

### مقاله های پژوهشی

- ۹۵۸ ..... بررسی تأثیر ضد التهابی سیاه دانه بر روی موش های صحرایی ماده ی مبتلا به آنفالومیلیت آرترویک تجزی  
 اکبر کریمی، الهام اعتمادی
- ۹۶۵ ..... کلونینگ و بیان آنژکونوست گیرنده ی ایتروکوکین ۱ نو ترکیب انسانی در سیستم های بیانی Escherichia coli شامل (DE3) B121, Rosetta (DE3) و Origami (DE3)  
 هایه فردگلی، سید نظام الدین حسینی، ستاره حقیقت
- ۹۷۳ ..... تأثیر چهارده هفته تمرین استقامتی و تزریق نانوذره ی نقره در دوران بارداری بر سطح تروپونین T سرمی مادر و شاخص هیستوپاتولوژیک قلب جنین موش سوری  
 مریم قاسمی همای، غلامرضا شریفی، فرزانه تقیان، مهرداد مدرسی
- ۹۸۲ ..... مقایسه ی روش های ثابت سازی با نخ محکم و ثابت سازی با پیچ در ترمیم آسیب Syndesmosis مچ پا  
 شیروان رستگار، سینا طالبی، سجاد طالبی
- ۹۸۹ ..... مداخله ی عصب روان شناختی بر عملکرد درک و تشخیص رنگ در کودکان کم بینا به وسیله ی سامانه ی محرک نوری: پژوهش مورد منفرد  
 الهه مودنی، سعید کرمانی، سalar فaramarzi، فاطمه توکلی

### Original Articles

- Investigating the Anti-inflammatory Effect of Nigella Sativa in Female Rats with Experimental Allergic Encephalomyelitis ..... 964  
 Akbar Karimi, Elham Etemadi
- Cloning and Expression of Recombinant Human Interleukin 1 Receptor Antagonist in Escherichia Coli Strains, BL21 (DE3), Rosetta (DE3), and Origami (DE3) ..... 972  
 Hanieh Fardgoli, Seyed Nezameddin Hoseini, Setareh Haghighat
- The Effect of 14-Week Endurance Training and Injection of Silver Nanoparticles during Pregnancy on Maternal Serum Troponin T Level and Fetal Heart Histopathological Index of Laboratory Mice ..... 981  
 Maryam Ghasemihemami, Gholamreza Sharifi, Farzaneh Taghian, Mehrdad Modarsi
- Comparison of Tightrope Fixation and Tricortical-Screw Fixation in Treatment of Ankle Syndesmosis Injuries ... 988  
 Shirvan Rastegar, Sina Talebi, Sajad Talebi
- The Effect of Neuropsychological Interventions by Optical Stimulus System on Color Recognitions in Children with Low Vision: A Single Subject Study ..... 993  
 Elaheh Moazeni, Saeed Kermani, Salar Faramarzi, Fatemeh Tavakolli



# مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و نهم، شماره (۵۳۹)، بهمنه سوم، مهرماه ۱۳۹۸

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

سر دبیر افتخاری: دکتر رویا کلیشادی

مدیر مسؤول: دکتر سید مرتضی حیدری

سر دبیر: دکتر رضا خدیوی

ناشر:

انتشارات وسنا (فرزادگان راندیش)  
Email: farapublications@gmail.com  
http://farapub.com

تلفن: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۳۵

دورنگار: ۰۳۱-۳۲۲۲۴۳۸۲

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

Email: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مدیر اجرایی: علی مرادی مسؤول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۹۱ تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

Email: jims@med.mui.ac.ir

http://jims.mui.ac.ir

وب سایت مجله:

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 محمد رضا اخلاقی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر علی اخوان	استادیار، متخصص پرتودرمانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، فوق تخصص غدد، بیمارستان‌های دانشگاهی مرکز پزشکی کیولند، آمریکا
۵- دکتر احمد اسماعیل زاده	استاد، دکترای تخصصی تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- دکتر افسون امامی نائینی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۷- دکتر شاهین امامی	گروه بیوشیمی، بیمارستان سن آنتونیو، پاریس، فرانسه
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، فوق تخصص بیماری‌های ایمونولوژی و آلرژی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر فریبا ایرجی	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۱- دکتر کن باست	استاد، متخصص ابتکارات درمانی، دانشگاه بریتیش کلمبیا، کانادا
۱۲- دکتر رضا باقریان سرارودی	دانشیار، دکترای تخصصی روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- دکتر مجید برکتین	استاد، متخصص روانپزشکی، فلوشیپ نوروسایکیاتری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۴- دکتر فرزین پور فرزاد	دکترای تخصصی زیست شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند
۱۵- دکتر مسعود پورمقدس	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر احمد چیت‌ساز	استاد، متخصص مغز و اعصاب، فلوشیپ بیماری‌های حرکتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۷- دکتر علی حکمت نیا	استاد، متخصص رادیولوژی، فلوشیپ رادیولوژی مغز و اعصاب و کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۸- دکتر سید مرتضی حیدری	استاد، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۹- دکتر مجید خیراللهی	دانشیار، دکترای تخصصی ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر بهناز خانی	دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر مریم راداحمدی	دانشیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۳- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۴- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۵- دکتر محمدرضا شریفی	استاد، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۶- دکتر منصور شعله‌ور	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۷- دکتر رسول صالحی	استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر مسیح صبوری	استاد، متخصص جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر محمدرضا صفوی	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۰- دکتر خسرو عادل‌لی	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۳۱- دکتر سعید عندلیب جورتانی	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لوئیس ویل، آمریکا
۳۲- دکتر زیبا فرج‌زادگان	استاد، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۳- دکتر رویا کلیشادی	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۵- دکتر عزیر گه‌ری	استاد، متخصص جراحی پلاستیک، دانشگاه بریتیش کلمبیا، کانادا
۳۶- دکتر پروین محزونی	استاد، متخصص آسیب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۷- دکتر سید مهدی مدرس‌زاده	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۸- دکتر محمد مردانی	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۹- دکتر عطیه مغیثی	دانشیار، فوق تخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات دیابت و غدد داخلی مارینا، آمریکا
۴۰- دکتر مرجان منصوریان	استادیار، دکترای تخصصی اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۱- دکتر محمدرضا نوربخش	استاد، متخصص فیزیوتراپی، دانشگاه جورجیا، شمالی، آمریکا
۴۲- دکتر مصطفی هاشمی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران



## راهنمای نگارش و ارسال مقاله علمی - پژوهشی

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

هیأت تحریریه پس از دریافت مقالات اقدام به بررسی مقاله از لحاظ ساختاری و موضوعی می‌نماید و چنانچه مقاله در بررسی اولیه مورد تأیید باشد، برای داوری ارسال می‌شود. زمان فرایند داوری (از دریافت تا پذیرش نهایی آن) ۳ ماه کاری (بجز روزهای پنج‌شنبه و تعطیلات رسمی) می‌باشد. لازم به ذکر است داوری و انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است. لذا پس از انجام مراحل داوری و پذیرش مقاله و قبل از صدور نامه پذیرش، لازم است نویسندگان محترم فرایند مالی را تکمیل نمایند.

نحوه ارسال دست نوشته‌ها در سامانه

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

توجه به نکات زیر در ارسال مقاله ضروری است:

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

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

- ارسال مقاله فقط از طریق سایت پذیرفته می‌شود.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

تبصره ۱- مقالات ترجمه پذیرفته نمی‌شود.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- روش‌ها: این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط 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؛ شیوه تأمین روایی مشخص شود و توصیف دقیق فرآیند اجرایی برای روسازی آن توضیح داده شود. چگونگی تعیین روش‌های مورد استفاده برای تأمین پایایی پرسش‌نامه و گزارش نتایج آزمون‌های آماری به کار گرفته شده جهت تأمین پایایی توضیح داده شود. در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

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

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

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

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

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

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

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

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

- اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

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

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

- منابع به صورت پایان‌نامه

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

- منابع به صورت الکترونیکی - مجله الکترونیکی روی اینترنت

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

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

منابع به صورت صفحه وب

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

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

- نمونه خوانی (**Proofreading**): یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤؤل

ارسال می‌گردد که لازم است در کوتاه‌ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وبسایت مجله ارسال نماید.

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

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

- پس از انتشار، نسخه‌ای برای نویسنده مسؤؤل ارسال نخواهد شد و شماره‌های مجله از طریق سایت برای نویسندگان و خوانندگان قابل دسترسی می‌باشد.

- ملاحظات اخلاقی: این ملاحظات باید در بخش روش‌ها اشاره گردند. اخذ رضایت‌نامه از کلیه‌ی افراد بالغ شرکت کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأیید کننده‌ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.

- 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.





## فهرست مطالب

### مقاله‌های پژوهشی

۹۵۸..... بررسی تأثیر ضد التهابی سیاه‌دانه بر روی موش‌های صحرایی ماده‌ی مبتلا به آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی.....  
اکبر کریمی، الهام اعتمادی

کلونینگ و بیان آنتاگونیست گیرنده‌ی ایتیلوکلین ۱ نو ترکیب انسانی در سیستم‌های بیانی *Escherichia coli* شامل (DE3) *B121*، *Origami (DE3)* و *Rosetta (DE3)*.....  
۹۶۵.....

هانیه فردگلی، سید نظام‌الدین حسینی، ستاره حقیقت

تأثیر چهارده هفته تمرین استقامتی و تزریق نانوذره‌ی نقره در دوران بارداری بر سطح تروپونین T سرمی مادر و شاخص  
هیستوپاتولوژیک قلب جنین موش سوری.....  
۹۷۳.....

مریم قاسمی همامی، غلامرضا شریفی، فرزانه تقیان، مهرداد مدرسی

مقایسه‌ی روش‌های ثابت‌سازی با نخ محکم و ثابت‌سازی با پیچ در ترمیم آسیب *Syndesmosis* مچ پا.....  
۹۸۲.....

شیروان رستگار، سینا طالبی، سجاد طالبی

مداخله‌ی عصب روان‌شناختی بر عملکرد درک و تشخیص رنگ در کودکان کم‌بینا به وسیله‌ی سامانه‌ی محرک نوری:  
پژوهش مورد منفرد.....  
۹۸۹.....

الهه موذنی، سعید کرمانی، سالار فرامرزی، فاطمه توکلی

## بررسی تأثیر ضد التهابی سیاه‌دانه بر روی موش‌های صحرایی ماده‌ی مبتلا به آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی

اکبر کریمی<sup>۱</sup>، الهام اعتمادی<sup>۲</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** Multiple sclerosis (MS)، بیماری مزمن و التهابی سیستم عصبی است و پیشرفت بیماری با افزایش سیتوکاین‌های خاص ارتباط دارد. آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی، به عنوان یک مدل حیوانی برای بیماری MS در نظر گرفته می‌شود و از آن برای ارزیابی روند بیماری و فرایند درمانی استفاده می‌گردد. با توجه به مطالعات انجام شده در زمینه‌ی فواید گیاه سیاه‌دانه، این مطالعه، با هدف بررسی تأثیر ضد التهابی سیاه‌دانه بر روی موش‌های صحرایی ماده‌ی مبتلا به آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی انجام شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه، تعداد ۲۴ سر موش صحرایی ماده‌ی بالغ نژاد Lewis (با میانگین سن ۸-۶ هفته و وزن ۲۲۰-۲۰۰ گرم) در چهار گروه (n = ۶) تقسیم شدند. گروه شاهد نرمال سالین و موش‌های صحرایی مبتلا به آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی (Experimental autoimmune encephalomyelitis یا EAE) تحت درمان، ۰/۰۵ سی‌سی عصاره‌ی هیدروالکلی سیاه‌دانه را در دزهای (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) به صورت یک روز در میان به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. عامل نکرور دهنده‌ی تومور آلفا (TNF- $\alpha$  یا Tumor necrosis factor- $\alpha$ )، پروتئین واکنشگر C (C-Reactive protein یا CRP)، نیترات و تغییرات وزن بدن روزانه ثبت گردید. بعد از پایان دوره‌ی ۱۵ روزه، میزان تولید TNF- $\alpha$  و CRP با استفاده از روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) و میزان نیترات توسط دستگاه High-performance liquid chromatography (HPLC) اندازه‌گیری شد. اطلاعات به دست آمده، با استفاده از آزمون‌های آماری One-way ANOVA، Mann-Whitney، و آزمون Duncan مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** سطوح سرمی CRP، TNF- $\alpha$  و نیترات سرم وابسته به دز در گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد به صورت معنی‌داری کاهش نشان داد ( $P < 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** به دلیل این که وضعیت التهاب در روند بیماری MS نقش به‌سزایی دارد، اثرات ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و محافظتی عصاره‌ی سیاه‌دانه در دز (۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) موجب کاهش عوامل التهابی و بهبود وضعیت التهابی در موش‌های صحرایی مبتلا به آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی می‌گردد.

**واژگان کلیدی:** سیاه‌دانه، ضد التهاب، آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی

**ارجاع:** کریمی اکبر، اعتمادی الهام. بررسی تأثیر ضد التهابی سیاه‌دانه بر روی موش‌های صحرایی ماده‌ی مبتلا به آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی.

مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۳۹): ۹۶۴-۹۵۸

(Experimental autoimmune encephalomyelitis یا EAE).

مدل حیوانی بیماری MS است که در آن سیستم ایمنی به پروتئین میلین سیستم عصبی حمله می‌کند و باعث از بین رفتن میلین و الیگودندروسیت‌ها می‌شود (۳). هر دو بیماری آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی و MS، دارای ماهیت التهابی به دلیل حمله‌ی سلول‌های ایمنی می‌باشند (۴).

گزارش شده است که سیتوکاین‌های التهابی، عامل اصلی التهاب در روند بیماری MS هستند. استفاده از آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی، بیشتر نقش سیتوکاین‌ها و آسیب سیستم اعصاب مرکزی ناشی از

## مقدمه

Multiple sclerosis (MS) بیماری نورولوژیک مزمن و التهابی سیستم عصبی مرکزی است که در آن غلاف‌های میلین سلول‌های عصبی در نتیجه‌ی ترکیبی از حملات ایمونولوژیک و اختلال در الیگودندروسیت‌ها آسیب می‌بینند. اگر چه علت بیماری مشخص نیست، اما مکانیزم اصلی آن، آسیب زدن توسط سیستم ایمنی بدن یا اختلال در سلول‌های تولید کننده‌ی غلاف میلین است. این بیماری، در زنان بیشتر از مردان است و نسبت بروز آن در حدود ۳ به ۱ می‌باشد (۱-۲). آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه پیام نور مرکز تهران، تهران، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه پیام نور مرکز تهران، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤو: الهام اعتمادی

Email: elham.etmadi@gmail.com

تحت دمای ۲۵-۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت ۵۵-۵۰ و تناوب روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته) قرار داشتند. همچنین، دسترسی آزادانه به آب و غذای کافی برای آن‌ها تأمین گردید. موش‌ها طبق اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی، پس از یک هفته سازگاری با شرایط محیط و تعیین وزن هر حیوان، در گروه‌های مختلف به طور تصادفی در چهار گروه (n = ۶) (یک گروه شاهد و سه گروه تیمار) تقسیم شدند. گروه شاهد، یک روز در میان، ۱ سی‌سی نرمال‌سالین دریافت کردند و به عنوان گروه سالم در نظر گرفته شدند. گروه‌های تیمار به صورت یک روز در میان میزان ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی سیاه‌دانه را دریافت کردند.

**مواد مورد استفاده:** مواد مورد استفاده در مطالعه‌ی حاضر، عبارت از ادجوانت کامل فروند (Sigma, USA)، کیت مخصوص TNF- $\alpha$  (Abcam, UK) و مطابق با دستورالعمل کیت به شماره‌ی ab 460700، کیت مخصوص CRP (Omega, UK) و دستگاه High-performance liquid chromatography (HPLC) (Waters, USA) بودند.

**روش القای EAE** جهت بررسی روند تأثیر عصاره‌ی سیاه‌دانه بر روند بیماری آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی، ۱۸ سر موش صحرایی ماده به سه گروه (n = ۶) برای القای بیماری تقسیم شدند. بیماری در موش‌های صحرایی ماده با استفاده از نخاع خوکچه‌ی هندی به شرح زیر القا شد. خوکچه‌های هندی بیهوش و سپس، نخاع تازه‌ی آن‌ها جدا شد. میزان ۱ گرم از بافت نخاع خوکچه‌ی هندی با ۱ سی‌سی سرم فیزیولوژی ترکیب شد و با دستگاه Shaker مخلوط گردید تا یک مخلوط یک‌دست تهیه شود. آن‌گاه، به میزان ۲ سی‌سی ادجوانت کامل فروند به آن اضافه شد و مخلوط به دست آمده، با استفاده از دستگاه Shaker مخلوط شد تا یک ترکیب امولسیون شده حاصل گردد. میزان ۲۵۰ میکرولیتر از ترکیب مورد نظر به صورت زیر جلدی در ناحیه‌ی پشت هر یک از موش‌ها تزریق شد (۱۲). بررسی شرایط بالینی روز اول تزریق نخاع خوکچه‌ی هندی به عنوان روز صفر پس از واکنش کردن موش‌ها در نظر گرفته شد. روند بیماری (شدت ناتوانی حرکتی) به صورت روزانه مورد بررسی قرار گرفت.

برای ارزیابی شدت بیماری، از مقیاس ۶ نمره‌ای شامل نمره‌ی صفر (عدم بروز بیماری)، نمره‌ی ۱ (اختلال در حرکت دم)، نمره‌ی ۲ (فلج شدن دم)، نمره‌ی ۳ (فلج جزئی دو پا)، نمره‌ی ۴ (فلج کامل پاها و فلج جزئی دست‌ها)، نمره‌ی ۵ (فلج کامل چهار دست و پا) و نمره‌ی ۶ (مرگ) استفاده گردید (۱۲). شدت بیماری طبق این مقیاس درجه‌بندی شد. به منظور ارزیابی اثرات درمانی عصاره‌ی سیاه‌دانه بر روند بیماری پس از ایجاد آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی و با بروز اولین علائم بالینی، هر سه گروه تیمار تحت درمان قرار گرفتند.

سیتوکاین‌ها در فرایند التهاب عصبی و روشی برای توسعه‌ی درمانی که بتواند روند بیماری را معکوس نماید، مشخص می‌کند (۵).

Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )، سیتوکاین التهابی است و در سیستم عصبی مرکزی به طور عمده توسط میکروگلیا، نورون‌ها و آستروسیت‌ها ایجاد می‌شود و در غلظت‌های بالا، می‌تواند باعث التهاب و آسیب اندام شود (۶-۷). پروتئین واکنشگر C (C-Ractive protein یا CRP)، یک نشانگر التهابی است که توسط سیتوکاین‌های تحریک‌کننده‌ی کبدی نظیر TNF- $\alpha$  و اینترلوکین (IL-1 و IL-6) تولید می‌گردد (۸).

برخی مطالعات، نشان می‌دهند که نیتریک اکسید و مشتقات واکنش‌پذیر آن در هماهنگی پاسخ التهابی در پاتوژنز MS که یک بیماری التهابی است، نقش به‌سزایی دارد. کاهش غلظت نیتریک اکسید سرم، می‌تواند تأثیر بالقوه و تغییر دهنده‌ای در درمان بیماری MS داشته باشد (۹). استفاده از داروهای گیاهی به طور قابل توجهی در بیماران MS افزایش یافته است. به تازگی، مطالعات متعددی نشان داده‌اند برخی از ترکیبات گیاهی دارای اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی باعث بهبود ترمیم میلین و سرکوب التهاب می‌شوند (۱۰). گیاه سیاه‌دانه با نام علمی *Nigella sativa*، دارای اثرات درمانی مختلف نظیر ضد سرطان، ضد درد، ضد میکروب، ضد التهاب و خواص آنتی‌اکسیدانی است. مطالعات آزمایشگاهی، اثرات روغن سیاه‌دانه و ترکیب فعال آن، تمیوکیون را به عنوان عامل ضد التهابی و مهارکننده‌ی تولید واسطه‌های التهابی نشان دادند (۱۱). متأسفانه، در حال حاضر درمان MS ممکن نیست؛ علاوه بر این، تمام داروهای تأیید شده برای درمان MS، عوارض بالقوه‌ی جدی دارند و در درمان طولانی مدت، بیماران از بروز این عوارض رنج می‌برند. بنابراین، تلاش برای یافتن درمان کامل و مؤثر، هنوز در حال انجام است. در سال‌های اخیر، تنها روش‌های درمانی جدید بر مبنای اثرات ضد التهابی و مهارکننده‌ی پیشرفت بیماری مطرح شده‌اند. از این رو، با توجه به مطالعات انجام شده در زمینه‌ی فواید گیاه سیاه‌دانه، هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر ضد التهابی سیاه‌دانه بر روی موش‌های صحرایی ماده‌ی مبتلا به آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی بود.

## روش‌ها

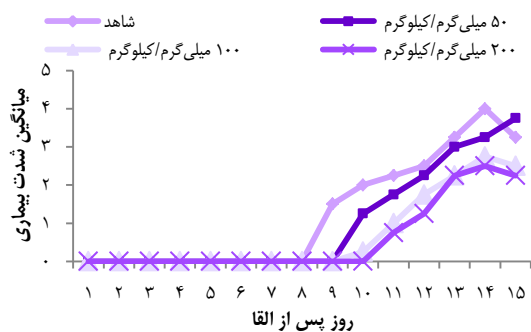
این مطالعه‌ی تجربی، بر روی ۲۴ سر موش صحرایی ماده‌ی بالغ نژاد Lewis با میانگین وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم و محدوده‌ی سنی ۸-۶ هفته از مؤسسه‌ی سرم‌سازی رازی تهیه شد. این پژوهش، مصوب شورای پژوهشی دانشگاه پیام نور مرکز تهران با کد کمیته‌ی اخلاق به شماره‌ی ۹۰۲۶ بود. موش‌ها در لانه‌ی حیوانات دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان نگهداری شدند و طی دوره‌ی تیمار، مطابق شرایط استاندارد

نیترا تپتاسیم به یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری منتقل شد و با آب مقطر خالص به حجم مورد نظر با غلظت ۱۰۰۰ قسمت در میلیون رسید. سپس، یک سی سی از این محلول برداشته و در بالن ۱۰۰ میلی لیتری دیگری به حجم مورد نظر با غلظت ۱۰ قسمت در میلیون رسانده شد. در نهایت، ۸ میلی لیتر از این محلول برداشته و با حجم مورد نظر به غلظت ۰/۸ قسمت در میلیون رسانده شد. سیستم HPLC شامل یک پمپ Waters مدل Sis و دتکتور Photodiode array (PDA) شرکت Waters مدل ۹۹۶ تجهیز شده با یک لوب ۲۰ میکرو لیتر ساخت آمریکا بود. جهت ثبت نتایج و گرفتن انتگرال، از نرم افزار Millenium نسخه ۳۲ استفاده شد و موبایل فاز ۱/۰ میلی لیتر/دقیقه و ستون به کار رفته، ۲۵۰ × ۴۰۶ میلی متر مربع - DS Hypeosil بود که طول موج مورد استفاده، برابر ۲۱۰ نانومتر بود (۱۵).

در این مطالعه، نتایج به دست آمده به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون های آماری One-way ANOVA, Mann-Whitney و آزمون Duncan انجام گرفت. تمام آزمون ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) و در سطح معنی داری  $P < 0/05$  انجام شد.

### یافته ها

پس از القای بیماری، شرایط بالینی موش های صحرایی ماده مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس جدول ۱، به آن ها امتیاز داده شد و هر روز میانگین امتیازها ثبت شد. نتایج حاصل از بررسی در شکل ۱ آمده است.



شکل ۱. تغییرات شدت شرایط بد بالینی در روزهای مختلف بعد از ایجاد آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی در گروه های تحت درمان. شروع شرایط بد بالینی در گروه های گیرنده ی عصاره ی سیاهدانه از روز ۸ به روزهای ۹ و ۱۰ به تأخیر افتاده است و در گروه های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره ی سیاهدانه، شدت علائم بالینی را کاهش داده است، اما تنها در گروه ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، این کاهش معنی دار بوده است ( $P < 0/05$ ).

**روش تهیه ی عصاره ی سیاهدانه:** دانه های سیاهدانه ی گونه ی *Nigella sativa* تهیه و توسط بخش گیاه شناسی دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان تأیید شد. سپس، توسط آسیاب برقی از آن ها پودر تهیه شد. ۳۰ گرم از پودر تهیه شده درون یک ارلن استریل قرار داده شد و به میزان ۴۰ سی سی به آن محلول آب و الکل (۳۰ درصد آب و ۷۰ درصد اتانول ۹۶ درجه) اضافه شد. مخلوط به دست آمده، به مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط نگهداری شد. سپس، مخلوط با استفاده از دستگاه Shaker به طور کامل مخلوط شد و با کاغذ صافی واتمن صاف و پس از صاف نمودن (۱۳)، مقدار باقی مانده ی عصاره در محلول محاسبه و از آن دزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم تهیه شد (۱۴).

**درمان موش های مبتلا به EAE با عصاره ی سیاهدانه:** چهار گروه موش صحرایی مورد مطالعه، شامل گروه شاهد و سه گروه تیمار بودند. گروه شاهد، به صورت یک روز در میان ۱ سی سی نرمال سالین دریافت کردند. گروه های تیمار نیز به صورت یک روز در میان به ترتیب ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره ی سیاهدانه را دریافت کردند. عصاره با استفاده از سرنگ انسولین ۱ سی سی و به روش درون صفاقی به میزان ۰/۰۵ سی سی هر روز به موش ها تزریق شد. تمام تزریق ها، به مدت ۱۵ روز و در ساعت ۱۰-۱۲ صورت گرفت.

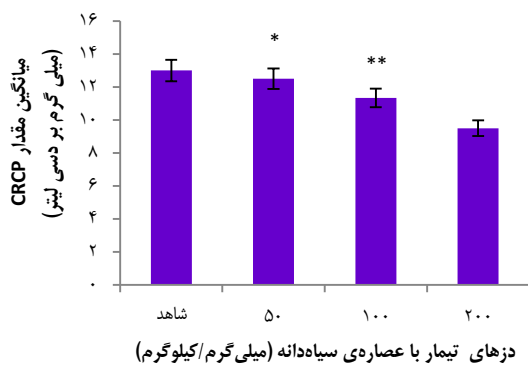
**اندازه گیری میزان  $CRP$ ،  $TNF-\alpha$  و نیترا تپ:** در روز ۱۵ موش ها کشته شدند و با استفاده از خون گیری مستقیم از قلب آن ها، نمونه ی خون تهیه شد. پس از جداسازی سرم از نمونه ی خون، میزان  $TNF-\alpha$  آن ها با روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) و با استفاده از کیت مخصوص  $TNF-\alpha$ ، میزان  $TNF-\alpha$  در سرم آن ها اندازه گیری شد. سطح سرمی  $CRP$  نیز اندازه گیری شد. برای ارزیابی نیترا تپ پس از جدا کردن سرم هر یک از نمونه ی خون ها، سرم به نسبت ۱:۱ با استون در میکروتیوب های اپندرف مخلوط گردید تا پروتئین های سرمی حذف شوند. آن گاه، مخلوط به دست آمده از فیلتر سر سرنگی Millipore به اندازه ی ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد تا یک محلول صاف و شفاف به دست آید و در نهایت، میزان ۲۰ میکرو لیتر از آن به دستگاه HPLC تزریق گردید و با HPLC، میزان نیترا تپ هر یک در شرکت داروسازی داروپخش اندازه گیری شد. ۰/۱۵۰ گرم نیترا تپ تپتاسیم با آب مقطر خالص (Ultrapure) به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد تا غلظت معادل ۱۰۰۰ قسمت در میلیون (Parts-per-million یا PPM) از محلول به دست آید. ۱ سی سی از این محلول در بالن به حجم ۱۰۰ رسانده شد تا غلظت ۱۰ قسمت در میلیون ایجاد شود. از این محلول، ۱ سی سی برداشته و به حجم ۱۰۰ رسانده شد تا محلول نهایی با غلظت برابر با ۰/۱ قسمت در میلیون حاصل شود. ۰/۱۳۷ گرم از

جدول ۱. بررسی و مقایسه‌ی میانگین وضعیت میزان سطح سرمی (TNF- $\alpha$ ) Tumor necrosis factor- $\alpha$ ، C reactive protein (CRP) و نیترات در گروه‌های مورد مطالعه

مقدار P	دزهای مختلف تیمار با عصاره‌ی سیاهدانه (میلی گرم/کیلوگرم)			گروه شاهد	متغیر
	۲۰۰	۱۰۰	۵۰		
< ۰/۰۰۱	<sup>***</sup> ۵۲۳/۳۳ ± ۷۱/۷۴	<sup>***</sup> ۶۵۱/۶۷ ± ۷۷/۳۰	<sup>*</sup> ۷۳۰/۰۰ ± ۴۴/۲۷	۷۹۶/۶۷ ± ۳۶/۶۹	TNF- $\alpha$ (پیکو گرم/میلی لیتر)
< ۰/۰۱۰	<sup>**</sup> ۹/۵۰ ± ۱/۸۷	<sup>*</sup> ۱۱/۳۳ ± ۱/۳۶	۱۲/۵۰ ± ۱/۳۷	۱۳/۰۰ ± ۱/۴۱	CRP (میلی گرم/دسی لیتر)
< ۰/۰۰۱	<sup>***</sup> ۵۵/۰۰ ± ۷/۸۹	۶۷/۱۷ ± ۳/۳۷	۷۳/۱۷ ± ۴/۸۷	۷۱/۰۰ ± ۵/۱۷	نیترات سرم (قسمت در میلیون)

\* اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد ( $P < ۰/۰۵۰$ ); \*\* اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد ( $P < ۰/۰۱۰$ ); \*\*\* اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد ( $P < ۰/۰۰۱$ )

TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; CRP: C reactive protein

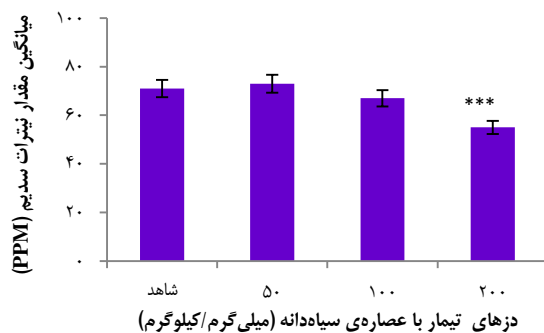


شکل ۳. مقایسه‌ی میانگین میزان تغییرات سطح سرمی

C reactive protein (CRP) به تفکیک گروه‌های مختلف

\* اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد ( $P < ۰/۰۵۰$ ); \*\* اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد ( $P < ۰/۰۱۰$ )

میانگین میزان CRP در گروه‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره‌ی سیاهدانه نسبت به گروه شاهد به صورت معنی داری کاهش نشان داد ( $P < ۰/۰۱۰$ ) (شکل ۳، جدول ۱). همچنین، اختلاف میانگین نیترات سرم در گروه ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره‌ی سیاهدانه نسبت به گروه شاهد به صورت معنی داری کاهش نشان داد ( $P < ۰/۰۰۱$ ) (شکل ۴، جدول ۱).

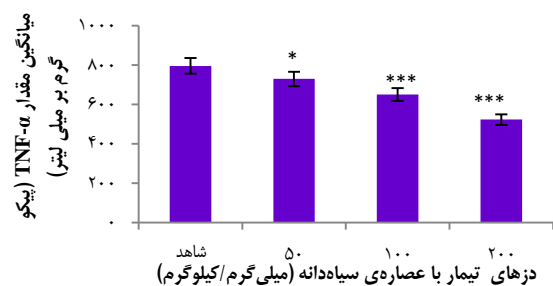


شکل ۴. مقایسه‌ی میانگین میزان تغییرات سطح سرمی نیترات به تفکیک

گروه‌های مختلف

\*\*\* اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد ( $P < ۰/۰۰۱$ )

همان طور که مشاهده می‌شود، شروع شرایط بد بالینی در گروه‌های مختلف از روز ۸ بود که موش‌ها، نشانه‌هایی مانند کاهش فعالیت‌های جستجو، کاهش رفتارهای تغذیه‌ای و کاهش وزن بدن را بروز دادند. در روز ۹، علایمی همانند اختلال در حرکت دم و فلج جزئی دم در گروه‌های تیمار مشاهده شد. نشانه‌های پیش گفته، افزایش یافت و در نهایت، منجر به بروز فلج کامل در اندام تحتانی گردید (شکل ۱). با توجه به شکل ۱، ارزیابی داده‌های مرتبط با شدت علائم بالینی نشان داد که میانگین شدت بیماری در موش‌های تحت درمان با ۰/۰۵ سی سی عصاره‌ی سیاهدانه در همه‌ی گروه‌ها نسبت به گروه شاهد کاهش یافت و شرایط بد بالینی از روز ۸ به روزهای ۹ و ۱۰ به تأخیر افتاد و با مقایسه‌ی میانگین شدت بیماری مشخص شد که در گروه عصاره‌ی ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، نسبت به گروه شاهد به صورت معنی داری کاهش نشان داد ( $P < ۰/۰۵۰$ ) (شکل ۱). عصاره‌ی سیاهدانه با دز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، می‌تواند به صورت معنی داری علائم و نشانه‌های سخت بالینی در موش‌های مبتلا به آسفالومیلیت آلرژیک تجربی را کاهش دهد. سطوح سرمی TNF- $\alpha$  در گروه‌های تیمار ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم سیاهدانه/کیلوگرم سیاهدانه نسبت به گروه شاهد به صورت معنی داری کاهش نشان داد ( $P < ۰/۰۰۱$ ) (شکل ۲، جدول ۱).



شکل ۲. مقایسه‌ی میانگین میزان تغییرات سطح سرمی

Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) به تفکیک گروه‌های مختلف

\*  $P < ۰/۰۵۰$  اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد; \*\*\*  $P < ۰/۰۰۱$  اختلاف

معنی دار نسبت به گروه شاهد

## بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که تجویز درمانی و مصرف عصاره‌ی سیاه‌دانه بر روی موش‌های صحرایی ماده‌ی مبتلا به آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی، باعث تأخیر در شروع حمله‌ی بیماری و کاهش شدت شرایط بد بالینی گردید.

در ضمن، با توجه به نمودارهای ارائه شده در شکل‌های ۴-۱، وضعیت التهابی سطوح سرمی  $TNF-\alpha$ ، CRP و نیترات سرم در موش‌های صحرایی ماده‌ی مبتلا به آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی به صورت معنی داری نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد که این کاهش، نشان از خواص ضد التهابی سیاه‌دانه می‌باشد. طی پیشرفت بیماری MS، سلول‌های T فعال می‌شوند و ماکروفاژها سیتوکاین‌های ضد التهابی مانند  $TNF-\alpha$ ، اینترلوکین‌های IL-1 و IL-6 و گاما اینترفرون را ترشح می‌کنند. این سیتوکاین‌ها، می‌توانند نیتریک اکسید را در سیستم عصبی افزایش دهند (۱۶). نیتریک اکسید، بسیار ناپایدار است و به سرعت به نیترات و نیتريت تبدیل می‌شود که منعکس کننده‌ی غلظت نیتریک اکسید هستند (۱۷). تیموکینون سیاه‌دانه، تولید نیتریک اکسید توسط ماکروفاژها را مهار می‌کند؛ این نشان می‌دهد که تیموکینون، اثر مهاری بر تولید نیتریک اکسید از طریق کاهش نیتریک اکسید سنتاز mRNA/NOS (Messenger RNA) می‌کند و ممکن است در بهبود شرایط التهابی و خودایمنی مؤثر باشد. از آن جایی که تیموکینون، جزء اصلی و فعال در دانه‌های سیاه‌دانه است، بنابراین، باعث کاهش قابل توجهی در گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی سیاه‌دانه می‌شود (۱۸).

سطوح سرمی  $TNF-\alpha$  با شدت و سختی آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی و بیماری MS در ارتباط است و نقش مهمی در شروع و گسترش بیماری دارد (۱۲). تجویز روزانه ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی سیاه‌دانه به مدت ۲۱ روز به صورت خوراکی سبب کاهش سطح سیتوکاین‌های التهابی و افزایش سیتوکاین‌های ضد التهابی می‌گردد. تیموکینون، به عنوان ماده‌ی ضد التهابی به طور قابل توجهی باعث کاهش عوامل التهابی مانند عامل نکروز دهنده‌ی تومور آلفا و اینترلوکین ۱ و ۶ در موش‌های صحرایی می‌باشد. آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی، می‌تواند با تیموکینون درمان گردد و بهبود یابد؛ تیموکینون، از پیشرفت بیماری جلوگیری می‌کند (۱۹).

در مطالعه‌ی حاضر، مشاهده شد که  $TNF-\alpha$  در گروه‌های تیمار با دزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و نیترات سرم در گروه ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم تحت درمان با عصاره‌ی سیاه‌دانه نسبت به

گروه شاهد کاهش نشان داد. نتایج مطالعات قبلی با مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد. همچنین، نشانگر التهابی CRP مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد میزان سطوح سرمی CRP در گروه‌های تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم تحت درمان با عصاره‌ی سیاه‌دانه نسبت به گروه شاهد کاهش یافت و این کاهش، می‌تواند نتیجه‌ی حاصل از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی سیاه‌دانه باشد (۱۱).

شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد تعامل پیچیده‌ای بین مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زا و برون‌زا وجود دارد. در شرایط فیزیولوژیک، تعادل بین این دو، از استرس اکسیداتیو و افزایش نیترژن محافظت می‌کند. از سوی دیگر، عامل هسته‌ای تولید شده از اریترئوئیدها Nuclear factor erythroid-derived 2-like2 یا Nrf2 در دفاع از آنتی‌اکسیدان‌ها شرکت می‌کنند. این مولکول، به شدت در تنظیم بسیاری از ژن‌های مختلف مرتبط با فرایندهای التهابی، تنظیم سلول‌های بنیادی و بازسازی آن‌ها نقش دارد (۲۰). در آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی، با کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها میزان بیان Nrf2 نیز کاهش می‌یابد (۲۱). گزارش شده است که فعال‌سازی Nrf2 به مهار تولید و ترشح سیتوکاین‌های التهابی کمک می‌کند (۲۲). نتایج مطالعات پیش گفته با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد. در این مطالعه، می‌توان چنین بیان نمود که اثرات محافظتی عصاره‌ی سیاه‌دانه بر روی موش‌های ناشی از آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی، شرایط بد بالینی و میزان سطوح سرمی  $TNF-\alpha$ ، CRP و نیترات سرم در گروه‌های تیمار تحت درمان نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است و این کاهش، می‌تواند به علت نقش ضد التهابی و خواص آنتی‌اکسیدانی سیاه‌دانه باشد (۱۱) که با مهار و سرکوب کردن مولکول‌های التهابی، آن‌ها را به شدت کنترل می‌کند (۲۳).

در پایان، می‌توان نتیجه گرفت به دلیل این که وضعیت التهاب در روند بیماری MS نقش به‌سزایی دارد، اثرات ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و محافظتی عصاره‌ی سیاه‌دانه در ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، موجب کاهش عوامل التهابی و بهبود وضعیت التهابی در موش‌های صحرایی مبتلا به آنسفالومیلیت آلرژیک تجربی می‌گردد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی به شماره‌ی ۱۰/۹۰۲۶ می‌باشد. بدین وسیله، از همکاری و پشتیبانی دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان و عزیزانی که ما را در انجام این طرح یاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌شود.

## References

1. Nakahara J, Maeda M, Aiso S, Suzuki N. Current concepts in multiple sclerosis: Autoimmunity versus oligodendroglipathy. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012; 42(1): 26-34.
2. Bove R, Chitnis T. Sexual disparities in the incidence and course of MS. *Clin Immunol* 2013; 149(2): 201-10.
3. Moore GR. Current concepts in the neuropathology and pathogenesis of multiple sclerosis. *Can J Neurol Sci* 2010; 37(Suppl 2): S5-15.
4. Morvaridi A, Delirez N, Hobbenaghi R, Abtahi Froushani SM, Malekinejad H. The effects of all-trans retinoic acid on clinical symptoms, nitric oxide levels and total antioxidant capacity of plasma in mouse model of multiple sclerosis. *Razi J Med Sci* 2013; 20(108): 11-9. [In Persian].
5. Palle P, Monaghan KL, Milne SM, Wan ECK. Cytokine Signaling in multiple sclerosis and its therapeutic applications. *Med Sci (Basel)* 2017; 5(4).
6. Lim SY, Constantinescu CS. TNF- $\alpha$ : A paradigm of paradox and complexity in multiple sclerosis and its animal models. *Open Autoimmun J* 2010; 2: 160-70.
7. Linkermann A, Stockwell BR, Krautwald S, Anders HJ. Regulated cell death and inflammation: An auto-amplification loop causes organ failure. *Nat Rev Immunol* 2014; 14(11): 759-67.
8. Wang Z, Hoy WE. C-reactive protein and the risk of developing type 2 diabetes in Aboriginal Australians. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 76(1): 37-43.
9. Niedziela N, Adamczyk-Sowa M, Niedziela JT, Mazur B, Kluczevska E, Sowa P, et al. Assessment of serum nitrogen species and inflammatory parameters in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with different therapeutic approaches. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 4570351.
10. Mohajeri M, Sadeghizadeh M, Najafi F, Javan M. Polymerized nano-curcumin attenuates neurological symptoms in EAE model of multiple sclerosis through down regulation of inflammatory and oxidative processes and enhancing neuroprotection and myelin repair. *Neuropharmacology* 2015; 99: 156-67.
11. Fahmy HM, Noor NA, Mohammed FF, Elsayed AA, Radwan NM. *Nigella sativa* as an anti-inflammatory and promising remyelinating agent in the cortex and hippocampus of experimental autoimmune encephalomyelitis-induced rats. *The Journal of Basic and Applied Zoology* 2014; 67(5): 182-95.
12. Schneider C, Schuetz G, Zollner TM. Acute neuroinflammation in Lewis rats - a model for acute multiple sclerosis relapses. *J Neuroimmunol* 2009; 213(1-2): 84-90.
13. Mirdar S, Arabzadeh E, Arzani A, Ahmadi S, Neyestani F, Baghbani M. Comparison of time periods and different patterns of tipper with black currant supplementation on weight variation and endurance performance of the growing male Wistar rats. *Journl of Applied Exercise Physiology* 2013; 10(20): 115-28. [In Persian].
14. Modaresi M, Poor-Naji N. The effect of black seed (*Nigella sativa*) hydro-alcoholic extract on breeding factors in female mice. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2012; 13(6): 63-70. [In Persian].
15. Xia DS, Deng DJ, Wang SL. Destruction of parotid glands affects nitrate and nitrite metabolism. *J Dent Res* 2003; 82(2): 101-5.
16. Poyraz T, Idiman E, Uysal S, Iyilikci L, Ozakbas S, Coskuner PE, et al. The cooling effect on proinflammatory cytokines interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha, and nitric oxide in patients with multiple sclerosis. *ISRN Neurol* 2013; 2013: 964572.
17. Roghani M, Mahboudi F, Saharian MA, Etemadifar M, Esfahani AN, Nahrevanian H, et al. Concentrations of nitric oxide metabolites in the serum of Iranian multiple sclerosis patients. *J Neurol Sci* 2010; 294(1-2): 92-4.
18. Noor NA, Fahmy HM, Mohammed FF, Elsayed AA, Radwan NM. *Nigella sativa* ameliorates inflammation and demyelination in the experimental autoimmune encephalomyelitis-induced Wistar rats. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(6): 6269-86.
19. Umar S, Zargan J, Umar K, Ahmad S, Katiyar CK, Khan HA. Modulation of the oxidative stress and inflammatory cytokine response by thymoquinone in the collagen induced arthritis in Wistar rats. *Chem Biol Interact* 2012; 197(1): 40-6.
20. Draheim T, Liessem A, Scheld M, Wilms F, Weissflog M, Denecke B, et al. Activation of the astrocytic Nrf2/ARE system ameliorates the formation of demyelinating lesions in a multiple sclerosis animal model. *Glia* 2016; 64(12): 2219-30.
21. Morales Pantoja IE, Hu CL, Perrone-Bizzozero NI, Zheng J, Bizzozero OA. Nrf2-dysregulation correlates with reduced synthesis and low glutathione levels in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurochem* 2016; 139(4): 640-50.
22. Murakami S, Motohashi H. Recent advances in elucidating KEAP1-NRF2 functions in hematopoietic/immune cells and leukemic cells. *Rinsho Ketsueki* 2016; 57(10): 1860-8.
23. Butt MS, Sultan MT. *Nigella sativa*: Reduces the risk of various maladies. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010; 50(7): 654-65.

## Investigating the Anti-inflammatory Effect of *Nigella Sativa* in Female Rats with Experimental Allergic Encephalomyelitis

Akbar Karimi<sup>1</sup>, Elham Etemadi<sup>2</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Multiple sclerosis (MS) is a chronic and inflammatory disease of the nervous system, and the progression of the disease is associated with an increase in specific cytokines. Experimental allergic encephalomyelitis is considered as an animal model for MS, and is used to assess the disease process and therapeutic process. According to studies on the benefits of *Nigella sativa*, the aim of this study was to evaluate the anti-inflammatory effect of *Nigella sativa* on female rats with experimental allergic encephalomyelitis.

**Methods:** In this study, 24 adult Lewis female rat (average age of 6 to 8 weeks, weighing 200-220 g) were selected in 4 groups of 6. The control mice received normal saline and the ones with experimental allergic encephalomyelitis received 0/05 cc of hydroalcoholic extract of *Nigella sativa* at doses of 50, 100, and 200 mg/kg body weight every other day as intraperitoneal injection. Symptoms of disease and body weight changes were recorded in daily bases. Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), C-reactive protein (CRP), nitrate, and body weight changes were recorded daily. After the end of the period (15 days), the production of TNF- $\alpha$  and CRP was measured using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and nitrate levels using high-performance liquid chromatography (HPLC). The collected data were analyzed using one-way ANOVA and Duncan tests.

**Findings:** Serum levels of TNF- $\alpha$ , CRP, and nitrate were significantly lower in treatment groups than the control group ( $P < 0.001$ ).

**Conclusion:** Because inflammation plays an important role in the process of MS, the anti-inflammatory, antioxidant, and protective effects of the extract of dandelion (200 mg/kg body weight) reduce inflammatory factors and improve inflammatory status in rats with experimental allergic encephalomyelitis.

**Keywords:** *Nigella sativa*, Anti-Inflammatories, Experimental allergic encephalomyelitis

**Citation:** Karimi A, Etemadi E. **Investigating the Anti-inflammatory Effect of *Nigella Sativa* in Female Rats with Experimental Allergic Encephalomyelitis.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(539): 958-64.

1- Assistant Professor, Department of Biology, School of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran

2- Department of Biology, School of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Elham Etemadi, Email: elham.etmadi@gmail.com



## کلونینگ و بیان آنتاگونیست گیرنده ایترلوکین ۱ نو ترکیب انسانی در سیستم های بیانی Escherichia coli شامل Rosetta (DE3) و Origami (DE3)، B121 (DE3)

هانیه فردگلی<sup>۱</sup>، سید نظام الدین حسینی<sup>۲</sup>، ستاره حقیقت<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** آنتاگونیست گیرنده ایترلوکین ۱ (IL-1RA)، پروتئینی ۱۵۳ آمینواسیدی (با وزن مولکولی ۱۶/۸۳ کیلودالتون) است. این پروتئین دارویی، با نام تجاری آناکینرا شناخته شده است و کاربرد مؤثری در درمان آرتریت روماتوئید دارد. این مطالعه، به منظور بررسی بیان پروتئین نو ترکیب آنتاگونیست گیرنده ایترلوکین ۱ در سویه های باکتری Escherichia coli (E. coli) انجام شد.

**روش ها:** بهینه سازی ژن IL-1 RA با استفاده از GenScript انجام شد و در پلاسمید pUC18 به عنوان وکتور کلونینگ، قرار گرفت. سپس، این پلاسمید با دو آنزیم محدود کننده ی NdeI و BamHI برش خورد. ژن IL-1RA از روی ژل تخلیص شد. ژن IL-1RA به داخل وکتور بیانی وارد شد. سازه ی کاست بیانی به داخل باکتری های E. coli Rosetta و E. coli BL21، E. coli Origami با روش کلرید کلسیم (CaCl<sub>2</sub>) و شوک حرارتی منتقل شد.

**یافته ها:** تشخیص و تأیید کلنی های منتقل شده با Colony polymerase chain reaction (Colony PCR) انجام شد. القای این ژن با به کار گیری Isopropyl β- d-1-thiogalactopyranoside (IPTG) انجام گرفت. بیان پروتئین با استفاده از روش های Western blotting و Sodium dodecyl sulfate-Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) تأیید شد و به وسیله ی رزین نیکل تخلیص گردید. آنالیز بیانی سوش های E. coli ترانسفورم شده تأیید کرد که ورود سازه به داخل وکتور بیانی انجام شده است. وزن مولکولی پروتئین بیان شده، ۱۶/۸۳ کیلو دالتون برآورد شد.

**نتیجه گیری:** در این مطالعه، آنتاگونیست گیرنده ایترلوکین ۱ انسانی در باکتری E. coli Origami با مقادیر بالا نسبت به سویه های دیگر E. coli، به طور موفقیت آمیزی تولید شد. باکتری E. coli Origami می تواند به عنوان میزبان مناسب در تولید IL-1RA نو ترکیب انسانی مورد استفاده قرار گیرد و این فن آوری قابلیت بومی سازی دارد.

**واژگان کلیدی:** آنتاگونیست گیرنده ایترلوکین ۱، نو ترکیبی، Escherichia coli

**ارجاع:** فردگلی هانیه، حسینی سید نظام الدین، حقیقت ستاره. کلونینگ و بیان آنتاگونیست گیرنده ایترلوکین ۱ نو ترکیب انسانی در سیستم های بیانی Escherichia coli شامل Rosetta (DE3) و Origami (DE3)، B121 (DE3). مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۳۹): ۹۶۵-۹۷۲

محصولات درمانی است (۲). از دیگر مزایای تولید محصولات نو ترکیب، ایمن بودن این روش تولید نسبت به استخراج پروتئین از طریق نمونه گیری از مایعات افراد می باشد. شواهد قانع کننده ای وجود دارد که IL-1RA در بهبود علائم و نشانه های آرتریت روماتوئید و آسیب مفصلی نقش حیاتی دارد (۳). IL-1RA، توسط انواع مختلف سلول ها از جمله سلول های ایمنی، سلول های اپی تلیال و آدیپوسیت ها ترشح می شود (۴). فرم نو ترکیب آنتاگونیست گیرنده ایترلوکین ۱

### مقدمه

آنتاگونیست گیرنده ایترلوکین ۱ (IL-1RA)، یک پلی پپتید ۱۵۳ آمینواسیدی با وزن مولکولی ۱۶/۸۳ کیلودالتون می باشد. باز گرداندن تعادل بین IL-1RA و IL-1 با تجویز IL-1RA نو ترکیب خارجی (آنکینرا) یک رویکرد درمانی است که در سال های اخیر مورد بررسی قرار گرفته است (۱). تولید محصولات نو ترکیب، روش مناسبی برای تأمین مقدار پروتئین مورد نیاز برای فروش تجاری

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری نوین، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشیار، گروه واکنش هایاتیت ب نو ترکیب، مجتمع تولیدی و تحقیقاتی انستیتو پاستور ایران، ایران

۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری نوین، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Email: setareh\_haghighat@yahoo.com

نویسنده ی مسؤو: ستاره حقیقت

با استفاده از غربالگری کلونی‌های سفید-آبی، باکتری‌های منتقل شده که تک کلنی سفید رنگ تشکیل داده بودند، با لوپ برداشته و در ۱۰۰ سی‌سی محیط LB agar کشت داده و به مدت ۱۲ ساعت در Shaker انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شدند.

با استفاده از سانتی‌فیوژ، رسوب باکتری تهیه گردید و با کیت استخراج پلاسمید شرکت کیاژن، پلاسمید تکثیر شده، استخراج شد. برای تأیید پلاسمید مورد نظر، بر روی ژل ۱ درصد آگارز برده و الکتروفورز انجام شد. با اندازه‌گیری (Optical density) (OD)، غلظت پلاسمید استخراجی به دست آمده، ۳۵ نانوگرم/میکرولیتر بود.

**مضم آنزیمی وکتور کلونینگ pUC18 و وکتور بیان:** به منظور جداسازی ژن موتانت آنتاگونیست گیرنده‌ی اینترلوکین ۱ نوترکیب انسانی از وکتور کلونینگ pUC18، از دو آنزیم محدود کننده‌ی BamHI-HF و NdeI استفاده شد. سپس، برای استخراج ژن برش خورده، بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز انجام شد و با استفاده از کیت استخراج ژل شرکت کیاژن، ژن مورد نظر خالص‌سازی گردید. غلظت ژن به دست آمده، ۱۴ نانوگرم/میکرولیتر بود. وکتور بیانی pET28a نیز با این دو آنزیم برش خورد تا برای لیگاسیون ژن، آماده باشد. با نسبت مولار ۳:۱، مقدار ۳۰ میکروگرم وکتور بیانی با میزان ۱/۲۷ میکروگرم ژن و ۵ میکرولیتر آنزیم T4 DNA Ligase برای لیگاسیون، مورد استفاده قرار گرفت.

**تأیید لیگاسیون موتانت آنتاگونیست گیرنده‌ی اینترلوکین ۱ نوترکیب انسانی در وکتور pET28a:** شناسایی و آنالیز کلونی‌های مثبت حاوی سازه‌ی ژنی با استفاده از روش Colony polymerase chain reaction (Colony PCR) انجام شد. جفت پرایمرهای مربوط به وکتور pET28a بدین صورت بودند:

T7 promoter: 5TAATACGACTCACTATAGGG3,

T7 terminator: 5GCTAGTTATTGCTCAGCGG3

برای این کار ابتدا کلنی با قطر حداقل ۱ میلی‌متر از پلیت آگار با خلال دندان استریل برداشته شد. سپس، باکتری به یک تیوب ۵/۰ سی‌سی حاوی ۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل انتقال داده و سپس، ترکیب شد تا سلول‌ها پخش گردند. لوله در Head block در ۹۹ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه قرار داده شد تا سلول‌ها تجزیه شوند. آن گاه، به مدت ۱ دقیقه، با دور ۱۲۰۰۰ سانتی‌فیوژ گردید تا سلول‌های شکسته شده، برداشته شود. سپس، ۱۰ میکرولیتر از سوپرناتانت به یک تیوب ۵/۰ سی‌سی انتقال داده شد.

برای انجام PCR، ۱ میکرولیتر Deoxynucleoside triphosphate (dNTP) mix (۱۰ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر upstream primer و ۱ میکرولیتر downstream primer هر دو با غلظت

به نام آناکینرا در درمان آرتریت روماتوئید مؤثر است؛ این بیماری، یک بیماری خودایمنی است که IL-1 نقش کلیدی در آن ایفا می‌کند (۵). به علت بازده فراوان روش DNA نوترکیب، تولید تجاری بسیاری از پپتیدها و پروتئین‌ها به این روش در سلول‌های باکتری صورت می‌پذیرد (۶).

باکتری مورد نظر که برای کلونینگ و بیان مورد استفاده قرار می‌گیرد، سوش‌های Escherichia coli (E. coli) می‌باشد. سیستم بیانی E. coli، دارای مزایای فراوانی نظیر کنترل ساده‌ی بیان ژن، بازده بالای تولید پروتئین نوترکیب (تا ۵۰ درصد کل پروتئین‌های سلول)، دارا بودن وکتورهای کلونینگ گوناگون و ساده بودن کشت می‌باشد (۷). هدف اصلی پژوهشگران در مطالعه‌ی حاضر، انتخاب سویه‌ی مناسب E. coli برای تولید بالای IL-IRA می‌باشد. در این مطالعه، از میزبان‌های بیانی E. coli برای تولید موتانت آنتاگونیست گیرنده‌ی اینترلوکین ۱ نوترکیب انسانی (۸) و تخلیص پروتئین مورد نظر استفاده شد.

### روش‌ها

وکتور کلونینگ pUC18 به همراه ژن IL-IRA، از شرکت GeneScript امریکا تهیه شد. وکتور بیانی pET28a از انستیتو پاستور ایران، آنتی‌بادی آنتی‌هیسی horseradish peroxidase (HRP) از شرکت Sigma امریکا، آنزیم‌های محدود کننده‌ی BamHI-HF، NdeI و آنزیم T4 DNA Ligase از شرکت Biolab انگلستان خریداری شدند. کیت استخراج پلاسمید و استخراج ژل از شرکت کیاژن آلمان تهیه شدند.

**طراحی و سنتز ژن:** به منظور همسان‌سازی الگوی استفاده از کدون بین توالی پروتئین مورد نظر و میزبان بیانی انتخاب شد و همچنین، به منظور افزایش بیان ژن، بهینه‌سازی کدون توسط شرکت GeneScript انجام شد. سپس، این ژن به داخل پلاسمید کلونینگ pUC18 ساب کلون شد. سنتز ژن نیز توسط شرکت GeneScript انجام شد.

**کلونینگ سازه‌ی بیانی موتانت آنتاگونیست گیرنده‌ی اینترلوکین ۱ نوترکیب انسانی:** در ابتدا، سازه‌ی کلونینگ IL-IRA-pUC18 به منظور تکثیر پلاسمید، به داخل باکتری کلونینگ مستعد E. coli DH5 $\alpha$  منتقل شد. پس از انتقال، باکتری‌ها در محیط Luria-Bertani agar (LB agar) حاوی 5-bromo-4-(IPTG) Isopropyl  $\beta$ -d-1-thiogalactopyranoside (X-Gal) chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-galactopyranoside و آمپی‌سیلین با غلظت نهایی ۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر کشت و به مدت ۱۶ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن،

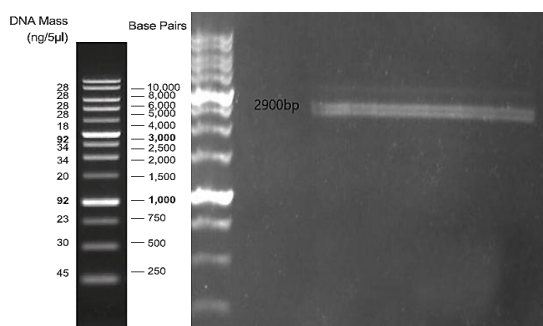
شد. SDS-PAGE بر روی ژل پلی آکریل آمید ۲۰ درصد انجام شد و نمونه‌ها با برموفنول بلو، رنگ آمیزی شدند. Western blotting مطابق با دستورالعمل Sigma با استفاده از آنتی بادی آنتی هیس HRP انجام شد.

**تخلیص پروتئین به روش رزین نیکل:** رزین خریداری شده از Genabioscience آماده شد و ابتدا مواد رویی از رزین با سانتیفریوژ جدا گردید. ستون با بافر Binding buffer (حاوی  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ۵۰ میلی مولار، کلرید کلسیم ۳۰۰ میلی مولار و Imidazol ۱۰ میلی مولار با  $\text{pH} = 8$ ) متعادل سازی شد. پس از آن، نمونه‌ی باکتری بر روی رزین ریخته و بعد از آن، رزین شستشو داده شد ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ۵۰ میلی مولار، کلرید کلسیم ۳۰۰ میلی مولار و Imidazol ۲۰ میلی مولار با  $\text{pH} = 8$ ) و سپس، با استفاده از بافر Elution ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ۵۰ میلی مولار، کلرید کلسیم ۳۰۰ میلی مولار و Imidazol ۲۵۰ میلی مولار با  $\text{pH} = 8$ )، پروتئین هیس تگ استخراج شده به دست آمد.

به منظور ارزیابی تولید پروتئین به روش Bradford، ۱۰۰ لاندا از نمونه به ۵ میلی لیتر معرف Bradford اضافه شد و جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. برای کنترل نیز ۱۰۰ لاندا آب مقطر به طور جداگانه به ۵ میلی لیتر معرف Bradford اضافه شد. برای تهیه‌ی منحنی استاندارد، از غلظت‌های مختلف آلبومین سرم گاوی (Bovine serum albumin یا BSA) کیت استفاده شد. برای نمونه شاهد منفی نیز ۵ میلی لیتر از محلول Bradford همراه با ۱۰۰ لاندا آب مقطر ترکیب شد.

### یافته‌ها

برای تأیید تکثیر پلاسمید در باکتری E. coli DH5 $\alpha$  محصول مورد نظر بر روی ژل ۱ درصد آگارز، الکتروفورز گردید. نتایج الکتروفورز در شکل ۱ قابل مشاهده است.



شکل ۱. الکتروفورز استخراج پلاسمید. همان‌طور که مشاهده می‌گردد، باندی با وزن ۲۹۰۰ جفت‌باز دیده می‌شود که نشان از حضور pUC18 می‌باشد و ژن IL1-RA در داخل آن ساب کلون شده است.

۵ پیکومول/میکرولیتر، ۵ میکرولیتر 10x buffer به همراه کلرید منیزیم ( $\text{MgCl}_2$ ) و ۳۰/۲۵ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز استفاده گردید. پس از انجام Colony PCR، محصول به دست آمده الکتروفورز گردید و باند مربوط به تکثیر ژنی مرتبط بین این دو پرایمر شناسایی شد.

### انتقال وکتور بیانی pET28a به داخل سیستم بیانی

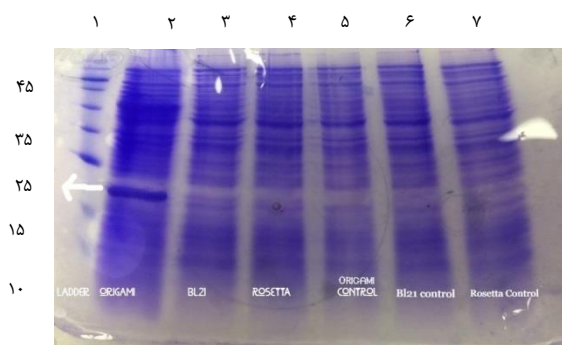
*Escherichia coli* شامل (*DE3*), *BL21 (DE3)* و *Origami (DE3)* و *Rosetta (DE3)* و بیان موتانت آتاگونست گیرنده‌ی اینترلوکین ۱ نوترکیب انسانی: وکتور بیانی حامل ژن مورد نظر به داخل باکتری‌های بیانی *E. coli* BL21(*DE3*)، *Origami* و *Rosetta* منتقل شد. سپس، بر روی محیط کشت LB Agar کشت داده و به مدت ۶ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. آن گاه، تک کلنی از روی کلنی‌های ایجاد شده بر روی محیط برداشته و در ۱۰۰ سی سی محیط LB agar آنتی‌بیوتیک کانامایسین با غلظت نهایی ۲۵ میکروگرم/میلی لیتر کشت داده و در Shaker انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن که OD آن پس از ۱۶ ساعت به عدد ۰/۴ رسید، از ۱ میلی مولار IPTG، برای القای پروتئین استفاده و به محیط کشت اضافه شد و بار دیگر، به مدت ۵-۶ ساعت در Shaker انکوباتور قرار داده شد تا بیان پروتئین به طور کامل انجام گردد. بیان پروتئین به صورت اینکلوزن بادی در داخل سیتوپلاسم باکتری انجام شد. سپس، کل محیط با شتاب ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتیفریوژ شد.

شکستن سلول باکتری و تجزیه کردن سلول: رسوب حاصل، به مقدار ۰/۲ گرم به دست آمد. سپس، در ۴۰۰ سی سی Dithiothreitol (DTT) حل گردید و با استفاده از دستگاه هموژنایزر شرکت SOAVI، رسوب حل شده ۴ مرتبه با فشار ۱۲۰ بار (Bar) شکسته شد. پس از شکستن، محلول با شتاب ۱۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتیفریوژ گردید و بار دیگر، رسوب حاصل وزن شد و مقدار ۰/۱ گرم به دست آمد. سپس، رسوب مورد نظر در Wash buffer حل گردید که حاوی ۵۰ میلی مولار، Triton x100، Trisaminomethane (Tris) ۵۰ میلی مولار و Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) ۵ میلی مولار و Dithiothreitol (DTT) ۱ میلی مولار بود. محصول به دست آمده به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید و پس از آن، محلول با شتاب ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتیفریوژ شد. رسوب نهایی در ۱۰۰ میکرولیتر Water for injection (WFI) حل شد.

### آنالیز بیان پروتئین نوترکیب: بیان ژن در سوش‌های القا شده با

استفاده از دو روش SDS-PAGE و Western blotting بررسی

پس از تأیید لیگاسیون ژن مورد نظر در وکتور بیانی pET28a بیان پروتئین نوترکیب صورت گرفت. همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است، باندی با وزن ۱۶/۸۳ کیلودالتون دیده شد که نشان دهنده‌ی بیان پروتئین نوترکیب است و در سیستم بیانی *E. coli* Origami بیشترین میزان بیان مشاهده گردید. نتیجه‌ی Western blotting نیز در شکل ۵ آمده است.



شکل ۴. طرح الکتروفورزی - Sodium dodecyl sulfate- (SDS-PAGE) Polyacrylamide gel electrophoresis

موتانت آنتاگونیست گیرنده‌ی اینترلوکین ۱ نوترکیب انسانی القا شده در

#### *E. coli* BL21

چاهک ۱: پروتئین لدر (کیلودالتون)، چاهک‌های ۲، ۳، ۴: پس از القای

، Isopropyl  $\beta$ - d-1-thiogalactopyranoside (IPTG)

چاهک‌های ۵، ۶ و ۷: شاهد منفی

پروتئین بیان شده در سیستم بیانی *E. coli* Origami، پس از تخلیص با رزین نیکل، بر روی ژل SDS-PAGE برده شد و پروتئین خالص شده مشاهده گردید. شکل ۶، نتیجه‌ی آزمایش تخلیص پروتئین نوترکیب با رزین نیکل را نشان می‌دهد.



شکل ۵. نتیجه‌ی Western blotting تأییدکننده‌ی تولید پروتئین IL-IRA

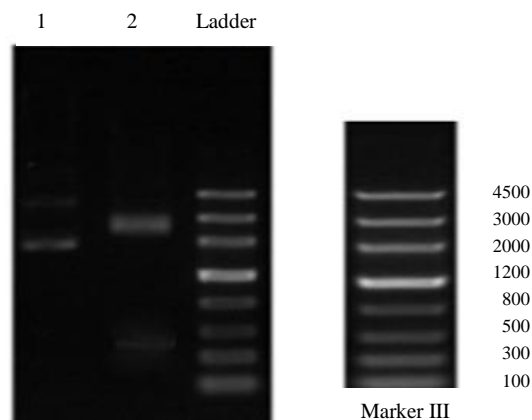
چاهک ۱: باند نشانگر پروتئین شرکت Sigma، چاهک ۲: *E. coli* BL21

چاهک ۳: *E. coli* Rosetta، چاهک ۴: *E. coli* Origami (مقدار ۳۰ میکرولیتر)،

چاهک ۵: باکتری منتقل شده بدون القای - Isopropyl  $\beta$ - d-1-

thiogalactopyranoside (IPTG)

هضم آنزیمی بر روی پلاسمید pUC18 با دو آنزیم محدود کننده‌ی BamHI-HF و NdeI انجام گرفت و ژن مورد نظر در ناحیه‌ی ۴۵۹ جفت‌بازی به وسیله‌ی الکتروفورز با ژل آگارز ۱ درصد مشاهده گردید. در شکل ۲، این ژن جداسازی شده، قابل مشاهده است.



Lnae M: Mrker III  
Lane 1: 419493-6 plasmid  
Lane 2: 419493-6 plasmid digested by NdeI and BamHI

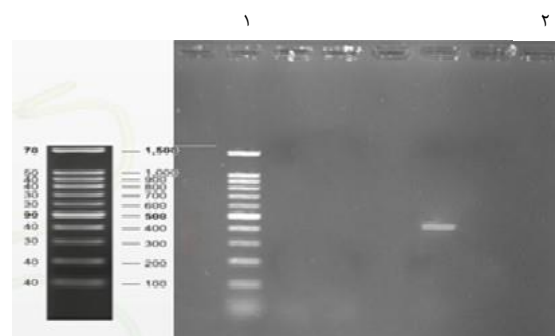
شکل ۲. هضم آنزیمی پلاسمید pUC18 با آنزیم‌های NdeI و

BamHI-HF بر روی ژل آگارز ۱ درصد.

چاهک M: نشانگر DNA، چاهک ۱: نمونه‌ی پلاسمید حلقوی دو رشته‌ای برش

نخورده، چاهک ۲: پلاسمید هضم شده‌ی pUC18

از ۳ چاهک موجود در ژل الکتروفورز، در چاهک دوم، ژن IL-IRA هضم شده از پلاسمید کلونینگ pUC18 مشاهده می‌گردد. به منظور تأیید لیگاسیون ژن در داخل وکتور بیانی pET28a، Colony PCR انجام داده شد که نتیجه‌ی آن بر روی ژل الکتروفورز در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۳. Colony polymerase chain reaction

(Colony PCR) توالی IL-IRA داخل وکتور بیانی pET28a

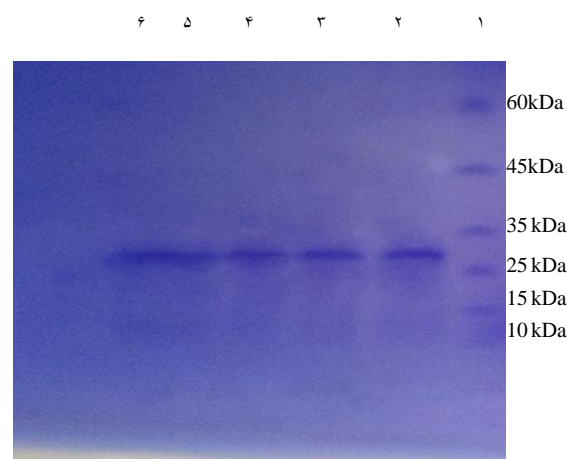
چاهک ۱: DNA Ladder، چاهک ۲: توالی IL-IRA و توالی بین دو ناحیه‌ی

پرایمر با وزن ۴۵۹ جفت‌باز

که میزان بیان پروتئین با پیوند دی سولفیدی، بالاتر می باشد (۹). بیان پروتئین به صورت اینکلوژن بادی (تجمعات داخل سیتوپلاسمی) مزایایی دارد. به عنوان مثال، مقدار بیان پروتئین، بالا می باشد و پروتئین از تجزیه ی پروتئولیتیک آنزیم ها در امان می ماند. مشکل اصلی آن، این است که برای محلول کردن پروتئین، راه پیچیده و طولانی وجود دارد. در این مطالعه، چنین نتیجه گیری شد که فرم بهینه سازی شده ی این پروتئین در سیستم های بیانی باکتری *E. coli* بیان شود.

سیستم بیانی *E. coli* دارای مزایای فراوانی است؛ از جمله این که کنترل بیان ژن ساده است، بازده پروتئین نو ترکیب بالا (تا ۵۰ درصد کل پروتئین های سلول) و نیز کشت آن ساده می باشد (۱۰). در این مطالعه، ابتدا از باکتری *E. coli* DH5 $\alpha$  به عنوان میزبان کلونینگ و سپس، جهت بیان پروتئین از وکتور بیانی pET28a استفاده شد. قدرتمندترین سیستمی که تا کنون به منظور کلونینگ و بیان پروتئین های نو ترکیب در *E. coli* طراحی شده است، سیستم pET می باشد که به وسیله ی کمپانی نواژن تولید شده است (۱۲-۱۱). باکتری *E. coli* Rosetta، *E. coli* Origami و *E. coli* BL21 (DE3) دارای ژن T7 در داخل کروموزوم خود می باشند و همچنین، نقص در پروتئازهای Lon و OmpT دارند. این باکتری ها لیزوژن باکتریوفاژ DE3 (یکی از مشتقات فاز لامبدا) هستند (۱۳).

پلاسمید بیانی مورد استفاده در این مطالعه، pET28a بود که دارای ویژگی های مهمی نظیر پروموتور قدرتمند T7 برای تولید بیشترین پروتئین، توالی His-tag در انتهای کربوکسیلی برای تسهیل خالص سازی پروتئین هدف و ژن مقاومت به کانامایسین برای غربالگری آسان است. تاکنون، از سیستم های بیانی مختلفی نظیر مخمر (۱۴) استفاده شده است؛ اما سیستم بیانی *E. coli* (DE3) دارای ویژگی هایی از جمله بازدهی بالای پروتئین و رشد باکتری بر روی محیط های کشت ارزان و ساده می باشد. همچنین، از آن جایی که فرم نو ترکیب آنتاگونیست گیرنده ی اینترلوکین ۱ غیر گلیکوزیله می باشد، نیازی به سیستم بیانی مخمر و یا سلول پستانداران ندارد. با توجه به نتایج به دست آمده از بیان این پروتئین در باکتری، تفاوت محسوسی در بیان این پروتئین در سوش *E. coli* Origami نسبت به دو سوش دیگر مشاهده گردید. از آن جایی که بیشتر به صورت تجاری بر روی این پروتئین کار شده است و اطلاعات اندکی از آن موجود می باشد، بر روی مطالعات انجام شده در این زمینه، بحث می شود. در مطالعه های میزان بیان پروتئین با افزایش روبرو شد (۱۵). محققین در شرایط مختلف محیطی و همچنین، غلظت های مختلف IPTG و زمان های معین، میزان بیان را مشخص کردند. آن ها دریافتند که اگر القای باکتری با غلظت IPTG معادل ۱ میلی مولار و یک



شکل ۶. نتیجه ی Sodium dodecyl sulfate-Polyacrylamide gel

#### electrophoresis (SDS-PAGE) تأیید کننده ی تولید پروتئین

#### IL-IRA بعد از تخلیص با رزین نیکل

چاهک ۱: پروتئین Ladder، چاهک های ۲ و ۳: پروتئین تخلیص شده از سوش *E. coli* Origami، چاهک ۴: پروتئین تخلیص شده از سوش *E. coli* Rosetta، چاهک ۵: پروتئین تخلیص شده از سوش *E. coli* BL21 و چاهک ۶: شاهد

سپس، غلظت پروتئین بیانی در سه سوش انتخابی، اندازه گیری شد. مقدار پروتئین بیان شده در باکتری های *E. coli* BL21 و *E. coli* Origami به ترتیب، ۰/۱۰، ۰/۰۲ و ۰/۵۰ میلی گرم/میلی لیتر بود.

#### بحث

یافته های مطالعه حاکی از آن است که با مقایسه ی سه سویه ی رایج جهت بیان پروتئین، مقدار قابل توجهی از IL-IRA نو ترکیب، از باکتری *E. coli* Origami (DE3) به صورت خالص شده به دست آمده است. در این مطالعه، جهت فرایند تولید و بومی سازی این پروتئین، تا مرحله ی بیان و تخلیص این پروتئین اقدام شد و با توجه به اهمیت این پروتئین در بیماران نیازمند، تولید آن می تواند پیشرفت خوبی در زمینه ی تولید پروتئین های نو ترکیب درمانی به شمار آید. پروتئین های نو ترکیبی که در سیتوپلاسم باکتری تولید می شوند، به دلیل میزان رشد بالا در کنار افزایش میزان پروتئین تولید شده، منجر به تجمع پروتئین در سیتوپلاسم باکتری (اینکلوژن بادی) می گردد. در این مطالعه، در خصوص مقایسه ی سوش باکتریایی انتخابی برای بیان بالاتر پروتئین آنتاگونیست گیرنده ی اینترلوکین ۱، باکتری *E. coli* Origami (DE3) به عنوان سوش مناسب برای بیان بالای پروتئین در نظر گرفته شد و این یافته، می تواند به علت جهش آنزیم های تیوردوکسین ردوکتاز و گلوکاتایون ردوکتاز باشد که ایجاد باندهای دی سولفیدی را تسهیل می کند و در مطالعات دیده شده است

پروتئین دارند، بررسی انجام نگرفته است (۹).

بیان این پروتئین در سیستم‌های *E. coli* به علت عدم توانایی در اعمال تغییرات پس از ترجمه، با محدودیت‌هایی نظیر تشکیل باند دی‌سولفیدی مواجه می‌شود که در این حالت، می‌توان از ارگانایسم‌هایی نظیر مخمر و یا Chinese hamster ovary (CHO) استفاده کرد اما با توجه به این که کار با این دو نوع ارگانایسم بسیار هزینه‌بر است و همچنین، بیان بسیار پایین پروتئین، تصمیم گرفته شد که از سیستم بیانی باکتری *E. coli* استفاده شود تا بتوان به مقادیر بالای پروتئین دست یافت. به دلیل این که این پروتئین دارای باندهای دی‌سولفیدی می‌باشد، و باکتری *E. coli Origami* توانایی تشکیل باندهای دی‌سولفیدی را دارد، بیان این پروتئین در باکتری افزایش می‌یابد و تمام مراحل خالص‌سازی پروتئین با این باکتری، پیش رفت. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که باکتری *E. coli Origami* سوش مناسبی برای تولید بالای پروتئین نوترکیب آنتاگونیست گیرنده‌ی ایترلوکین ۱ می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی میکروبیولوژی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران پزشکی بوده است. بدین وسیله از تمام کسانی که در اجرای این مطالعه همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

شبانروز، در *Shaker* انکوباتور قرار گیرد، بیشترین میزان بیان را به دست می‌آورد. در واقع، این مطالعه، به دنبال بهینه‌سازی پروتئین در سویه‌ی مشخص باکتری انجام شد و عوامل مؤثر در میزان بیان پروتئین بررسی گردید، اما در مطالعه‌ی حاضر، به دنبال انتخاب سویه‌ی مناسب برای افزایش بیان پروتئین با توجه به ویژگی‌های باکتریایی بودیم.

*Birikh* و همکاران، مقاله‌ای در خصوص بیان IL-IRA به چاپ رساندند. در این مطالعه، از وکتور بیانی pGMCE و همچنین، دست‌کاری ژنتیکی ناحیه‌ی شروع ترجمه، به منظور افزایش بیان ژن استفاده کردند (۱۶). آن‌ها متوجه شدند که با دست‌کاری وکتور بیانی، می‌توان بیان پروتئین را بالا برد، اما بر روی باکتری بیانی مطالعه‌ای انجام نشد. در مطالعه‌ای در خصوص بیان با مقدار بالا، سیستم بیانی *E. coli* به عنوان سوش بیانی مورد استفاده قرار گرفت. در این مطالعه، به مقدار ۰/۴۳ گرم/لیتر محیط کشت باکتریایی به دست آوردند. این مقدار، با توجه به آن که در فرمانتور تولید شده بود، بسیار کم بود و این می‌تواند به دلیل عدم بهینه‌سازی سیستم بیانی باکتری *E. coli* باشد (۱۷).

در مطالعه‌ی دیگری، از باکتری *E. coli BL21 (DE3)* استفاده شد. در این تحقیق، ارتباط بین زمان القا و میزان بیان پروتئین بررسی و مشاهده شد که بعد از یک شبانه‌روز، بیان این پروتئین بالاتر بوده است، اما بر روی سوش‌های باکتریایی که نقش به‌سزایی در بیان

### References

- Wood DD, Ihrie EJ, Dinarello CA, Cohen PL. Isolation of an interleukin-1-like factor from human joint effusions. *Arthritis Rheum* 1983; 26(8): 975-83.
- Schulz MF, Buell G, Schmid E, Movva R, Selzer G. Increased expression in *Escherichia coli* of a synthetic gene encoding human somatomedin C after gene duplication and fusion. *J Bacteriol* 1987; 169(12): 5385-92.
- Carter DB, Deibel MR, Jr., Dunn CJ, Tomich CS, Laborde AL, Slightom JL, et al. Purification, cloning, expression and biological characterization of an interleukin-1 receptor antagonist protein. *Nature* 1990; 344(6267): 633-8.
- Perrier S, Darakhshan F, Hajduch E. IL-1 receptor antagonist in metabolic diseases: Dr Jekyll or Mr Hyde? *FEBS Lett* 2006; 580(27): 6289-94.
- Arend WP. Cytokine imbalance in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: the role of interleukin-1 receptor antagonist. *Semin Arthritis Rheum* 2001; 30(5 Suppl 2): 1-6.
- Chen Z, Chen H, Wang X, Ma X, Huang B. Expression, purification, and characterization of secreted recombinant human insulin-like growth factor-binding protein-6 in methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *Protein Expr Purif* 2007; 52(2): 239-48.
- Kim SO, Lee YI. High-level expression and simple purification of recombinant human insulin-like growth factor I. *J Biotechnol* 1996; 48(1-2): 97-105.
- Khuzaima I, Iftikhar K, Tabarruk U, Sadia H, Akhtar H, Shami K. Studying the pharmacokinetics of interleukin-IRA mutants. *BioScientific Review* 2019; 1(1): 17-23.
- Brinkmann U, Mattes RE, Buckel P. High-level expression of recombinant genes in *Escherichia coli* is dependent on the availability of the *dnaY* gene product. *Gene* 1989; 85(1): 109-14.
- Al-Hejin A, Bora R, Ahmed M. Plasmids for optimizing expression of recombinant proteins in *E. coli*. In: Gull M, editor. *Plasmid*. London, UK: IntechOpen; 2019.
- Studier FW. Improved cloning and expression vectors and systems (WO2017139412A1) [Google Patents]. 2017.
- Miller MG, Chng C, Alvizo O, Mayo MA, Riggins JN, Yi X, et al. T7 ma polymerase variants. Redwood City, CA; US20190002851. 2019.
- Ranjbari J. Engineered recombinant protein production systems originated from *Escherichia coli*. *Trends in Peptide and Protein Sciences* 2018; 3: e2.
- Buryškova M, Pospisek M, Grothey A, Simmet T,

- Burysek L. Intracellular interleukin-1alpha functionally interacts with histone acetyltransferase complexes. *J Biol Chem* 2004; 279(6): 4017-26.
15. Wang YX, Yang ZX, Zhu HQ, Zhou XW, Huang PT. Construction, expression and preliminary pharmacokinetic analysis of IL-1ra mutants. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao* 2006; 22(3): 472-6. [In Chinese].
16. Birikh KR, Lebedenko EN, Boni IV, Berlin YA. A high-level prokaryotic expression system: Synthesis of human interleukin 1 alpha and its receptor antagonist. *Gene* 1995; 164(2): 341-5.
17. Zanette D, Dundon W, Soffientini A, Sottani C, Marinelli F, Akeson A, et al. Human IL-1 receptor antagonist from *Escherichia coli*: Large-scale microbial growth and protein purification. *J Biotechnol* 1998; 64(2-3): 187-96.

## Cloning and Expression of Recombinant Human Interleukin 1 Receptor Antagonist in Escherichia Coli Strains, BL21 (DE3), Rosetta (DE3), and Origami (DE3)

Hanieh Fardgoli<sup>1</sup>, Seyed Nezameddin Hoseini<sup>2</sup>, Setareh Haghghat<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Recombinant human interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RA) is a protein with 153 amino acids and molecular weight of 16.83 kDa. This drug protein is known as Anakinra, and has an effective application in the treatment of rheumatoid arthritis. This study was conducted to examine the produce of the recombinant IL-1RA protein in Escherichia coli (E. coli) strains.

**Methods:** Codon optimization of IL-1RA gene was done using GenScript, and the gene was cloned in the pUC18 as cloning vector. Then, plasmid was cut by two restriction enzymes including NdeI and BamHI enzymes. IL-1RA gene was purified from the agarose gel. IL-1RA gene was ligated into expression vector. The constructed expression cassette was transformed into E. coli BL21 (DE3) Origami (DE3) and Rosetta (DE3) using CaCl<sub>2</sub> and heat shock method.

**Findings:** Identification and confirmation of transformed colonies was performed using colony polymerase chain reaction (PCR). Induction of this gene was done with isopropyl β- d-1-thiogalactopyranoside (IPTG). The protein expression was analyzed using sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and western blotting techniques, and it purified by Ni nickel resin. Expression analysis of transformed E. coli strains confirmed that gene integrated into expression host. Molecular weight of expressed protein was estimated to be 16.83 kDa.

**Conclusion:** In this study, Human IL-1RA was successfully produced in E. coli Origami with high quantity other than the rest of E. coli strains. Therefore, E. coli BL21 Origami (DE3) can be used as the suitable host for production of recombinant IL-1RA, and this technology has a potential for localization.

**Keywords:** Interleukin 1 receptor antagonist protein, Recombination, Escherichia coli

**Citation:** Fardgoli H, Hoseini SN, Haghghat S. Cloning and Expression of Recombinant Human Interleukin 1 Receptor Antagonist in Escherichia Coli Strains, BL21 (DE3), Rosetta (DE3), and Origami (DE3). J Isfahan Med Sch 2019; 37(539): 965-72.

1- MSc Student, Department of Microbiology, School of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Associate Professor, Department of Recombinant Hepatitis B Vaccine, Production and Research Complex, Pasteur Institute of Iran, Iran

3- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Setareh Haghghat, Email: setareh\_haghghat@yahoo.com



## تأثیر چهارده هفته تمرین استقامتی و تزریق نانوذره نقره در دوران بارداری بر سطح تروپونین T سرمی مادر و شاخص هیستوپاتولوژیک قلب جنین موش سوری

مریم قاسمی همای<sup>۱</sup>، غلامرضا شریفی<sup>۲</sup>، فرزانه تقیان<sup>۳</sup>، مهرداد مدرس<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** با توجه به شیوع بیماری‌های قلبی مادرزادی، مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی تأثیر تمرین استقامتی و تزریق نانوذره نقره در دوران بارداری بر سطح تروپونین T سرمی مادر و شاخص هیستوپاتولوژیک جنین موش سوری انجام شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه‌ی تجربی، ۴۰ سر موش سوری ماده با میانگین وزنی  $30 \pm 5$  گرم به طور تصادفی در چهار گروه ۱۰ تایی (تمرین استقامتی، تزریق نانوذره نقره، تمرین استقامتی همراه تزریق نانوذره نقره و شاهد) قرار گرفتند. گروه تمرین استقامتی، قبل از بارداری به مدت ۱۱ هفته و هر هفته، ۵ جلسه تمرین با شدت ۳۰-۶۵ درصد بیشینه‌ی توان، بین ۵۰-۵ دقیقه به دویدن روی تردمیل پرداختند. سپس، بارداری انجام و سه هفته‌ی دیگر، موش‌های باردار با شدت ۲۰-۶۰ درصد بیشینه‌ی توان روی تردمیل دویدند. گروه دوم، از روز دوم بارداری به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدنشان به صورت درون صفاقی، نانوذره نقره را دریافت نمودند. گروه سوم، تمرین و تزریق را همانند دو گروه دیگر دریافت کردند. گروه شاهد فعالیت‌ی نداشتند. در روز نوزدهم بارداری، خون‌گیری از مادر انجام و میزان تروپونین T سرمی خون مادر، اندازه‌گیری شد و برای ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژی، قلب جنین استخراج و به روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شد.

**یافته‌ها:** سطح تروپونین T در گروه‌های تجربی کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). در گروه نانوذره نقره و گروه تمرین استقامتی، اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد دیده شد. کمترین میزان آسیب بافتی قلب جنین در گروه تمرین استقامتی و بیشترین میزان آسیب در گروه شاهد وجود داشت.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج این مطالعه، تمرین استقامتی باعث کاهش سطح تروپونین T سرمی و کمترین میزان آسیب بافتی قلب جنین موش سوری می‌شود. همچنین، نانوذره نقره، باعث کاهش تروپونین و آسیب بافت قلبی جنین موش سوری می‌شود.

**واژگان کلیدی:** تمرین استقامتی، نانوذره نقره، تروپونین T، هیستوپاتولوژی، جنین

**ارجاع:** قاسمی همای، شریفی غلامرضا، تقیان فرزانه، مدرس مهرداد. تأثیر چهارده هفته تمرین استقامتی و تزریق نانوذره نقره در دوران بارداری بر سطح تروپونین T سرمی مادر و شاخص هیستوپاتولوژیک قلب جنین موش سوری. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۳۹): ۹۸۱-۹۷۳

### مقدمه

طوری که از هر ۱۰۰۰ جنین، حدود ۱۲ نفر آن‌ها به نقص مادرزادی قلبی مبتلا می‌باشند (۲).

قلب، یکی از مهم‌ترین دستگاه‌های بدن جنین است. تشکیل این عضو، تحت تأثیر عوامل محیطی مانند آب و هوا، تغذیه و فعالیت روزانه‌ی مادر می‌باشد (۳). از مواردی که تشکیل قلب جنین را تهدید می‌کند، افزایش آلاینده‌ها، ذرات معلق در هوا و مواد آرایشی است که مادر استفاده می‌کند (۴). نتایج مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد

دوران بارداری، دوران خاصی از زندگی یک زن به شمار می‌رود؛ چرا که سلامتی و بهداشت مادر در این دوران، موجب تولد نوزاد سالم می‌شود (۱). از جمله مشکلات بارداری، افزایش فشار خون و دیابت است که در نهایت، منجر به بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شود. در حال حاضر، تعداد بیماران مبتلا به مشکلات قلبی در طول دوره‌ی حاملگی و همچنین، نقص مادرزادی قلبی در حال افزایش می‌باشد؛ به

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤو: غلامرضا شریفی

Email: gre\_sharifi@yahoo.com

شرایط محیطی نظیر کالری دریافتی، نوع آن، فعالیت بدنی مادر و محیطی که مادر در آن فعالیت می‌کند، بستگی دارد (۱۵). همچنین، فعالیت‌های جسمانی از طریق افزایش حجم پلاسماي مادر و جنین و برون‌ده قلبی و افزایش جریان خون رحمی - جفتی - جنینی، می‌تواند بر رشد دستگاه‌های جنین مؤثر باشد (۱۶).

امروزه، با شناسایی نشانگرهای زیستی جدید که نشانگر آسیب عروقی، نکروز بافتی و التهاب هستند، می‌توان از آسیب‌های شدید قلبی جلوگیری کرد. در مطالعه‌ی انجام شده توسط کاردیولوژیست‌های امریکا، نشان داده شد که وضعیت بیماری‌های قلبی در زنان باردار روی سلامت جنین آن‌ها تأثیرگذار است (۱۷).

بهترین نشانگر زیستی برای آسیب‌های قلب در بزرگسالان، تروپونین قلبی (I یا T) است که دارای ویژگی به طور تقریبی مطلق برای بافت قلب و حساسیت بالا حتی در مناطق میکروسکوپی نکروز قلب است (۱۸). مجموعه‌ی تروپونین، شامل سه زیر واحد تروپونین است؛ تروپونین T که به تروپومیزین متصل می‌شود و به انقباض عضله‌ی قلب کمک می‌کند، تروپونین I که به آکتین متصل می‌شود و تروپونین C که به یون‌های کلسیم پیوند می‌دهد. تروپونین‌های قلبی (I یا T)، به علت آسیب سلول‌های قلب ایجاد می‌شوند و حساسیت خاصی به آسیب میوکارد دارند. از آن جای که تروپونین I از گردش خون سریع‌تر از تروپونین T پاک‌سازی می‌شود، بنابراین به عنوان یک نشانگر زیستی برای آسیب‌های قلبی کمتر مورد پژوهش قرار می‌گیرد (۱۹).

این شاخص، به دنبال فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز طولانی مدت در نمونه‌های انسانی و حیوانی مانند مقادیر سرمی این شاخص پس از سکته‌های قلبی، افزایش می‌یابد (۲۰). اگر چه ساز و کارهای دخیل در رهايش تروپونین T قلبی به سرم پس از فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز طولانی مدت به طور دقیق مشخص نیستند، اما بدون شک، یکی از عوامل اصلی این رخداد، بروز فشار اکسایشی ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژنی بیش از ظرفیت دفاع ضد اکسایشی سلول‌های عضلانی قلب به دلیل افزایش جریان خون قلب (بیش از ۴ برابر وضعیت استراحت)، افزایش استخراج اکسیژن سلول‌های قلبی از مویرگ‌ها، هیپوکسی، کاهش منابع گلیکوزن، تغییرات درجه‌ی حرارت و pH و در انتها، بر هم خوردن هومئوستاز یون کلسیم سلول‌های قلبی می‌باشد (۲۱).

بنابراین، جهت درک بهتر تأثیر فعالیت‌های بدنی بلند مدت و قرار گرفتن مادر در معرض نانوذره‌ی نقره در دوره‌ی بارداری و پی بردن به این که آن‌ها چگونه تأثیرات زیستی زیان‌بار خود را القا می‌کنند، در پژوهش حاضر، اثر سمیت نانوذرات نقره‌ی ۲۰ نانومتری بر تغییرات ساختاری و پساتوبیولوژیکی قلب بررسی شد. همچنین، محقق به دنبال پاسخ به این پرسش بود که

که قرار گرفتن در معرض آلاینده‌ها، به احتمال زیاد، موجب تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد (۵).

از جمله ذرات معلق در هوا نیز می‌توان به نانوذرات اشاره نمود. این ذرات، با اندازه‌ی تقریبی ۱۰۰-۱ نانومتر هستند و بخشی از آن، از طریق استنشاق وارد دستگاه تنفس و سپس وارد دستگاه قلبی - عروقی می‌شود (۶). نانوذرات نقره، یکی از پرکاربردترین و معروف‌ترین محصولات نانوفن‌آوری به شمار می‌رود (۷). علاوه بر این، ویژگی ضد میکروبی نانوذره‌ی نقره نیز باعث ورود این محصول در بخش بهداشت و مواردی نظیر تولید صابون‌ها، مواد آرایشی، خمیر دندان، دئودورانت و حتی تولیدات غذایی شده است (۸). اگر چه نانوذرات نقره دارای مزایا و کاربردهای فراوانی هستند، اما آثار مخرب آن‌ها نیز گزارش شده است؛ به طوری که مطالعات انجام شده در سال ۲۰۱۳، نشان داد که قرارگیری در معرض ذرات کمتر از ۲/۵ میکرون، باعث مرگ ۲/۹ میلیون نفر در سال شده است (۹). مطالعات منتشر شده درباره‌ی اثرات سمی نانوذرات نقره در سیستم‌های زیستی نظیر ویروس‌ها، باکتری‌ها و سلول‌های بنیادی، نتایج مختلف و حتی متناقضی را گزارش می‌دهند (۱۰). شایان ذکر است که به دلیل وجود نانوذرات نقره در صنعت و لوازم آرایشی و بهداشتی، مادران باردار در معرض خطرات احتمالی آن می‌باشند. نانوذرات با افزایش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن داخل سلولی و افزایش احتمالی عوامل پیش التهابی نظیر Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), اینترلوکین ۶ و اینترلوکین ۱، باعث ایجاد سمیت سلولی می‌شوند (۱۱).

اثرات سمیت نانوذرات، باعث آلرژی، فیبروز، رسوب در اندام‌ها (ایجاد نقص و نارسایی در اعضا)، التهاب، اختلال در میتوکندری، آسیب بافتی و آسیب DNA می‌شود (۱۲). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که نانوذرات خیلی کوچک، قادرند به میتوکندری وارد شوند، نفوذپذیری غشای آن‌ها را تغییر دهند و با تولید گونه‌های اکسیژن آزاد، آنزیم‌های سلولی را غیر فعال کنند. این ویژگی‌ها، ممکن است تأثیرات منفی بر سلامتی و محیط داشته باشد و منجر به سمیت بالای نانوذره شود. برخی شواهد، نشان می‌دهد که فشار استرس اکسیداتیو، اثر تخریبی خود بر سلول‌ها را از طریق ایجاد اختلال در مسیرهای پیام‌رسانی (Signaling) درون سلولی آپتوز ایجاد می‌نماید (۱۳). در حالت عادی، سیستم دفاعی بدن توان خنثی کردن این رادیکال‌های آزاد شده را دارد، اما عوامل مخرب محیطی نظیر آلودگی هوا و مواد شیمیایی، باعث می‌شوند بدن نتواند با این رادیکال‌های آزاد مبارزه کند. از سوی دیگر، نوع سوخت و ساز جنین به شکلی است که این رادیکال‌های آزاد را تولید می‌کند. بنابراین، وضعیت تغذیه و شرایط محیطی بر روی رشد و تشکیل اعضای جنین نقش مهمی دارد (۱۴). به عقیده‌ی بیشتر محققان، تشکیل کامل جنین به سبک زندگی و

برای بارداری قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت، پلاک واژنی جهت بارداری بررسی شد و روز یک بارداری اعلام گردید. گروه‌های تمرین پس از انجام مراحل بارداری، به مدت ۱۹ روز دیگر و هر هفته ۵ روز با شدت ۶۰-۲۰ درصد بیشینه‌ی توان موش‌ها، ۴۰-۵ دقیقه بر روی تردمیل به تمرین پرداختند (۲۲). در طول مدت پژوهش، موش‌های گروه شاهد در هیچ فعالیتی شرکت نداشتند. گروه‌های مصرف نانوذره، از روز ۱۹-۲ بارداری، به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم نانوذره‌ی نقره (uS1038 Silver Nanopowder) ساخت امریکا (Ag, 99.99%, 20nm, metal basis) stok#:us1038,cas#:7440-22-4 Nanopowder به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با آب مقطر مخلوط و به صورت درون صفاقی با سوزن انسولین نانوذره تزریق شد (۲۳). جهت محلول‌سازی و همگن نمودن نانوذره‌ی نقره با آب مقطر، از مگنت برقی مدل Stirrer 110 ساخت شرکت Alfa کشور آلمان و برای حل شدن بهتر در آب و به دست آمدن محلول همگن از تلاطم مغناطیسی با شتاب ۹۰۰ دور در دقیقه استفاده شد.

در روز ۱۹ بارداری، خون‌گیری از مادر انجام شد. سطح تروپونین T سرمی، توسط کیت آزمایشگاهی CK-E30019 ساخت کشور امریکا با توجه به دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده اندازه‌گیری شد. خون گرفته شده، بدون ماده‌ی ضد انعقاد درون لوله‌ی آزمایش ریخته و به مدت ۱۲ دقیقه در انکوباتور مدل Germany, Memmert (INB400) در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از وقوع انعقاد، لوله‌ها در دستگاه سانتریفیوژ مدل EBA280 (Germany, Hettich) به مدت ۱۲ دقیقه با شتاب ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. سپس، سرم خون با استفاده از سمپلر جدا و به لوله‌ی آزمایش دیگری منتقل و در فریزر ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد و سطح تروپونین T سرمی با توجه به دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده اندازه‌گیری شد.

همچنین، برای ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژی، ابتدا موش‌ها با کلروفورم بیهوش شدند و با شکاف در ناحیه‌ی شکمی، جنین‌ها خارج شدند. آن گاه، در زیر میکروسکوپ شکافی در قفسه‌ی سینه جنین ایجاد گردید و قلب جنین آن استخراج شد. قلب جنین‌ها در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد و پس از طی مراحل آماده‌سازی بافتی، با استفاده از دستگاه اتوتکنیکون، بلوک‌های پارافینی تهیه و به وسیله‌ی دستگاه میکروتوم مقطعی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و روی لام قرار گرفت. لام‌های به دست آمده، به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی و در نهایت توسط لامل Nikon مجهز به دوربین عکس‌برداری دیجیتال با بزرگ‌نمایی ۴۰۰× عکس‌برداری شد و تغییرات ایجاد شده در اثر القای نانوذره‌ی نقره

«آیا با بررسی سطح تروپونین T سرمی خون مادر می‌توان به آسیب قلب جنین پی برد؟». بنابراین، سطوح تروپونین T سرمی، در راستای تأیید هیستوپاتولوژی جنین موش سوری باردار مورد مطالعه قرار گرفت.

## روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی، ۴۰ سر موش سوری ماده با میانگین وزنی  $5 \pm 30$  گرم از مرکز انستیتو پاستور تهران خریداری شدند. موش‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه حیوانات، به منظور سازگاری با شرایط و محیط جدید، به مدت یک هفته در قفس‌های مخصوص نگهداری حیوانات، در محیطی با دمای ۲۴-۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵-۴۵ درصد و چرخه‌ی تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. شایان ذکر است که طرح تحقیق بر اساس دستورالعمل‌های نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی آکادمی ملی علوم اجرا شد. موش‌های آزمایشگاهی با غذاهای تولید انستیتو پاستور کرج به صورت پلت تغذیه شدند؛ به طوری که روزانه به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن، ۱۰ گرم پلت مصرف کردند. حیوانات در پایان هر هفته وزن‌کشی می‌شدند. میزان غذای حیوانات با توجه به وزن‌کشی هفتگی در هر قفس قرار داده شد. همچنین، موش‌ها روزانه به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن، به ۱۲-۱۰ میلی‌لیتر آب نیاز داشتند. در این پژوهش، آب مورد نیاز هر حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آن‌ها قرار داده شد. پس از سازگاری اولیه با محیط آزمایشگاه، حیوانات به طور تصادفی در چهار گروه ۱۰ تایی (تمرین استقامتی، تزریق نانوذره‌ی نقره، تمرین استقامتی همراه با تزریق نانوذره‌ی نقره و گروه شاهد) قرار گرفتند.

جهت سنجش سرعت بیشینه‌ی دویدن موش سوری بر روی تردمیل، ابتدا سرعت تردمیل به روی ۱۸ متر/دقیقه تنظیم و هر یک دقیقه به مقدار ۱ متر/دقیقه افزایش داشت، تا آن جایی که دیگر موش سوری قادر به دویدن نبود. این شیوه‌نامه، سه مرتبه انجام شد و میانگین سرعت به دست آمده، به عنوان سرعت دویدن بیشینه (۳۲ متر/دقیقه)، مد نظر قرار گرفت. در انتهای تردمیل، یک شوکر برای جلوگیری از توقف موش‌ها تعبیه شده بود. البته، این شوکر برای قبل از دوران بارداری بود و در دوران بارداری از شوکر برای توقف موش‌ها استفاده نشد.

پس از آشنایی با تردمیل، حیوانات در گروه‌های تمرین به مدت ۱۱ هفته، هر هفته ۵ جلسه با شدت ۶۵-۳۰ درصد بیشینه‌ی توان موش‌ها، ۵۰-۵ دقیقه به تمرین روی تردمیل پرداختند. در ابتدای هفته‌ی دوازدهم، هر موش ماده همراه با یک موش نر در یک قفس

بود و در مقایسه با سایر گروه‌ها، کمترین میزان آسیب بافتی در گروه تمرین استقامتی مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۱. میزان متغیر تروپونین T در چهار گروه مورد مطالعه (میکروگرم/میلی‌لیتر)

همچنین، نتایج مطالعه هیستوپاتولوژی نشان داد که تزریق درون صفاقی نانوذره نقره با اندازه ۲۰ نانومتر به موش سفید آزمایشگاهی، بر روی بافت قلبی اثر گذاشت و باعث پرخونی، نکروز، اینفیلتریشن سلول‌های آماسی و دژنراسانس واکوئلی آپوپتوز و هموراژی یا خونریزی بین بافتی شد و از بین جنین‌ها، تنها یک عدد جنین باقی ماند و بقیه سقط شدند (شکل ۳). گروه تمرین استقامتی همراه با نانوذره نقره، با تغییرات پاتولوژیک نظیر پرخونی، نکروز و اینفیلتریشن سلول‌های آماسی و آپوپتوز سلولی و هموراژی یا خونریزی بین بافتی همراه بود (شکل ۴). آسیب‌شناسی بافتی قلب در موش‌های گروه شاهد با بیشترین میزان تغییر پاتولوژیک نظیر فیروز، فیلتراسیون لنفوسیتی، آپوپتوز سلولی و هموراژی یا خونریزی بین بافتی همراه بود (شکل ۵).

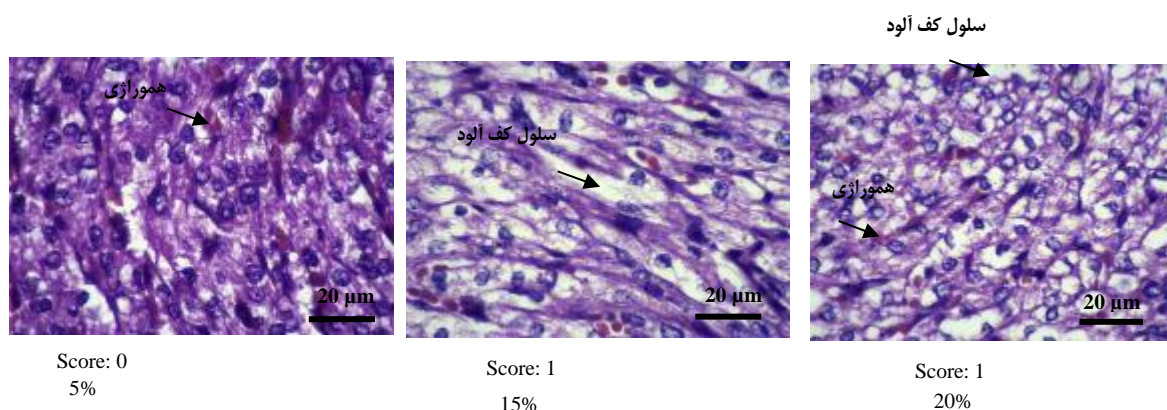
در بافت قلب جنین‌ها شامل تغییر شکل کاردیوسیت‌ها، تغییرات صفحات بینایی و رشته‌های پورکنز، التهاب و پرخونی در عروق مورد بررسی بافتی در مقایسه با گروه کنترل قرار گرفت.

در این مطالعه، کلیه موارد اخلاقی در پژوهش رعایت شده است و تمامی اعمال جراحی و نمونه‌گیری‌ها تحت بی‌هوشی کامل انجام شد. همچنین، سعی شده است از کمترین تعداد نمونه‌ی قابل قبول استفاده شود. لازم به ذکر است ملاحظات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی با کد اخلاق IR.IAU.KHUISF.REC.1397.253 در سال ۱۳۹۷ مورد تصویب قرار گرفت.

**تجزیه و تحلیل آماری:** در ابتدا، به منظور بررسی توزیع طبیعی داده‌ها در گروه‌های مورد مطالعه، از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد و برای مقایسه متغیرهای تروپونین T سرمی و در بین گروه‌های مورد مطالعه، از آزمون ANCOVA و least significant difference (LSD) استفاده گردید. نتایج به دست آمده به همراه محاسبات آماری مربوط، به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شدند. تمام آزمون‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) و در سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  انجام شد.

#### یافته‌ها

نتایج این پژوهش در شکل ۱ نشان داد که سطح تروپونین T در گروه‌های تجربی کاهش یافت؛ به طوری که سطح تروپونین T در گروه نانوذره نقره و گروه تمرین استقامتی، اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد دیده شد ( $P < 0/05$ ). نتایج بررسی در گروه تمرین استقامتی، با آپوپتوز سلولی و هموراژی یا خونریزی بین بافتی همراه



شکل ۲. تصاویر هیستوپاتولوژیک بافت قلب در گروه تمرین استقامتی

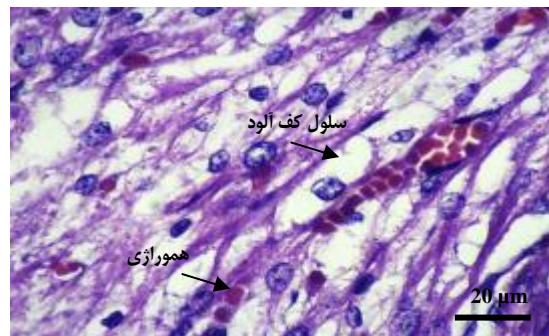
در نظر گرفته می‌شود.

### بحث

در سال‌های اخیر، با پیشرفت فن‌آوری نانو و علم مواد، نانوذرات به طور گسترده تولید شده و مورد استفاده قرار گرفته‌اند. هم‌زمان با افزایش استفاده از نانوذرات، مردم به طور روزافزونی در معرض خطر انواع نانوذرات تولید شده قرار می‌گیرند. در پژوهش حاضر، تأثیر چهارده هفته تمرین استقامتی و تزریق نانوذره نقره در دوران بارداری بر سطح تروپونین T سرمی مادر و شاخص هیستوپاتولوژیک جنین موش سوری مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، سطح تروپونین T در گروه‌های تجربی کاهش یافت که در مقایسه‌ی بین گروهی اختلاف معنی‌داری بین گروه نانوذره نقره و گروه تمرین استقامتی با گروه شاهد دیده شد ( $P < 0/05$ ).

Legaz-Arrese و همکاران، تأثیر شدت‌های متفاوت تمرین را بر نشانگرهای زیستی قلبی ۱۴ دوندگی ماراتن بررسی کردند. پس از دویدن با ۸۵ درصد آستانه‌ی بی‌هوایی، تروپونین تفاوت معنی‌داری نداشت، اما پس از دویدن با ۹۵ درصد آستانه‌ی بی‌هوایی، میزان تروپونین افزایش یافت. افزایش تروپونین می‌تواند نشانه‌ی تجزیه‌ی بافت قلبی باشد. این افزایش‌ها، نوعی پیش‌آگهی منفی به شمار می‌روند (۲۴). نتایج تحقیق حاضر، با یافته‌های پژوهش Williams و همکاران همسو نمی‌باشد (۲۵).

افزایش کار قلب، می‌تواند به طور موقت فرایند یکنواخت آپوپتوز و بازسازی میوکارد را تسریع کند. میزان خیلی کم آسیب قلبی و بازسازی به دنبال آن، بخشی از فرایند طبیعی میوکارد است و سبب افزایش موقت سطوح تروپونین T سرم پس از فعالیت می‌شود که این افزایش را می‌توان به اختلال کلیه‌ها در پاک‌سازی تروپونین گردش خون نسبت داد؛ چرا که در هنگام انجام فعالیت، جریان خون در ناحیه‌ی شکم و کلیه‌ها به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (۲۶).



Score: 3  
55%

شکل ۳. تصاویر هیستوپاتولوژیک بافت قلب در گروه نانوذره نقره

به منظور ارزیابی بافت‌های مورد بررسی، معیارهای ارزیابی دسته‌بندی شدند. بر این اساس و مطابق با معیارهای موجود، درجه‌بندی بافتی انجام شد. درجه‌بندی به صورت ۴-۰ با تعاریف زیر در نظر گرفته شد:

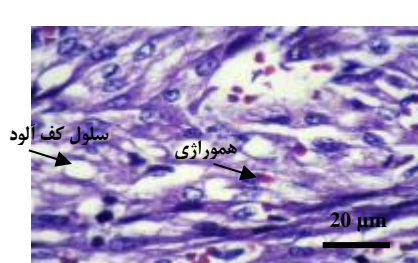
۰- بدون فیبروز، بدون فیلتراسیون لنفوسیتی، بدون سلول‌های کف‌آلود که نشان دهنده‌ی سلول آپوپتوز شده است، بدون همورازی یا خونریزی بین بافتی

۱- داشتن هر یک از موارد تا حدود ۲۵ درصد از بافت. در صورت وجود دو عامل از موارد پیش‌گفته، درجه بین ۲۵-۰ درصد در نظر گرفته می‌شود.

۲- داشتن هر یک از موارد تا حدود ۵۰ درصد از بافت. در صورت وجود دو عامل از موارد پیش‌گفته، درجه بین ۵۰-۲۵ درصد در نظر گرفته می‌شود.

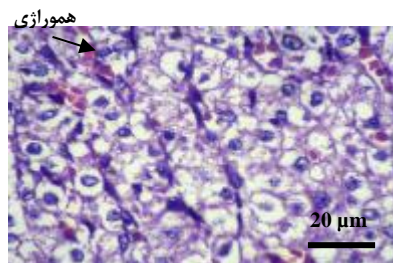
۳- داشتن هر یک از موارد تا حدود ۷۵ درصد از بافت. در صورت وجود ۳ عامل از موارد پیش‌گفته، درجه بین ۷۵-۵۰ درصد در نظر گرفته می‌شود.

۴- داشتن هر یک از موارد تا حدود ۱۰۰ درصد از بافت. در صورت وجود هر عامل از موارد پیش‌گفته، درجه بین ۱۰۰-۷۵ درصد



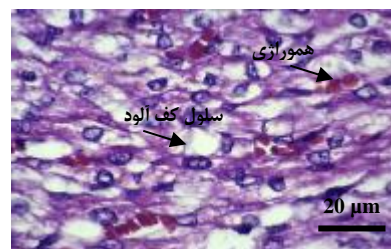
Score: 3  
50%

نمونه‌ی ۳



Score: 4  
70%

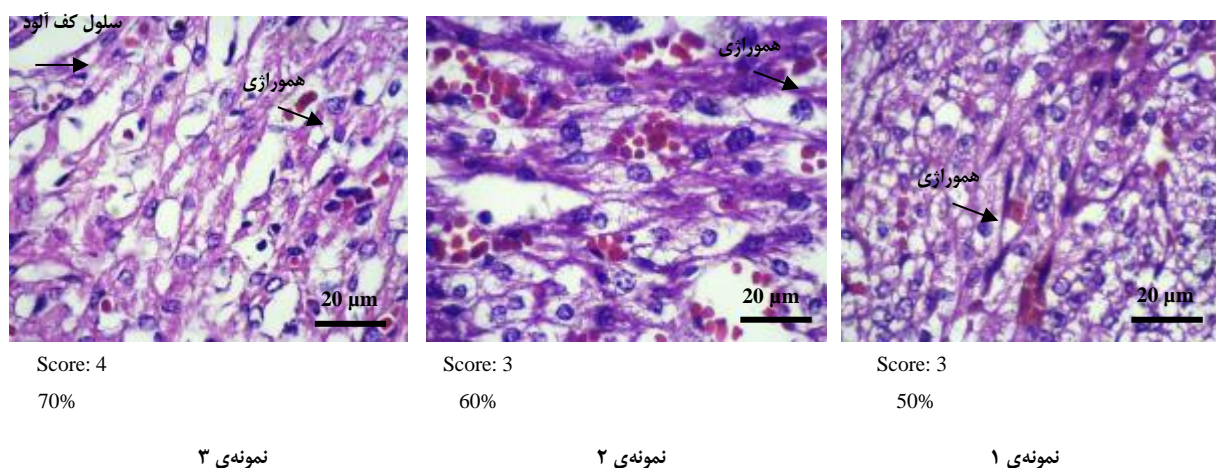
نمونه‌ی ۲



Score: 3  
50%

نمونه‌ی ۱

شکل ۴. تصاویر هیستوپاتولوژیک بافت قلب در گروه تمرین استقامتی و نانوذره نقره



شکل ۵. تصاویر هیستوپاتولوژیک بافت قلب در گروه شاهد

Songstad و همکاران، تحقیق دیگری به منظور بررسی تأثیر تمرینات ورزشی با شدت بالا بر روی قلب مادر و جنین موش صحرایی، انجام دادند. موش‌های صحرایی به طور تصادفی به گروه‌های مورد (تمرین) و شاهد تقسیم شدند. گروه مورد، به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته با ۱۰ دوره‌ی تمرین با شدت بالا بر روی یک تردمیل به مدت ۴ دقیقه (در حد ۹۰-۸۵ درصد بیشینه‌ی مصرف اکسیژن) به تمرین پرداختند. نتایج حاکی از آن بود که تمرین شدت بالا بر روی یک تردمیل به مدت ۴ دقیقه (در حد ۹۰-۸۵ درصد بیشینه‌ی مصرف اکسیژن) بر روی عملکرد قلبی مادر و بهبود کارایی قلب تأثیری نداشت، اما برخی از ژن‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو در قلب جنینی را تغییر می‌داد. این موضوع، نشان می‌دهد که مکانیزم‌های حفاظتی ممکن است در بافت قلب فعال شوند (۲۲).

فتحی و قراخانلو، در پژوهشی به بررسی تأثیر فعالیت استقامتی بر تشکیل قلب جنین پرداختند. نتایج نشان داد تشکیل قلب در گروه‌های تمرینی به طور معنی‌داری بیشتر بود (۳۰). با توجه به نتایج مشاهده شده در گروه شاهد، بیشترین میزان آسیب هیستوپاتولوژیک قلبی جنین مشاهده شد. بر این اساس، این یافته مشخص می‌کند که استراحت مطلق در دوران بارداری، می‌تواند با آسیب‌های بافتی همراه باشد.

نتیجه‌گیری نهایی این که میزان تغییرات تروپونین خون مادر با میزان آسیب هیستوپاتولوژیک قلب جنین در گروه‌های تمرین استقامتی، نانوذره نقره، تمرین استقامتی همراه با نانوذره نقره و کنترل یکسان است. با توجه به شباهت مکانیسم‌های داخل سلولی موش و انسان، احتمال تغییرات مشابهی در این زمینه برای انسان نیز وجود دارد. با توجه به کاربرد وسیع نانوذرات نقره در صنایع و محصولات مختلف در کل دنیا و در کشور ما، مطالعه‌ی دقیقی فیزیولوژیک در غلظت‌ها و دزهای متفاوت از نانوذرات و تأثیر آن بر

با این وجود، مکانیسم انتشار تروپونین T تا کنون ناشناخته است، اما پژوهش‌های پیشین مکانیسم‌های مختلف نظیر افزایش نفوذپذیری غشای میوکارد به دلیل افزایش ضربان قلب و فشار بر میوسیت‌های قلبی، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد یا تغییر تعادل اسید-بازی را عنوان کرده‌اند (۲۴). فشار اکسایشی، غلظت محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی بافت قلب یعنی مالون دی‌آلدئید و سایر شاخص‌های مرتبط با پراکسیداسیون اجزای ساختاری سلول‌های قلبی را افزایش می‌دهد و منجر به از هم گسیختگی و یا آسیب به سلول و غشای سلول‌های عضلانی و در نتیجه، تسریع رهاش تروپونین T قلبی به سرم می‌شود (۲۰).

در پژوهش حاضر، آسیب بافت قلبی در گروه مصرف نانوذره نقره مشاهده شد و همچنین، در گروه مصرف نانوذره نقره، تنها یک جنین باقی ماند و بقیه سقط شدند. بسیاری از نانوذرات نظیر نانوذرات نقره، وارد جریان خون می‌شوند و از سد خونی-مغزی عبور می‌کنند. انتشار نانو ذرات در کبد، طحال، مغز و قلب و تجمع زیستی آن‌ها در اعضای بدن می‌دهد. بنابراین، هنوز روشن نیست که بدن می‌تواند نانوذرات را از طریق ادرار دفع کند و یا باقی‌مانده‌ی این مواد، در اندام‌های بدن تجمع زیستی پیدا می‌کنند یا حتی سیستم‌های دفعی را بلوک می‌نمایند (۲۷).

در مطالعه‌ی، تزریق درون صفاقی نانوذره نقره با قطر کمتر از ۳۰ نانومتر به موش نژاد آلبینو، آسیب‌های کلیوی شامل تغییرات دژنراتیو کلیوی به صورت تورم سلولی، واکونله شدن سیتوپلاسم، تخریب میتوکندری، هیپرتروفی هستک، ضخیم شدن غشای پایه و کاهش فضای بومن مشاهده شد (۲۸).

مطالعه‌ی Tian و همکاران، نشان داد که توانایی انتقال نانوذره از طریق جفت، وابسته به اندازه و سطح نانوذرات می‌باشد (۲۹).

بافت‌های مختلف بدن، پیشنهاد می‌شود.

با کد پژوهشی ۹۵۰۳۱۳۴۱۳ است که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) به تصویب رسید. بدین وسیله، از زحمات استادان محترم دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی این دانشگاه قدردانی و تشکر به عمل می‌آید.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه‌ی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزش

### References

- Regitz-Zagrosek V, Blomstrom LC, Borghi C, Cifkova R, Ferreira R, Foidart JM, et al. ESC Guidelines on the management of cardiovascular diseases during pregnancy: The Task Force on the Management of Cardiovascular Diseases during Pregnancy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2011; 32(24): 3147-97.
- Hoffman JI, Kaplan S, Liberthson RR. Prevalence of congenital heart disease. *Am Heart J* 2004; 147(3): 425-39.
- Marcadante K, Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB. *Nelson essentials of pediatrics*. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2011. p 537-46.
- Lodovici M, Bigagli E. Oxidative stress and air pollution exposure. *J Toxicol* 2011; 2011: 487074.
- Persson T, Popescu BO, Cedazo-Minguez A. Oxidative stress in Alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail? *Oxid Med Cell Longev* 2014; 2014: 427318.
- Hutchison JE. Greener nanoscience: A proactive approach to advancing applications and reducing implications of nanotechnology. *ACS Nano* 2008; 2(3): 395-402.
- Nowack B, Krug HF, Height M. 120 years of nanosilver history: Implications for policy makers. *Environ Sci Technol* 2011; 45(4): 1177-83.
- Tran QH, Nguyen VQ, Le AT. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology* 2013; 4(3): 033001.
- Forouzanfar MH, Afshin A, Alexander LT, Anderson HR, Bhutta ZA, Biryukov S, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016; 388(10053): 1659-724.
- Holden PA, Schimel JP, Godwin HA. Five reasons to use bacteria when assessing manufactured nanomaterial environmental hazards and fates. *Curr Opin Biotechnol* 2014; 27: 73-8.
- Sadi G, Bozan D, Yildiz HB. Redox regulation of antioxidant enzymes: Post-translational modulation of catalase and glutathione peroxidase activity by resveratrol in diabetic rat liver. *Mol Cell Biochem* 2014; 393(1-2): 111-22.
- Nel A, Xia T, Madler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 2006; 311(5761): 622-7.
- Roy S, Nicholson DW. Cross-talk in cell death signaling. *J Exp Med* 2000; 192(8): F21-F25.
- George LA, Zhang L, Tuersunjiang N, Ma Y, Long NM, Uthlaut AB, et al. Early maternal undernutrition programs increased feed intake, altered glucose metabolism and insulin secretion, and liver function in aged female offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012; 302(7): R795-R804.
- Lindstrom J, Peltonen M, Tuomilehto J. Lifestyle strategies for weight control: experience from the Finnish Diabetes Prevention Study. *Proc Nutr Soc* 2005; 64(1): 81-8.
- Demissie Z, Siega-Riz AM, Evenson KR, Herring AH, Dole N, Gaynes BN. Physical activity during pregnancy and postpartum depressive symptoms. *Midwifery* 2013; 29(2): 139-47.
- Hellings WE, Peeters W, Moll FL, Pasterkamp G. From vulnerable plaque to vulnerable patient: the search for biomarkers of plaque destabilization. *Trends Cardiovasc Med* 2007; 17(5): 162-71.
- El-Khuffash A, Davis PG, Walsh K, Molloy EJ. Cardiac troponin T and N-terminal-pro-B type natriuretic peptide reflect myocardial function in preterm infants. *J Perinatol* 2008; 28(7): 482-6.
- Domico M, Checchia PA. Biomarkers of cardiac injury and performance: B-type natriuretic peptide and troponin as monitors of hemodynamics and oxygen transport balance. *Pediatr Crit Care Med* 2011; 12(4 Suppl): S33-S42.
- Tian Y, Nie J, George KP, Huang C. Reproducibility of cardiac biomarkers response to prolonged treadmill exercise. *Biomarkers* 2014; 19(2): 114-20.
- Gul M, Demircan B, Taysi S, Oztasan N, Gumustekin K, Siktar E, et al. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2006; 143(2): 239-45.
- Songstad NT, Kaspersen KH, Hafstad AD, Basnet P, Ytrehus K, Acharya G. Effects of High Intensity Interval Training on Pregnant Rats, and the Placenta, Heart and Liver of Their Fetuses. *PLoS One* 2015; 10(11): e0143095.
- Kim YS, Kim JS, Cho HS, Rha DS, Kim JM, Park JD, et al. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 2008; 20(6): 575-83.
- Legaz-Arrese A, George K, Carranza-Garcia LE, Munguia-Izquierdo D, Moros-Garcia T, Serrano-Ostariz E. The impact of exercise intensity on the release of cardiac biomarkers in marathon runners. *Eur J Appl Physiol* 2011; 111(12): 2961-7.
- Williams K, Gregson W, Robertson C, Datson N, Whyte G, Murrell C, et al. Alterations in left ventricular function and cardiac biomarkers as a consequence of repetitive endurance cycling. *European Journal of Sport Science* 2009; 9(2): 97-105.

26. Legaz-Arrese A, Lopez-Laval I, George K, Puente-Lanzarote JJ, Moliner-Urdiales D, Ayala-Tajuelo VJ, et al. Individual variability in cardiac biomarker release after 30 min of high-intensity rowing in elite and amateur athletes. *Appl Physiol Nutr Metab* 2015; 40(9): 951-8.
27. Oberdorster G, Stone V, Donaldson K. Toxicology of nanoparticles: A historical perspective. *Nanotoxicology* 2007; 1(1): 2-25.
28. Sarhan OM, Hussein RM. Effects of intraperitoneally injected silver nanoparticles on histological structures and blood parameters in the albino rat. *Int J Nanomedicine* 2014; 9: 1505-17.
29. Tian F, Razansky D, Estrada GG, Semmler-Behnke M, Beyerle A, Kreyling W, et al. Surface modification and size dependence in particle translocation during early embryonic development. *Inhal Toxicol* 2009; 21 Suppl 1: 92-6.
30. Fathi M, Gharakhanlou R. The effect of endurance activity on left ventricle Hand2 gene expression in wistar male rat. *Sport Physiology* 2015; 7(25): 57-68. [In Persian].



## The Effect of 14-Week Endurance Training and Injection of Silver Nanoparticles during Pregnancy on Maternal Serum Troponin T Level and Fetal Heart Histopathological Index of Laboratory Mice

Maryam Ghasemihemami<sup>1</sup>, Gholamreza Sharifi<sup>2</sup>, Farzaneh Taghian<sup>2</sup>, Mehrdad Modarsi<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Due to the prevalence of congenital heart diseases, this study was performed to evaluate the effect of endurance training and silver nanoparticle injection on maternal serum troponin T level and fetal histopathological index in the mice.

**Methods:** In this experimental study, 40 female laboratory mice with the average weight of  $30 \pm 5$  g were randomly divided in four equal groups of endurance training, silver nanoparticle injection, endurance training together with silver nanoparticle injection, and the control. The endurance-training group did exercises by running on a treadmill before pregnancy for 11 weeks, 5 sessions per week (with the intensity of 30-65 percent of the maximum capability of the mice) from 5 to 50 minutes. After becoming pregnant, these mice continued exercising by running on the treadmill for 3 more weeks with the intensity of 20 to 60 percent of the maximum capability of the mice. The second group received silver nanoparticles intraperitoneally from the second day of pregnancy at a dose of 400 mg per kilogram body weight. The third group had the exercise and received the injections similar to the other two groups. The control group had no activities. Maternal blood sampling was taken on the 19<sup>th</sup> day of pregnancy, as well as the evaluation of histopathological changes and staining with hematoxylin-eosin. Then, the maternal serum troponin T levels were measured.

**Findings:** Troponin T levels decreased in the experimental groups ( $P < 0.05$ ). There was a significant difference between silver nanoparticles and endurance training group. The least amount of fetal heart tissue damage was seen in endurance training group, and the highest damage was observed in the control group.

**Conclusion:** Endurance training reduces the serum troponin T level, and minimizes the tissue damage to fetal heart tissue in laboratory mice. Silver nanoparticles also reduce troponin T level and the damage to fetal heart tissue of mice.

**Keywords:** Endurance training, Nanoparticles, Silver, Troponin T, Histopathology, Fetus

**Citation:** Ghasemihemami M, Sharifi G, Taghian F, Modarsi M. Effect of 14-Week Endurance Training and Injection of Silver Nanoparticles during Pregnancy on Maternal Serum Troponin T Level and the Fetal Heart Histopathological Index of Laboratory Mice. J Isfahan Med Sch 2019; 37(539): 973-81.

1- PhD student, Department of Sport Physiology, School of Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Sport Physiology, School of Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Physiology, School of Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Gholamreza Sharifi, Email: gre\_sharifi@yahoo.com?

## مقایسه روش‌های ثابت‌سازی با نخ محکم و ثابت‌سازی با پیچ در ترمیم آسیب Syndesmosis مچ پا

شیروان رستگار<sup>۱</sup>، سینا طالبی<sup>۲</sup>، سجاد طالبی<sup>۳</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** آسیب Syndesmosis مچ پا، از شایع‌ترین آسیب‌های مچ پا می‌باشد. این آسیب دیدگی، منجر به ناتوانی طولانی مدت از انجام فعالیت‌های فیزیکی می‌گردد. روش‌های مختلف جراحی، جهت درمان به کار رفته‌اند که هر یک با محدودیت‌ها، مزایا و معایبی همراه می‌باشند و یافته‌های مطالعات در این زمینه، با یکدیگر متناقض است. از این رو، مطالعه‌ی حاضر، با هدف مقایسه‌ی دو روش ثابت‌سازی نخ محکم (Tightrope) و پیچ (Tricortical-screw) انجام شد.

**روش‌ها:** مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی حاضر، بر روی ۳۰ بیمار با آسیب Syndesmosis مچ پا در بیمارستان‌های الزهرا (س) و آیت‌اله کاشانی اصفهان در سال‌های ۹۶-۱۳۹۳ انجام شد. بیماران به صورت تصادفی به دو گروه Tightrope و Tricortical-screw تقسیم شدند. دو گروه در پی‌گیری‌های ۶، ۱۲ و ۱۸ ماهه از نظر محدوده‌ی حرکتی، شاخص American Orthopedic Foot and Ankle Society (AOFAS)، زمان لازم برای برگشت به کار و نیاز به جراحی مجدد، مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** بیماران دو گروه از نظر سن، جنس و شاخص توده‌ی بدنی (Body mass index یا BMI) تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $P > 0.05$ )، اما مدت ریکاوری و نیاز به جراحی مجدد در گروه Tightrope کمتر بود ( $P < 0.001$ ). در امتیاز AOFAS نیز گروه Tightrope از نظر درد، محدودیت حرکتی، Maximum walk و Walk surface نسبت به Tricortical-screw برتر بود ( $P < 0.05$ )، اما در مورد Flexion دورسال و پلاتنار، Gait، حرکت Sagittal، حرکت Hind foot و عملکرد دو گروه تفاوتی نداشتند ( $P > 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** طبق یافته‌های این مطالعه، در آسیب Syndesmosis مچ پا، استفاده از روش Tightrope با نتایج بهتری نسبت به روش Tricortical-screw همراه بود.

**واژگان کلیدی:** Syndesmosis مچ پا، آسیب مچ پا، ثابت‌سازی شکستگی

**ارجاع:** رستگار شیروان، طالبی سینا، طالبی سجاد. مقایسه روش‌های ثابت‌سازی با نخ محکم و ثابت‌سازی با پیچ در ترمیم آسیب

**Syndesmosis مچ پا.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۳۹): ۹۸۸-۹۸۲

درمان آسیب Syndesmosis تیبیوفیولار به سرعت در حال پیشرفت است. در میان روش‌هایی که به وفور در درمان این نوع آسیب دیدگی به کار می‌رود، برخی از متخصصین ارتوپدی، Screw fixation را به کار می‌برند. این روش با مزیت‌هایی نظیر ثابت‌سازی قدرتمند همراه است؛ در حالی که جهت خارج‌سازی وسایل جراحی، نیازمند جراحی مجدد می‌باشد. همچنین، ممکن است با شل شدن پیچ‌ها، سفتی و حتی دیاستاز تأخیری به دنبال شکستن پیچ‌ها همراه باشد (۵-۶). روش دیگر جراحی، استفاده از Tightrope implant است. مزیت این روش، حفظ حرکات ظریف Syndesmosis در دوران درمان است؛ در حالی که می‌تواند منجر به ثبات ناکافی Syndesmosis آسیب دیده

## مقدمه

آسیب‌های مچ پا که با عنوان آسیب به Syndesmosis تیبیوفیولار نیز شناخته می‌شود، از آسیب‌های معمول تمام سنین انسان است. این Syndesmosis، شامل سه رباط اصلی غشای بین استخوانی، رباط خلفی-تحتانی و قدامی-تحتانی می‌گردد (۱). آسیب دیدگی Syndesmosis مچ پا، بیش از ۱۱ درصد آسیب‌های مچ پا را تشکیل می‌دهد و بیشترین آسیب در بین ورزشکاران را دارد. برآورد می‌شود که آسیب مچ پا، مسؤل ۲۵۰-۱۴ روز دوری از زمین ورزش است (۳-۲). با وجود شیوع بالای این آسیب، تشخیص و مدیریت آن همچنان یک سؤال است و نتایج مطالعات در این زمینه بحث برانگیز می‌باشد (۴).

۱- استادیار، گروه ارتوپدی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دستیار، گروه ارتوپدی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- پزشک عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤل: سینا طالبی

Email: sinatalebi\_3969@yahoo.com

شود (۷-۸).

فیولا یک سوراخ در کورتکس تیبیا تعبیه و سپس، پیچ بسته شد (۹). به منظور به حداقل رساندن تورش احتمالی، تمامی مداخلات جراحی توسط یک نفر جراح متخصص در زمینه‌ی مچ پا انجام شد. بیماران دو گروه، برای یک دوره‌ی ۱۸ ماهه با فواصل ۶ ماهه پی‌گیری شدند. در هر ویزیت پی‌گیری، محدوده‌ی حرکتی (Range of motion) Flexion دورسال و پلانتر و سؤالات مربوط به American Orthopedic Foot & Ankle Society (جدول ۱) تکمیل گردید.

این معاینات، توسط دستیار ارشد ارتوپدی در درمانگاه تخصصی مچ پا انجام گرفت. همچنین، زمان لازم برای برگشت به کار، میانگین جابه‌جایی و نیاز به جراحی مجدد نیز ارزیابی گردید (شکل ۱).

به علت عدم وجود رویکرد درمانی واحد و مورد تأیید مطالعات مختلف جهت درمان آسیب‌های مچ پا، این مطالعه‌ی با هدف مقایسه‌ی درمان آسیب‌های مچ پا به روش‌های پیچ (Tricortical screw) و نخ محکم (Tightrope) انجام شد.

## روش‌ها

مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی حاضر بر روی ۳۰ بیمار با آسیب Syndesmosis مچ پا در بیمارستان‌های الزهرا (س) و آیت‌اله کاشانی (مراکز ارتوپدی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان) در سال‌های ۹۶-۱۳۹۳ انجام گرفت. در این مطالعه، نتایج درمان آسیب‌های مچ پا به روش‌های پیچ (Tricortical screw) و نخ محکم (Tightrope) با یکدیگر مقایسه گردید.

بیماران بالای ۱۸ سال با آسیب Syndesmosis مچ پا و شاخص توده‌ی بدنی (Body mass index یا BMI) کمتر از ۳۵ کیلوگرم بر مترمربع که جهت شرکت به مطالعه رضایت داشتند، وارد مطالعه شدند. همچنین، بیماران با شکستگی هم‌زمان تالوس و کالکانوس، شکستگی باز، ترومای متعدد (Multiple trauma یا MT)، آرتروپاتی نوروپاتیکی و شکستگی Pilon، سابقه‌ی شکستگی‌های اطراف مچ پا و نیز بیماران مبتلا به دیابت و/یا آرتریت روماتوئید، از مطالعه خارج شدند. شیوه‌نامه‌ی این مطالعه، در مرکز کارآزمایی‌های بالینی ایران به کد IRCT20190219042756N1 ثبت شده بود.

تمامی اطلاعات لازم در مورد فرایند مطالعه و روش تصادفی‌سازی برای شرکت‌کنندگان شرح داده شد و تمام آن‌ها، فرم رضایت کتبی جهت شرکت در مطالعه را امضا نمودند.

همه‌ی بیماران، با آسیب Syndesmosis مچ پا، به صورت تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. تصادفی‌سازی به روش ساده و با استفاده از نرم‌افزار Random allocation انجام گرفت. آن دسته از بیماران با اعداد زوج در گروه نخ محکم و بیماران با اعداد فرد، در گروه پیچ قرار گرفتند. اطاعات دموگرافیک بیماران شامل سن، جنس و شاخص توده‌ی بدنی، در چک لیست مربوط ثبت گردید. سپس، یک گروه تحت جراحی Syndesmosis به روش نخ محکم (۴) و گروه دیگر تحت جراحی به روش پیچ (۹) قرار گرفتند.

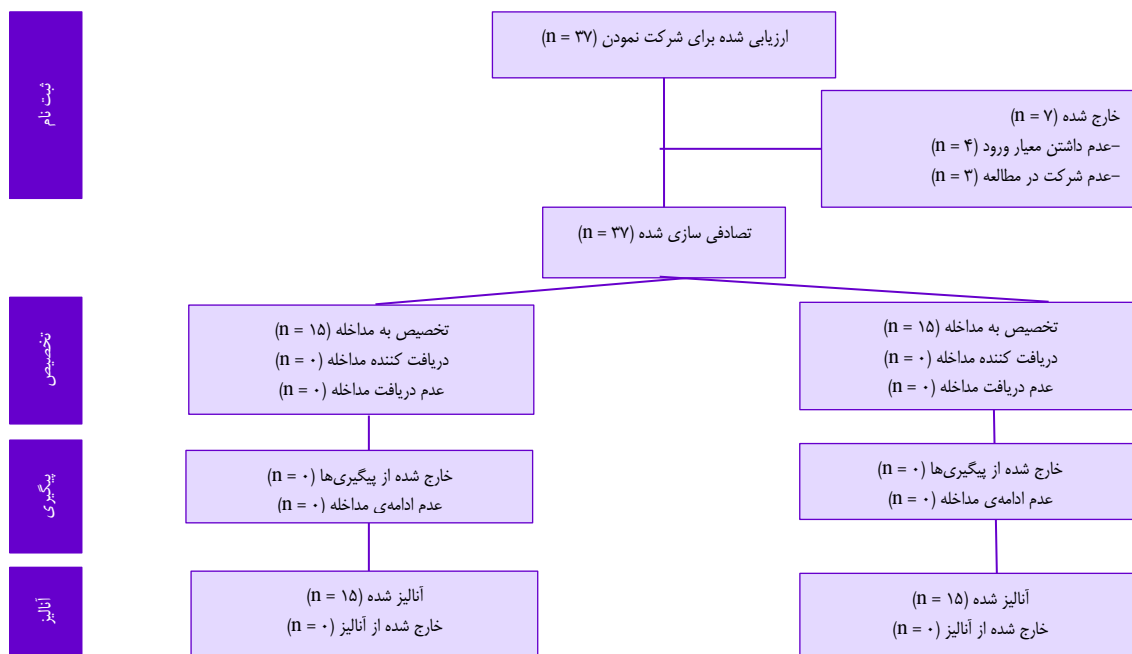
در گروه نخ محکم، تمام کورتکس تیبیا و فیولا سوراخ شد و نخ محکم (Tightrope) به کمک نیدل آن و با سوراخ کردن پوست Medial در طرف مقابل خارج گردید و Flip شد. سپس، رشته‌های Tightrope به سمت Lateral گره زده شد (۴).

در روش پیچ، در فاصله‌ی ۱/۵ سانتی‌متری از مفصل مچ پا و در شکستگی‌های مائلول Lateral از طریق سوراخ پلاک کورتکس‌های

<b>I Pain (40 points)</b>	
• None	40
• Mild, occasional	30
• Moderate, daily	20
• Severe, almost always present	0
<b>II Function (50 points)</b>	
Activity limitations, support requirement	
• No limitations, no support	10
• No limitation of daily activities, limitation of recreational activities, no support	7
• Limited daily and recreational activities, cane	4
• Severe limitation of daily and recreational activities, walker, crutches, wheelchair, brace	0
Maximum walking distance, blocks	
• Greater than 6	5
• 4-6	4
• 1-3	2
• Less than 1	0
Walking surfaces	
• No difficulty on any surface	5
• Some difficulty on uneven terrain, stairs, inclines, ladders	3
• Severe difficulty on uneven terrain, stairs, inclines, ladders	0
Gait abnormality	
• None, slight	8
• Obvious	4
• Marked	0
Sagittal motion (flexion plus extension)	
• Normal or mild restriction (30° or more)	8
• Moderate restriction (15°-29°)	4
• Severe restriction (less than 150)	0
Hindfoot motion (inversion plus eversion)	
• Normal or mild restriction (75%-100% normal)	6
• Moderate restriction (25%-74% normal)	3
• Marked restriction (less than 25% normal)	0
Ankle-hindfoot stability (anteroposterior, varus-valgus)	
• Stable	8
• Definitely unstable	0
<b>III Alignment (10 points)</b>	
• Good, plantigrade foot, midfoot well aligned	15
• Fair, plantigrade foot, some degree of midfoot malalignment observed, no symptoms	8
• Poor, nonplantigrade foot, severe malalignment, symptoms	0
<b>Total</b>	<b>100</b>

جدول ۱. معیارهای مورد بررسی در

(AOFAS) American Orthopedic Foot & Ankle Society



شکل ۱. فلوجارت شرکت کنندگان در مطالعه

واکاوی گردید. اطلاعات توصیفی به صورت میانگین و انحراف معیار و تعداد و درصد گزارش گردید. از آزمون‌های ANOVA، Fisher's exact، (GEE) Generalized estimating equation، و Multivariate ANOVA و Logistic regression استفاده گردید.  $P < ۰/۰۵۰$ ، به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

تمامی اطلاعات مورد نیاز توسط دستیار ارشد در درمانگاه تخصصی مچ پا جمع‌آوری شد. محدودیت در Gait به صورت Subjective توسط خود بیمار و نیز به صورت Objective توسط دستیار ارتوپدی ارزیابی شد و به صورت خفیف، متوسط و شدید امتیازدهی گردید. همچنین، تمام معاینات در رابطه با Flexion/Extension و نیز Inversion/eversion توسط دستیار ارشد ارتوپدی در درمانگاه مچ پا محاسبه گردید.

### یافته‌ها

این مطالعه‌ی بر روی دو گروه ۱۵ نفره از بیماران با آسیب مچ پا که نیازمند فرایند جراحی بودند، انجام شد. دو گروه از نظر سن، جنس و BMI تفاوت معنی داری نداشتند ( $P > ۰/۰۵۰$ )، اما مدت زمان ریکاوری و نیاز به جراحی مجدد در گروه نخ محکم در قیاس با گروه پیچ، به شکل معنی داری کوتاه‌تر بود ( $P < ۰/۰۰۱$ ) (جدول ۲).

در مطالعه‌ی حاضر، بیماران از نوع جراحی انجام شده، اطلاعاتی نداشتند و کورسازی انجام گرفت؛ در حالی که پزشک معالج و نیز دانشجوی تخصص ارتوپدی معاینه کننده، از نوع جراحی آگاه بودند. در نهایت، اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY)

جدول ۲. مقایسه‌ی اطلاعات دموگرافیک دو گروه

مقدار P	پیچ (Tricortical-screw)		نخ محکم (Tightdrope)		متغیر
	میانگین ± انحراف معیار		میانگین ± انحراف معیار		
۰/۴۳۰	۲۹/۱۳ ± ۷/۲۹		۳۷/۳۰ ± ۱۰/۳۶		سن (سال)
۰/۹۲۰	۲۳/۶۶ ± ۳/۳۹		۲۳/۵۳ ± ۳/۵۰		شاخص توده‌ی بدنی (کیلوگرم/مترمربع)
< ۰/۰۰۱	۵/۳۷ ± ۰/۴۱		۴/۶۴ ± ۰/۴۸		مدت ریکاوری
	تعداد (درصد)		تعداد (درصد)		
۰/۶۵۰	۱۱ (۷۳/۳)		۱۳ (۸۶/۷۰)		جنس
	۴ (۲۶/۷)		۲ (۱۳/۳۰)		مؤنث
< ۰/۰۰۱	۱۱ (۷۳/۳)		۱ (۶/۶۷)		نیاز به جراحی مجدد
	۴ (۲۶/۷)		۱۴ (۹۳/۳۳)		خیر

جدول ۳. مقایسه‌ی امتیازهای American Orthopedic Foot & Ankle Society (AOFAS) در دو گروه تحت درمان با روش نخ محکم

(Tightdrope) و پیچ (Tricortical-screw)

متغیر	گروه	ویزیت ۶ ماه	ویزیت ۱۲ ماه	ویزیت ۱۸ ماه	مقدار P (درون گروهی)	مقدار P (بین گروهی)
درد	نخ محکم	۳۶/۰۰ ± ۵/۰۷	۳۲/۶۷ ± ۴/۵۷	۲۶/۶۷ ± ۶/۱۷	< ۰/۰۰۱	۰/۰۲۰
	پیچ	۳۲/۶۷ ± ۷/۰۳	۲۸/۰۰ ± ۵/۶۰	۲۴/۰۰ ± ۹/۱۰	< ۰/۰۰۱	
	مقدار P	۰/۴۶۰	۰/۶۷۰	۰/۲۵۰		
Flexion دورسال	نخ محکم	۷/۴۷ ± ۴/۳۴	۸/۸۰ ± ۴/۳۹	۹/۸۷ ± ۴/۷۰	< ۰/۰۰۱	۰/۳۹۰
	پیچ	۵/۹۳ ± ۳/۳۹	۷/۶۰ ± ۳/۷۵	۸/۸۰ ± ۳/۷۸	< ۰/۰۰۱	
	مقدار P	۰/۲۹۰	۰/۴۲۰	۰/۴۹۰		
Flexion پلاتار	نخ محکم	۵۱/۶۷ ± ۱۵/۶۶	۵۵/۶۰ ± ۱۴/۷۹	۵۹/۳۳ ± ۱۳/۴۰	< ۰/۰۰۱	۰/۲۹۰
	پیچ	۴۷/۰۰ ± ۱۷/۶۸	۴۹/۴۷ ± ۱۷/۲۰	۵۱/۴۷ ± ۱۶/۶۹	< ۰/۰۰۱	
	مقدار P	۰/۴۵۰	۰/۳۰۰	۰/۱۶۰		
حرکت Sagittal	نخ محکم	۴/۲۷ ± ۱/۰۳	۵/۳۳ ± ۱/۹۵	۵/۸۷ ± ۲/۰۶	۰/۰۰۹	۰/۸۱۰
	پیچ	۴/۸۰ ± ۱/۶۵	۴/۸۰ ± ۱/۶۵	۵/۶۰ ± ۲/۰۲	۰/۰۵۰	
	مقدار P	۰/۵۳۰	۰/۵۳۰	۰/۷۷۰		
Gait	نخ محکم	۵/۰۷ ± ۱/۸۳	۶/۴۰ ± ۲/۰۲	۷/۷۳ ± ۱/۰۳	۰/۰۰۱	۰/۳۱۰
	پیچ	۵/۰۷ ± ۱/۸۳	۵/۳۳ ± ۱/۹۵	۶/۱۳ ± ۲/۰۶	۰/۰۳۹	
	مقدار P	-	۰/۲۱۰	۰/۰۶۱		
حرکت Hind foot	نخ محکم	۵/۲۰ ± ۱/۳۷ ±	± ۱/۳۷ ± ۵/۲۰	± ۱/۲۴ ± ۵/۴۰	۰/۸۱۰	۰/۱۰۹
	پیچ	۴/۶۰ ± ۱/۵۴	۴/۸۰ ± ۱/۵۲	۵/۰۰ ± ۱/۴۶	۰/۶۸۰	
	مقدار P	۰/۵۳۰	۰/۵۳۰	۰/۳۶۰		
عملکرد	نخ محکم	۳۹/۸۰ ± ۴/۷۲	۴۴/۴۰ ± ۳/۸۵	۴۶/۸۷ ± ۲/۲۰	< ۰/۰۰۱	۰/۰۷۰
	پیچ	۳۷/۲۷ ± ۸/۰۱	۳۹/۸۷ ± ۶/۵۲	۴۴/۰۰ ± ۳/۹۲	< ۰/۰۰۱	
	مقدار P	۰/۳۰۰	۰/۰۳۰	۰/۰۲۰		
محدودیت حرکتی	نخ محکم	۷/۸۰ ± ۲/۶۵	۹/۶۰ ± ۱/۰۵	۱۰/۰۰ ± ۰/۰	۰/۰۰۱	۰/۰۳۰
	پیچ	۶/۸۰ ± ۲/۸۸	۸/۲۰ ± ۲/۲۱	۹/۵۷ ± ۱/۰۸	۰/۰۰۲	
	مقدار P	۰/۳۸۰	۰/۱۰۰	۰/۵۳۰		
Maximum walk	نخ محکم	۴/۶۰ ± ۰/۵۰	۴/۸۷ ± ۰/۳۵	۴/۹۳ ± ۰/۲۵	۰/۰۵۰	۰/۰۰۱
	پیچ	۴/۷۳ ± ۰/۴۵	۴/۲۷ ± ۱/۰۳	۴/۷۳ ± ۰/۴۵	۰/۰۱۰	
	مقدار P	۰/۱۰۰	۰/۱۰۰	۰/۳۶۰		
Walk surface	نخ محکم	۵/۰۰ ± ۰/۰	۵/۰۰ ± ۰/۰	۴/۹۳ ± ۰/۲۵	۰/۳۶۰	۰/۰۰۹
	پیچ	۳/۸۰ ± ۱/۷۸	۴/۵۳ ± ۱/۳۵	۴/۸۰ ± ۱/۴۲	۰/۰۷۰	
	مقدار P	۰/۰۶۱	۰/۵۳۰	۰/۵۹۰		

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده‌اند.

روش معمول درمان آسیب Syndesmosis شامل Tightrope fixation (نخ محکم) و Tricortical-screw fixation (پیچ) که هر دو با موفقیت درمانی همراه بوده‌اند (۱۰)، مورد مقایسه قرار گرفتند. در واقع، مزایا و معایب هر یک از روش‌های پیش گفته، منجر به طراحی مطالعه‌ی حاضر شد.

ارزیابی زمان لازم جهت ریکاوری و نیاز به جراحی مجدد، برتری روش نخ محکم را نشان داد.

از طرفی، بر اساس امتیاز AOFAS، آن دسته از بیماران که به روش نخ محکم جراحی شده بودند، نتایج بهتری را در ارزیابی‌های ۱۸ ماهه‌ی خود بروز دادند. این برتری‌ها، در حوزه‌های درد و محدودیت حرکتی کمتر، مدت زمان و فاصله‌ی طولانی‌تر حرکت

جدول ۳، مقایسه‌ی امتیاز AOFAS در دو گروه مورد مطالعه را نشان می‌دهد. به طور کلی، روش جراحی نخ محکم نسبت به پیچ، برتری داشت. این برتری، در جنبه‌هایی نظیر میزان درد ( $P = ۰/۰۲۰$ )، محدودیت حرکتی ( $P = ۰/۰۳۰$ )، Maximum walk ( $P = ۰/۰۰۹$ ) و Maximum surface ( $P = ۰/۰۰۹$ ) معنی‌دار بود؛ در حالی که در سایر موارد، با وجود برتری روش جراحی نخ محکم، تفاوت معنی‌داری میان دو گروه مشاهده نشد.

## بحث

در مطالعه‌ی حاضر، با توجه به اهمیت بازتوانی پس از آسیب Syndesmosis مچ پا و اهمیت آن در حفظ تعادل و ثبات بدن فرد، دو

یافت نگردید (۱۳).

در مطالعه‌ی متاآنالیز اخیر که توسط Chen و همکاران انجام گرفت، روش نخ محکم به عنوان روش برتر گزارش گردید. این برتری، بر اساس نیاز به جراحی مجدد، امتیازهای بالاتر AOFAS و زمان تحمل وزن سریع‌تر این روش یافت شد (۱۴). البته، مطالعات متنوعی نیز وجود دارند که بر اساس امتیازبندی AOFAS، برتری روش نخ محکم بر روش پیچ را نشان نمی‌دهند (۱۷-۱۵). نتیجه‌گیری نهایی این که طبق یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، روش جراحی نخ محکم به صورت کلی نسبت به روش پیچ برتر بود؛ در حالی که این برتری در تمامی زمینه‌ها یافت نگردید. مهم‌ترین محدودیت مطالعه‌ی حاضر، عدم ارزیابی عوارض ناشی از هر یک از روش‌های ثابت‌سازی می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر بر اساس طرح پژوهشی کد ۳۹۷۲۶۹ مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گرفت. همچنین، این طرح پژوهشی با کد IRCT20190219042756N1 مورد تأیید مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران قرار گرفت. پژوهشگران مراتب تقدیر و تشکر خود را از کارکنان اتاق عمل ارتوپدی بیمارستان‌های الزهرا (س) و آیت‌اله کاشانی اعلام می‌دارند.

بودند. سایر ارزیابی‌ها، شامل Flexion دورسال و پلانتر، حرکات در محور Sagittal، حرکت Hind foot و شاخص عملکرد در میان دو گروه تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد.

در حالی که برخی از مطالعات، ضعف روش ثابت‌سازی نخ محکم را به علت ثبات ناکافی گزارش نموده‌اند؛ Miller و همکاران، در مطالعه‌ای بر روی جسد (Cadaver)، نیروی کافی را جهت حفظ ثبات Syndesmosis مچ پا به دنبال جراحی به روش نخ محکم گزارش نمودند. آن‌ها گزارش نمودند که استفاده از تنها دو رشته‌ی Wire-suture در میان تونل استخوانی، نیرویی معادل Tricortical-screw ایجاد نمود. بنابراین، مشابه با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، Miller و همکاران نیز برتری روش ثابت‌سازی با نخ را گزارش نمودند (۱۱)؛ در حالی که مطالعه بر روی جسد دیگری، افزایش قابل توجه دیاستاز را حین External Rotation طی جراحی نخ محکم در مقایسه با جراحی پیچ با قطر ۴/۵ میلی‌متر گزارش نمودند (۱۲) و یافته‌های آنان با نتایج مطالعه‌ی حاضر متفاوت بود.

در مطالعه‌ای که توسط Coetzee و Ebeling انجام گرفت، امتیاز AOFAS مچ پا و Hind foot پس از جراحی به روش‌های پیش‌گفته مقایسه گردید. در این مطالعه، طی یک دوره‌ی ۲۷ ماهه پی‌گیری بیماران، تفاوت معنی‌داری میان دو روش نخ محکم و پیچ

### References

1. Teramoto A, Kura H, Uchiyama E, Suzuki D, Yamashita T. Three-dimensional analysis of ankle instability after tibiofibular syndesmosis injuries: A biomechanical experimental study. *Am J Sports Med* 2008; 36(2): 348-52.
2. Dattani R, Patnaik S, Kantak A, Srikanth B, Selvan TP. Injuries to the tibiofibular syndesmosis. *J Bone Joint Surg Br* 2008; 90(4): 405-10.
3. Wright RW, Barile RJ, Surprenant DA, Matava MJ. Ankle syndesmosis sprains in national hockey league players. *Am J Sports Med* 2004; 32(8): 1941-5.
4. Naqvi GA, Shafqat A, Awan N. Tightrope fixation of ankle syndesmosis injuries: clinical outcome, complications and technique modification. *Injury* 2012; 43(6): 838-42.
5. Cottom JM, Hyer CF, Philbin TM, Berlet GC. Treatment of syndesmotic disruptions with the Arthrex Tightrope: A report of 25 cases. *Foot Ankle Int* 2008; 29(8): 773-80.
6. Bell DP, Wong MK. Syndesmotic screw fixation in Weber C ankle injuries--should the screw be removed before weight bearing? *Injury* 2006; 37(9): 891-8.
7. Teramoto A, Suzuki D, Kamiya T, Chikenji T, Watanabe K, Yamashita T. Comparison of different fixation methods of the suture-button implant for tibiofibular syndesmosis injuries. *Am J Sports Med* 2011; 39(10): 2226-32.
8. Coetzee JC, Ebeling P. Treatment of syndesmosis disruptions with TightRope fixation. *Techniques in Foot and Ankle Surgery* 2008; 7(3): 196-202.
9. Moore JA, Shank JR, Morgan SJ, Smith WR. Syndesmosis fixation: A comparison of three and four cortices of screw fixation without hardware removal. *Foot Ankle Int* 2006; 27(8): 567-72.
10. Kortekangas T, Savola O, Flinkkila T, Lepojarvi S, Nortunen S, Ohtonen P, et al. A prospective randomised study comparing TightRope and syndesmotic screw fixation for accuracy and maintenance of syndesmotic reduction assessed with bilateral computed tomography. *Injury* 2015; 46(6): 1119-26.
11. Miller RS, Weinhold PS, Dahners LE. Comparison of tricortical screw fixation versus a modified suture construct for fixation of ankle syndesmosis injury: A biomechanical study. *J Orthop Trauma* 1999; 13(1): 39-42.
12. Forsythe K, Freedman KB, Stover MD, Patwardhan AG. Comparison of a novel Fiber Wire-button construct versus metallic screw fixation in a syndesmotic injury model. *Foot Ankle Int* 2008; 29(1): 49-54.
13. Coetzee JC, Ebeling PB. Treatment of syndesmosis disruptions: A prospective, randomized study comparing conventional screw fixation vs TightRope-

- « fiber wire fixation - medium term results. SA Orthopaedic Journal 2009; 8(1): 32-7.
14. Chen B, Chen C, Yang Z, Huang P, Dong H, Zeng Z. To compare the efficacy between fixation with tightrope and screw in the treatment of syndesmotric injuries: A meta-analysis. *Foot Ankle Surg* 2019; 25(1): 63-70.
15. Degroot H, Al-Omari AA, El Ghazaly SA. Outcomes of suture button repair of the distal tibiofibular syndesmosis. *Foot Ankle Int* 2011; 32(3): 250-6.
16. McMurray D, Hornung B, Venkateswaran B, Ali Z. Walking on a tightrope: Our experience in the treatment of traumatic ankle syndesmosis rupture. *Injury Extra* 2008; 39(5): 182.
17. Inge SY, Pull Ter Gunne AF, Aarts CAM, Bemelman M. A systematic review on dynamic versus static distal tibiofibular fixation. *Injury* 2016; 47(12): 2627-34.

## Comparison of Tightrope Fixation and Tricortical-Screw Fixation in Treatment of Ankle Syndesmosis Injuries

Shirvan Rastegar<sup>1</sup>, Sina Talebi<sup>2</sup>, Sajad Talebi<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Ankle syndesmosis injury is among the common ankle injuries. This injury results in a long-term inability to perform physical activities. Various surgical techniques have been experimented that each accompanies with limitations, advantages, and disadvantages, and controversial outcomes have been presented. In the current study, two techniques of tightrope and tricortical-screw fixation were compared.

**Methods:** The current randomized clinical trial study was conducted on 30 patients with ankle syndesmosis injury in the Alzahra and Kashani hospitals, Isfahan, Iran, during the years 2014-17. The patients were randomly divided into two groups of tightrope and tricortical-screw treatments. The two groups were followed and compared considering the range of motion, American Orthopedic Foot and Ankle Society (AOFAS) score, required time for return to work, and need for reoperation within 6, 12, and 18 months.

**Findings:** Patients of the two groups were not different regarding age, gender, and body mass index (BMI) ( $P > 0.050$ ); but the recovery time and need for reoperation were significantly less in tightrope group ( $P < 0.001$ ). According to AOFAS score, tightrope group was better considering pain, activity limitation, maximum walk, and walk surface ( $P < 0.050$ ); but they were not statistically different regarding plantar and dorsiflexion, gait, sagittal motion, hind foot motion, and function ( $P > 0.050$ ).

**Conclusion:** Based on the findings of the current study, tightrope fixation technique was accompanied with better outcomes in comparison to tricortical-screw fixation in ankle syndesmosis injury.

**Keywords:** Ankle syndesmosis, Ankle injuries, Fracture fixation

**Citation:** Rastegar S, Talebi S, Talebi S. Comparison of Tightrope Fixation and Tricortical-Screw Fixation in Treatment of Ankle Syndesmosis Injuries. J Isfahan Med Sch 2019; 37(539): 982-8.

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

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

3- General Practitioner, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Sina Talebi, Email: sinatalebi\_3969@yahoo.com



## مداخله‌ی عصب روان‌شناختی بر عملکرد درک و تشخیص رنگ در کودکان کم‌بینا به وسیله‌ی سامانه‌ی محرک نوری: پژوهش مورد منفرد

الهه مودنی<sup>۱</sup>، سعید کرمانی<sup>۲</sup>، سالار فرامرزی<sup>۳</sup>، فاطمه توکلی<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** بخشی از اختلالات بینایی به ویژه کم‌بینایی، ناشی از کارکرد ناقص عصب بینایی است. کودکان کم‌بینا، با عوارض و مشکلاتی از قبیل انزوای اجتماعی، بی‌علاقگی به فعالیت‌ها، افزایش وابستگی به دیگران و تأخیر تحول شناختی همراه می‌باشند. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر مداخلات عصب- روان‌شناختی بر عملکرد دیداری در کودکان کم‌بینا در حوزه‌ی درک نور، تشخیص و درک رنگ با به‌کارگیری تمرینات توان‌بخشی ویژه با استفاده از سامانه‌ی محرک نوری (Optical stimulus system یا OSS) بود.

**روش‌ها:** در این پژوهش، ارزیابی عملکرد بینایی در پاسخ به تمرینات پیاده‌سازی شده بر مبنای متغیرهای وابسته به روش مورد منفرد بر روی ۵ کودک کم‌بینا، به گونه‌ای طراحی شد که ۴ جلسه‌ی سنجش خط پایه، ۸ جلسه‌ی مداخله‌ی تمرینات توان‌بخشی با OSS و ۴ جلسه‌ی پی‌گیری جهت بررسی پایانی اثر تمرینات، انجام شد و جهت ارزیابی، از محاسبه و میانگین درصد داده‌های غیر هم‌پوش (Percentage of non-overlapping data یا PND) و هم‌پوش (Percentage of overlapping data یا POD) برای متغیرها استفاده گردید.

**یافته‌ها:** میانگین نمرات POD و PND برای کلیه‌ی آزمودنی‌ها و برای همه‌ی متغیرها به ترتیب ۹۲/۵ درصد و ۷/۵ درصد و به طور متوسط نمرات در مرحله‌ی مداخله ۱۴/۸۴ درصد و در دوره‌ی پایایی، ۱۳/۷۳ درصد نسبت به خط پایه افزایش داشت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان دهنده‌ی بهبود هر ۵ آزمودنی در عملکرد درک و تشخیص نور و رنگ بود.

**واژگان کلیدی:** مطالعات مداخله‌ای، عصب- روان‌شناختی، حدت بینایی، سیستم نوری، تحریک بینایی، رنگ، درک

**ارجاع:** مودنی الهه، کرمانی سعید، فرامرزی سالار، توکلی فاطمه. مداخله‌ی عصب روان‌شناختی بر عملکرد درک و تشخیص رنگ در کودکان کم‌بینا به وسیله‌ی سامانه‌ی محرک نوری: پژوهش مورد منفرد. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۳۹): ۹۹۳-۹۸۹

### مقدمه

ارگونومیک، می‌تواند نقش مؤثری در فرایند رشد این کودکان داشته باشد (۲). بسیاری از این کودکان، مقداری باقی‌مانده‌ی بینایی دارند. همچنین، بهبود عملکرد بینایی ذاتی نیست و نیاز به محرک‌هایی برای استفاده از باقی‌مانده‌ی بینایی دارد. این کودکان، قادرند در مهارت‌های دیداری، در سطوح مختلفی پیشرفت کنند (۱). مهارت‌های ضروری و اولیه شامل تشخیص نور و ادراک و تشخیص رنگ، میزان تأثیر استفاده از سرویس‌های توان‌بخشی بر روی افراد کم‌بینا، نشان می‌دهد که استفاده از دستگاه‌های کمک توان‌بخشی برای این افراد، باعث بهبود عملکرد بینایی و افزایش کیفیت زندگی و داشتن استقلال و

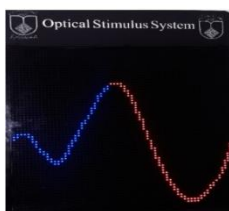
کودکان کم‌بینا، مطابق با تعریف (WHO) World Health Organization، به مشکلاتی نظیر انزوای اجتماعی، بی‌علاقگی به فعالیت‌ها، افزایش وابستگی به دیگران و تأخیر تحول شناختی مبتلا می‌باشند. بیشترین میزان رشد در شش سال اول زندگی شکل می‌گیرد و رشد حرکات در این دوران، بر رشد جسمانی، شناختی، اجتماعی، اخلاقی و غیره اثرگذار است (۱). به همین دلیل، بر روی سامانه‌ی محرک نوری (Optical stimulus system یا OSS)، تمرینات توان‌بخشی با هدف ارتقای سطح آموزش و عملکرد بینایی کودکان کم‌بینا پیاده‌سازی شد که به کارگیری آن با جذابیت و عملکرد

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی پزشکی (بیوالکترونیک)، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین در علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۲- دانشیار، گروه مهندسی پزشکی (بیوالکترونیک)، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین در علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۳- دانشیار، گروه روان‌شناسی و آموزش کودکان با نیازهای خاص، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
- ۴- روان‌شناس، مرکز توان‌بخشی خانواده و کودک کم‌بینا و نابینای توکل، اصفهان، ایران

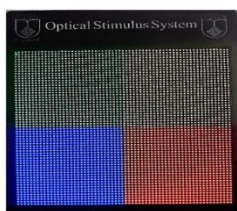
Email: kermani@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: سعید کرمانی

انتخاب تعداد جلسات برای رسیدن به ثبات در آن موقعیت برای انتقال به موقعیت بعدی بود. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از تحلیل دیداری نمودارها با شاخص‌های ثبات، روند، میانگین نمرات هر موقعیت و درصد داده‌های غیر هم‌پوش (Percentage of non-overlapping data یا PND) و هم‌پوش (Percentage of overlapping data یا POD) برای تمامی متغیرها و نیز همه‌ی آزمودنی‌ها استفاده شد.



ب



الف

شکل ۱. نمای سامانه‌ی محرک نوری در دو وضعیت تمرین: الف: یک چهارم صفحه و ب: ردیابی منحنی

### یافته‌ها

با جمع‌آوری نمرات خام جلسات آزمون در مراحل خط پایه، مداخله و پی‌گیری و با محاسبه‌ی شاخص‌های مطالعه‌ی مورد منفرد برای هر ۳ متغیر وابسته، بر روی هر ۵ آزمودنی و محاسبه‌ی میانگین نمرات کلی برای همه‌ی متغیرهای وابسته‌ی یک آزمودنی مطابق جدول ۱ مشخص شد نمرات POD و PND برای تمام آزمودنی‌ها و برای همه‌ی متغیرها به ترتیب ۹۲/۵ درصد و ۷/۵ درصد و به طور متوسط نمرات در مرحله‌ی مداخله ۱۴/۸۴ درصد و در دوره‌ی پایانی ۱۳/۸۳ درصد نسبت به خط پایه افزایش داشته است.

### بحث

پژوهش حاضر، یک آزمایش کنترل شده بود که بر روی ۵ نفر از کودکان کم‌بینای همگن به روش مورد منفرد با هدف بررسی اثربخشی مداخلات عصب-روان‌شناختی با متغیرهای وابسته‌ی بیان شده انجام گرفت و نتایج حاصل، نشان داد که این مداخلات، می‌تواند بر عملکرد دیداری کودکان کم‌بینا مؤثر باشد. همچنین، بررسی‌ها نشان می‌دهد در بیماری‌های Stargardt، Age-related macular degeneration و Central scotoma (AMD) که باعث تخریب شبکه‌ی و از بین رفتن بینایی از طریق نقص در دید مرکزی می‌شود و ناپایداری تثبیت را به همراه دارد، توان‌بخشی از طریق بازخورد زیستی (Biofeedback) Microperimetry، باعث پایداری در تثبیت، سرعت خواندن، افزایش حساسیت شبکه‌ی و بهبود عملکرد بینایی می‌شود.

احساس اعتماد به نفس و رضایت از بینایی خواهد شد (۱۲-۳). این پژوهش، با هدف به کارگیری OSS بر روی افراد کم‌بینای داوطلب در درمانگاه توان‌بخشی توکل و ارزیابی اثربخشی آن بر عملکرد بینایی آن‌ها از سه جنبه‌ی پیش‌گفته، به منظور ارزیابی روش کارآمد جهت ارتقای بینایی این افراد با به کارگیری این سامانه انجام شد.

### روش‌ها

تعداد ۵ کودک کم‌بینای مراجعه کننده به مرکز توان‌بخشی توکل، با رعایت نکات اخلاق در پژوهش وارد مطالعه شدند. ارزیابی سامانه‌ی محرک نوری به روش مطالعه‌ی مورد منفرد انجام گرفت و نتیجه‌گیری درباره‌ی اثربخشی بودن این سامانه نیز با استفاده از تحلیل نتایج این نوع از مطالعه انجام گرفت. معیارهای ورود به مطالعه، شامل دارا بودن سن ۶-۳ سال، نداشتن اختلال حسی دیگر به جز حس بینایی (بر اساس اطلاعات پرونده‌ی پزشکی کودکان) و همچنین، نداشتن بیماری‌هایی نظیر اوتیسم و بیش‌فعالی بودند که با بررسی و مصاحبه‌ی سیاهه‌ی رفتاری کودکان تعیین شد. این کودکان، واجد معیارهای ورود و به نسبت همگن بودند. متغیر مستقل در این پژوهش، اجرای مداخلات عصب-روان‌شناختی و سه متغیر وابسته، تشخیص نور، ادراک رنگ و تشخیص رنگ بودند.

این طرح، در کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با کد IR.MUI.REC.1396.3.961 تصویب شد و سپس در مرکز کارآزمایی‌های بالینی ایران با شماره‌ی IRCT20190620043955N1 به ثبت رسید.

**تمرینات:** سامانه شامل صفحه‌ای با ابعاد  $64 \times 64$  سانتی‌متر مربع منبع نوری رنگی با شدت نور قابل تنظیم می‌باشد. با انتخاب منوی مربوط به متغیر درک نور و رنگ بر روی نمایشگر سامانه، رنگ‌های قرمز، زرد، سبز و آبی هنگام کلیک دکمه‌ها توسط کودک انتخاب و نمایان می‌شود. در تمرین دیگری، منوهای برای نمایش رنگ‌ها به طور تمام صفحه و یا قرار گرفتن رنگ‌ها به صورت نیم صفحه و یک چهارم صفحه در کنار یکدیگر تعبیه شده است و سامانه، قابلیت انتخاب رنگ‌های مشابه و انطباق آن‌ها در کنار یکدیگر را نیز دارد. همچنین، ردیابی رنگ‌ها بر روی یکدیگر با خطوط منحنی و شکسته نیز از جمله منوهای این سامانه است. در شکل ۱، سامانه‌ی مورد استفاده (OSS) در دو وضعیت پیش‌گفته مشاهده می‌شود.

با هدف بهبود متغیرهای وابسته، تمرینات بر روی OSS طراحی و پیاده‌سازی شد. آزمودنی‌ها ضمن این که آموزش‌ها و تمرینات متداول مرکز را دریافت می‌کردند، وارد مطالعه شدند؛ به گونه‌ای که ۴ جلسه‌ی خط پایه‌ی آن‌ها سنجیده شد. سپس، ۸ جلسه‌ی مداخله با OSS انجام شد. پس از آن، ۴ جلسه‌ی پی‌گیری جهت بررسی پایانی اثر تمرینات، صورت گرفت. طبق معیارهای تحلیل مورد منفرد،

جدول ۱. میانگین نمرات و هم‌پوشی داده‌های هر متغیر برای آزمودنی‌ها

آزمودنی‌ها	نام متغیر	خط پایه	مداخله	پی‌گیری	PND	POD
آزمودنی ۱	تشخیص نور	۸/۵۰	۱۰/۰۰	۸/۰۰	۱۰۰	۰
	ادراک رنگ	۲۳/۵۰	۲۶/۰۰	۲۴/۰۰	۱۰۰	۰
	تشخیص رنگ	۱۰/۰۰	۱۴/۰۰	۱۳/۰۰	۱۰۰	۰
آزمودنی ۲	تشخیص نور	۸/۰۰	۸/۰۰	۸/۰۰	۱۰۰	۰
	ادراک رنگ	۲۴/۰۰	۲۴/۰۰	۲۴/۰۰	۱۰۰	۰
	تشخیص رنگ	۹/۰۰	۱۳/۷۵	۱۴/۲۵	۱۰۰	۰
آزمودنی ۳	تشخیص نور	۱۰/۰۰	۹/۷۵	۱۰/۰۰	۸۷/۵۰	۱۲/۵۰
	ادراک رنگ	۲۷/۵۰	۲۹/۲۵	۳۰/۰۰	۸۷/۵۰	۱۲/۵۰
	تشخیص رنگ	۱۶/۰۰	۱۷/۰۰	۲۰/۰۰	۱۰۰	۰
آزمودنی ۴	تشخیص نور	۹/۰۰	۱۰/۰۰	۱۰/۰۰	۱۰۰	۰
	ادراک رنگ	۲۶/۰۰	۶۲/۶۲	۳۰/۰۰	۱۲/۵۱	۸۷/۵۰
	تشخیص رنگ	۱۰/۰۰	۱۵/۳۷	۱۰/۵۰	۱۰۰	۰
آزمودنی ۵	تشخیص نور	۸/۰۰	۸/۰۰	۸/۰۰	۱۰۰	۰
	ادراک رنگ	۲۱/۵۰	۲۳/۷۵	۲۴/۰۰	۱۰۰	۰
	تشخیص رنگ	۵/۷۵	۱۲/۸۷	۱۱/۲۵	۱۰۰	۰
کلیه‌ی آزمودنی‌ها	تشخیص نور	۸/۷۰	۹/۱۵	۹/۰۰	۹۷/۵۰	۲/۵۰
کلیه‌ی آزمودنی‌ها	ادراک رنگ	۲۴/۵۰	۲۵/۹۳	۲۶/۴۰	۸۰/۰۰	۲۰/۰۰
کلیه‌ی آزمودنی‌ها	تشخیص رنگ	۱۰/۱۵	۱۴/۶۰	۱۳/۸۰	۱۰۰	۰
کلیه‌ی آزمودنی‌ها	هر سه متغیر	۱۴/۴۲	۱۶/۵۶	۱۶/۴۰	۹۲/۵۰	۷/۵۰

POD: Percentage of overlapping data; PND: Percentage of non-overlapping data

از جمله محدودیت‌های پژوهش حاضر، کوچک بودن نمونه‌ی مطالعه است. همچنین، سعی شد که ۵ آزمودنی در جنبه‌های مختلف با یکدیگر همگن باشند، اما این احتمال وجود دارد که عوامل دیگری باشد که همگنی کامل آزمودنی‌ها را تحت تأثیر قرار دهد.

پیشنهاد می‌شود جهت ارزیابی دقیق‌تر، این آزمایش بر روی گروه بزرگ‌تر با گستره‌ی سنی وسیع‌تری از کودکان انجام گیرد. با توجه به نتایج مثبت مطالعه، پیشنهاد می‌گردد با به کارگیری این سامانه در مراکز توان‌بخشی کودکان کم‌بینا، گام مؤثری در نیل به اهداف سالیانه‌ی سازمان بهداشت جهانی برداشته شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۳۹۶۹۶۱ مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جهت ارزیابی و ارتقای سیستم تحریک نوری به منظور سامانه‌ی ارگونومیک برای تمرین کودکان کم‌بینا است. نویسندگان، از این معاونت جهت تأمین هزینه‌ی اجرای طرح تشکر و قدردانی می‌کنند. همچنین، از کارشناسان و پرسنل مرکز توان‌بخشی خانواده و کودک کم‌بینا و نابینای توکل و نیز خانواده‌های کودکان شرکت‌کننده، نهایت تقدیر و تشکر خود را اعلام می‌دارند.

همچنین، به دلیل این که دید مرکزی و محیطی، اطلاعاتی از محیط اطراف به فرد می‌دهد و در افراد کم‌بینا عملکرد آن‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد، در صورتی که برای این افراد از تمرینات ادراکی شامل بازی‌های ویدئویی فعال یا کنترل شده و یا تشخیص حرکات غیر قابل پیش‌بینی برای توجه و ردیابی استفاده شود، موجب بهبود درک از محیط برای آن‌ها خواهد شد. نتایج این پژوهش در استفاده از سامانه‌های توان‌بخشی پیشرفته برای بهبود عملکرد بینایی و کیفیت زندگی با نتایج سایر پژوهش‌های انجام شده در این حوزه مطابق و همسو است (۱۷-۱۳).

همان‌طور که پس از طراحی و پیاده‌سازی این سامانه، ارزیابی اثربخشی آن در مرحله‌ی اول توسط متخصصین مرکز توان‌بخشی به اثبات رسید، پس از انجام ارزیابی بالینی، نتایج نشان می‌دهند که به طور کلی، اجرای تمرینات و مداخلات بر روی آزمودنی‌ها، دارای نمره‌ی پی‌گیری بالاتری نسبت به نمره‌ی خط پایه بوده است و مؤید اثربخش بودن تمرینات توان‌بخشی پیاده‌سازی شده متناسب با اهداف بیان شده است و نتایج این پژوهش نیز هم‌راستا با پژوهش‌های پیشین (۲۱-۱۸)، تأثیر مثبت استفاده از خدمات توان‌بخشی بر کودکان کم‌بینا را نشان می‌دهد.

## References

1. Dhana Lakshmi K. Role of teachers in enhancing visual efficiency of children with low vision through functional vision training. *Int J Adv Res* 2016; 4(6): 2090-3.
2. Kermani S, Moazeni E, Tavakoli F, Kermani A. Design and implementation of optical stimulus system for rehabilitation and development of visual functions in children with low vision. *Optik* 2019; 198: 163210.
3. Tailor VK, Abou-Rayyah Y, Brookes J, Khaw PT, Papadopoulos M, Adams GGW, et al. Quality of life and functional vision in children treated for cataract-a cross-sectional study. *Eye (Lond)* 2017; 31(6): 856-64.
4. Dahlmann-Noor A, Tailor V, Abou-Rayyah Y, Adams G, Brookes J, Khaw PT, et al. Functional vision and quality of life in children with microphthalmia/anophthalmia/coloboma-a cross-sectional study. *J AAPOS* 2018; 22(4): 281-5.
5. Li M, Zhu W, Sun X. New approaches to visual rehabilitation training for patients with visual field defects. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2015; 51(7): 552-6. [In Chinese].
6. Trauzettel-Klosinski S. Current possibilities of visual rehabilitation. *Ophthalmologe* 2018; 115(10): 895-910. [In German].
7. Dundon NM, Bertini C, Ladavas E, Sabel BA, Gall C. Visual rehabilitation: Visual scanning, multisensory stimulation and vision restoration trainings. *Front Behav Neurosci* 2015; 9: 192.
8. Takahashi G, Otori Y, Urashima M, Kuwayama Y. Evaluation of quality of life in Japanese glaucoma patients and its relationship with visual function. *J Glaucoma* 2016; 25(3): e150-e156.
9. AlDarrab A, Al Qurashi M, Al Thiabi S, Khandekar R, Edward DP. Functional visual ability and quality of life in children with glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2019; 200: 95-9.
10. Dahlmann-Noor A, Tailor V, Bunce C, Abou-Rayyah Y, Adams G, Brookes J, et al. Quality of life and functional vision in children with glaucoma. *Ophthalmology* 2017; 124(7): 1048-55.
11. Wu N, Kong X, Gao J, Sun X. Vision-related quality of life in glaucoma patients and its correlations with psychological disturbances and visual function indices. *J Glaucoma* 2019; 28(3): 207-15.
12. Shah P, Schwartz SG, Gartner S, Scott IU, Flynn HW. Low vision services: a practical guide for the clinician. *Ther Adv Ophthalmol* 2018; 10: 2515841418776264.
13. Ramirez Estudillo JA, Leon Higuera MI, Rojas JS, Ordaz Vera ML, Pablo SY, Celis SB. Visual rehabilitation via microperimetry in patients with geographic atrophy: A pilot study. *Int J Retina Vitreous* 2017; 3: 21.
14. Scuderi G, Verboschi F, Domanico D, Spadea L. Fixation improvement through biofeedback rehabilitation in stargardt disease. *Case Rep Med* 2016; 2016: 4264829.
15. Ratra D, Gopalakrishnan S, Dalan D, Ratra V, Damkondwar D, Laxmi G. Visual rehabilitation using microperimetric acoustic biofeedback training in individuals with central scotoma. *Clin Exp Optom* 2019; 102(2): 172-9.
16. Nyquist JB, Lappin JS, Zhang R, Tadin D. Perceptual training yields rapid improvements in visually impaired youth. *Scientific Reports* 2016; 6: 37431.
17. Ratra D, Rakshit A, Ratra V. Visual rehabilitation using video game stimulation for stargardt disease. *Ther Adv Ophthalmol* 2019; 11: 2515841419831158.
18. Acton JH, Molik B, Binns A, Court H, Margrain TH. Effect of rehabilitation worker input on visual function outcomes in individuals with low vision: Study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* 2016; 17: 105.
19. Arya SK, Kalia A, Pant K, Sood S. Low vision devices. *Nepal J Ophthalmol* 2010; 2(1): 74-7.
20. Decarlo DK, McGwin G, Jr., Searcey K, Gao L, Snow M, Stevens L, et al. Use of prescribed optical devices in age-related macular degeneration. *Optom Vis Sci* 2012; 89(9): 1336-42.
21. Kavitha V, Manumali MS, Praveen K, Heralgi MM. Low vision aid-A ray of hope for irreversible visual loss in the pediatric age group. *Taiwan J Ophthalmol* 2015; 5(2): 63-7.

## The Effect of Neuropsychological Interventions by Optical Stimulus System on Color Recognitions in Children with Low Vision: A Single Subject Study

Elaheh Moazeni<sup>1</sup>, Saeed Kermani<sup>2</sup>, Salar Faramarzi<sup>3</sup>, Fatemeh Tavakolli<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Optic nerve lesions cause a group of visual impairment and especially low vision. Children with this defect have problems such as social isolation, lack of commitment to activities, increased dependence on others, and delayed cognitive development. In this research, we aimed to study the effect of neuropsychological interventions by using an optical stimulus system (OSS) (in the other words, applying special rehabilitation exercises) on visual performance, perception and recognition of light and color in children with low vision.

**Methods:** In this study, visual acuity assessment was performed in response to the exercises based on the dependent variables of the single subject method on 5 children with low vision. First, 4 sessions of their baseline were measured, and then, 8 intervention session was conducted with the optical stimulator of rehabilitation exercises. Follow-up sessions were conducted to assess the effect of the exercises, and the mean of the percentage of non-overlapping data (PND) and percentage of overlapping data (POD) for variables were used to evaluate the effect of the exercises.

**Findings:** Mean POD and PND scores for all subjects and for all variables were 92.5% and 7.5%, respectively. The average scores in the intervention phase increased by 14.84%, and the scores in the follow-up period were 13.73% higher than the baseline.

**Conclusion:** The results showed improvement in the performance of all 5 children in the perception and recognition of light and color.

**Keywords:** Intervention study, Neuropsychology, Visual acuity, Optical system, Visual stimulation, Color, Perception

**Citation:** Moazeni E, Kermani S, Faramarzi S, Tavakolli F. **The Effect of Neuropsychological Interventions by Optical Stimulus System on Color Recognitions in Children with Low Vision: A Single Subject Study.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(539): 989-93.

1- MSc Student, Department of Bioelectrics and Biomedical Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Bioelectrics and Biomedical Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Psychology and Education of Children with Special Needs, School of Education and Psychology, University of Isfahan, Isfahan, Iran

4- Psychiatrist, Tavakol Rehabilitation Center of Family and Low Vision and Blindness Children, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Saeed kermani, Email: kermani@med.mui.ac.ir

## *Editorial Board (In alphabetical order)*

1. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada; khosrow.adeli@sickkids.ca
2. **Ali Akhavan** MD, Assistant Professor of Radiation Oncology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran ali52akhavan@yahoo.com
3. **Mohammadreza Akhlaghi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; akhlaghi@med.mui.ac.ir
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran; aminr@sums.ac.ir
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran amra@med.mui.ac.ir
6. **Saeed A. Jortani** PhD, Professor of Pathology, University of Louisville, Louisville, KY, USA; sajort01@louisville.edu
7. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; bagherian@med.mui.ac.ir
8. **Majid Barekatin** MD, Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran barekatin@med.mui.ac.ir
9. **Ken Bassett** MD, PhD, Professor of Therapeutics Initiative, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada; bassett@chspr.ubc.ca
10. **Ahmad Chitsaz** MD, Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; chitsaz@med.mui.ac.ir
11. **Afsoon Emami-Naini** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; af\_emami@med.mui.ac.ir
12. **Shahin Emami** Department of Biochemistry, Saint Antoine Hospital, Paris, France; shahin.emami@cgc.edu
13. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; esfandiari@med.mui.ac.ir
14. **Ahmad Esmailzadeh** PhD, Professor of Nutrition, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; esmaillzadeh@hlth.mui.ac.ir
15. **Ziba Farajzadegan** MD, Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; farajzadegan@med.mui.ac.ir
16. **Aziz Gahari** MD, Professor Plastic Surgery, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada; aziz.ghahary@ubc.ca
17. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; golshahi@med.mui.ac.ir
18. **Mostafa Hashemi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mostafahashemi60@gmail.com
19. **Saied Morteza Heidari** MD, Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m\_heidari@med.mui.ac.ir
20. **Ali Hekmatnia** MD, Professor of Radiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; hekmatnia@med.mui.ac.ir
21. **Fariba Iraj** MD, Professor of Dermatology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; iraji@med.mui.ac.ir
22. **Faramarz Ismail-Beigi** MD, PhD, Professor of Endocrinology, University Hospitals Cleveland Medical Center, Cleveland, OH, USA; faramarz.ismail-beigi@case.edu
23. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; kelishadi@med.mui.ac.ir
24. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics and Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; khani@med.mui.ac.ir
25. **Majid Kheirollahi** PhD, Associate Professor of Genetics and Molecular Biology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mkheirollahi@med.mui.ac.ir
26. **Parvin Mahzouni** MD, Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mahzouni@med.mui.ac.ir
27. **Marjan Mansourian** PhD, Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; j\_mansourian@hlth.mui.ac.ir
28. **Mohammad Mardani** MD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; mardani@med.mui.ac.ir
29. **Mehdi Modarres-Zadeh** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; mmodarres51@yahoo.com
30. **Etie Moghisi** MD, Associate Professor of Endocrinology, Marina Diabetes and Endocrinology Center, Marina del Rey, CA, USA; emoghissi@gmail.com
31. **Mohammadreza Nourbakhsh** PhD, Professor of Physiotherapy, North Georgia College, Dahlonega, GA, USA; reza.nourbakhsh@ung.edu
32. **Farzin Pourfarzad** PhD, Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands; f.pourfarzad@erasmusmc.nl
33. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m\_pourmoghadas@med.mui.ac.ir
34. **Maryam Radahmadi** PhD, Associate Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; m\_radahmadi@med.mui.ac.ir
35. **Hassan Razmj** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; razmj@med.mui.ac.ir
36. **Reza Rouzbahani** MD, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; rouzbahani@med.mui.ac.ir
37. **Masih Saboori** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; saboori@edc.mui.ac.ir
38. **Mohammad Reza Safavi** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; safavi@med.mui.ac.ir
39. **Rasoul Salehi** PhD, Assistant Professor of Genetics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; r\_salehi@med.mui.ac.ir
40. **Mansour Sholevar** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; sholevar@med.mui.ac.ir
41. **Mohammadreza Sharifi** MD, PhD, Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; sharifi@med.mui.ac.ir
42. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran; masoud\_soheilian@yahoo.com



## JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 37, No. 539 3<sup>rd</sup> Week October 2019

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman: **Saied Morteza Heidari MD**

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

Editor-in-Chief: **Reza Khadivi MD**

---

**Owner:**

Isfahan University of Medical Sciences  
Email: [publications@mui.ac.ir](mailto:publications@mui.ac.ir)

**Office:**

P.O. Box 81744-176, Isfahan, Iran  
Tel/fax: +98 31 37922291  
Email: [jims@med.mui.ac.ir](mailto:jims@med.mui.ac.ir)  
Website: <http://jims.mui.ac.ir>

Executive Manager: Ali Moradi, Office Secretary: Golnaz Rajabi

**Publisher:**

Vesnu Publications

Email: [farapublications@gmail.com](mailto:farapublications@gmail.com)  
<http://farapub.com>

Tel/fax: +98 31 32224382  
Circulation: 500

---

**This journal is indexed in the following international indexers**

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

---

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.