولیک به طور نسبی توسط عوامل و آدیپوکین‌های آزاد شده از بافت چربی کنترل می‌شود (۵). خصوصیات اندوکرینی بافت چربی، برای اولین بار در سال ۱۹۹۰ مشخص و مشاهده شد که TNF-α (Tumor necrosis factor) می‌تواند سبب مقاومت به انسولین در بافت چربی گردد (۳).

پس از دو دهه، امروزه مشخص شده است که بافت چربی می‌تواند موادی ترشح کند که در ایجاد

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات التهاب نوروزنیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

Email: khazaeim@mums.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مجید خزاعی



نقش مهمی در تنظیم متابولیسم عضلانی دارد (۸). یکی از اثرات مفید آدیپونکتین، اثرات ضد التهابی و حساسیت آن به انسولین است (۸). سطح آدیپونکتین پلاسما در افراد چاق نسبت به افراد طبیعی، کمتر است و ارتباط زیادی با سندرم متابولیک دارد (۹). لپتین نیز یک آدیپوکین مهم است که سطح آن در افراد چاق افزایش می‌یابد (۱۰). لپتین می‌تواند استرس اکسیداتیو و عوامل پیش التهابی را افزایش دهد (۳). از این رو، به نظر می‌رسد شناخت بیشتر و بهتر عوامل التهابی بافت چربی و نقش آن‌ها در ایجاد سندرم متابولیک، می‌تواند یک راهکار درمانی مهم در درمان سندرم متابولیک باشد.

التهاب در سندرم متابولیک نقش زیادی دارد. انفیلتراسیون ماکروفاژ در بافت چربی، به خصوص چربی مرکزی (نه چربی زیر پوستی)، یکی از مشخصات التهاب مزمن خفیف در چاقی است و نمایه‌ی توده‌ی بدنی، رابطه‌ی مثبتی با میزان انفیلتراسیون ماکروفاژی در بافت چربی دارد (۶). ماکروفاژهای فعال شده در بافت چربی، می‌توانند آدیپوکین‌های پیش‌التهابی زیادی ترشح نمایند (۶-۷). یکی از علل احتمالی افزایش ترشح آدیپوکین‌ها، افزایش فعالیت مسیر NFκB است (۳). این مسیرها با استرس اکسیداتیو و تولید آدیپوکین‌ها فعال می‌شوند. آدیپونکتین از جمله پروتئین‌های پلاسمایی است که

**ارجاع:** خزاعی مجید. التهاب در سندرم متابولیک: نقش بافت چربی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۲): ۱۶۳۷-۱۶۳۹

## References

1. Golshahi J, Khaledi Y, Aghababaei E, Sadeghi M, Hashemi M, Sanei H. Comparing heart rate reserve and high-sensitivity C-reactive protein in patients with and without metabolic syndrome. *J Isfahan Med Sch* 2014; 32(312): 2085-93. [In Persian].
2. Rodriguez-Hernandez H, Simental-Mendia LE, Rodriguez-Ramirez G, Reyes-Romero MA. Obesity and inflammation: epidemiology, risk factors, and markers of inflammation. *Int J Endocrinol* 2013; 2013: 678159.
3. Elks CM, Francis J. Central adiposity, systemic inflammation, and the metabolic syndrome. *Curr Hypertens Rep* 2010; 12(2): 99-104.
4. Ding Y, Li S, Ma RL, Guo H, Zhang J, Zhang M, et al. Association of homeostasis model assessment of insulin resistance, adiponectin, and low-grade inflammation with the course of the metabolic syndrome. *Clin Biochem* 2015; 48(7-8): 503-7.
5. Yudkin JS, Juhan-Vague I, Hawe E, Humphries SE, di MG, Margaglione M, et al. Low-grade inflammation may play a role in the etiology of the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease: the HIFMECH study. *Metabolism* 2004; 53(7): 852-7.
6. Bourlier V, Bouloumie A. Role of macrophage tissue infiltration in obesity and insulin resistance. *Diabetes Metab* 2009; 35(4): 251-60.
7. Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 314(1): 1-16.
8. Liu Y, Sweeney G. Adiponectin action in skeletal muscle. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2014; 28(1): 33-41.
9. Liu Y, Retnakaran R, Hanley A, Tungtrongchitr R, Shaw C, Sweeney G. Total and high molecular weight but not trimeric or hexameric forms of adiponectin correlate with markers of the metabolic syndrome and liver injury in Thai subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(11): 4313-8.
10. Tahergorabi Z, Khazaei M. Changes of serum angiogenic biomarkers and their correlations with serum leptin concentration. *Bratisl Lek Listy* 2014; 115(6): 330-3.

## Inflammation in Metabolic Syndrome: Role of Adipose Tissue

Majid Khazaei MD, PhD<sup>1</sup>

### Letter to Editor

#### Abstract

Metabolic syndrome is a chronic low-grade inflammation condition which is associated with central obesity, dyslipidemia, insulin resistance and hypertension. Inflammation in metabolic syndrome is not only associated with elevated serum inflammatory markers, such as C-reactive protein (CRP), but also, is associated with low-grade inflammation in adipose tissue and releasing of adipokines. Higher secretion of adipokines such as adiponectin and leptin, activated macrophages, and signaling pathways such as nuclear factor kappa B (NFκB) are reported in adipocytes. It seems that more knowledge regarding the role of inflammatory markers in adipose tissue may be useful in management of metabolic syndrome.

**Keywords:** Inflammation, Metabolic syndrome, Adipose tissue

**Citation:** Khazaei M. **Inflammation in Metabolic Syndrome: Role of Adipose Tissue.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(352): 1637-9

1- Associate Professor, Department of Physiology AND Neurogenic Inflammation Research Center, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

**Corresponding Author:** Majid Khazaei MD, PhD, Email: khazaeim@mums.ac.ir

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

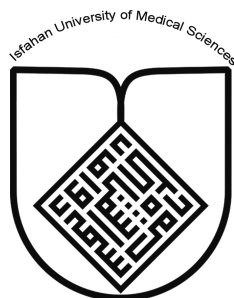
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
  - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

## INSTRUCTION TO AUTHORS

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

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

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



## JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 33, No. 352, 4<sup>th</sup> Week, November 2015

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

---

### Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

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

### Office:

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

Telefax: +98 31 37922291

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

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

### Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

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

Telefax: +98 31 36686302

E-mail: [esfahanfarzanegan@yahoo.com](mailto:esfahanfarzanegan@yahoo.com)

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

[www.farzaneganco.ir](http://www.farzaneganco.ir)

Circulation: 500

---

### This journal is indexed in the following international indexes

- 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.