

### مقاله های پژوهشی

- تعیین هویت مولکولی پاتوتیپ های EAEC و EPEC باکتری اشرشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری به روش Multiplex polymerase chain reaction و الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی آن ها ..... ۱۹۵۴  
 ناهید سلیمانی فرد، دکتر کیومرث امینی، دکتر غلامعلی مرادلی
- تأثیر تمرین هوازی بر غلظت پلاسمایی آنزیم مبدل آنژیوتنژین (ACE) زنان یائسه ..... ۱۹۶۵  
 مریم میرحاج، دکتر الهه طالبی گرکانی، دکتر رزینا فتحی، دکتر علی رضا صفرزاده
- استخراج و شناسایی میلوماسل در تصاویر میکروسکوپی آسپیراسیون مغز استخوان ..... ۱۹۷۶  
 زهرا سعیدی زاده، دکتر اردشیر طالبی، دکتر علیرضا مهري دهنوی، دکتر حسین ربانی، امید صراف زاده
- تأثیر عصاره‌ی الکلی پیاز (Allium cepa)، نعل کوهستان (Oliveria decumbens Vent) و سنبلک (Muscari neglectum) بر رشد تریکوموناس واژینالیس در شرایط In vitro ..... ۱۹۸۵  
 زهره فخریه کاشان، دکتر محسن اربابی، دکتر مهدی دلاوری، دکتر حسین هوشیار، دکتر محسن تقی زاده

### مقاله مروری

- مروری بر شواهد موجود: بررسی ارتباط رزوراترول و دیابت ..... ۱۹۹۳  
 ام‌البین کافشانی، دکتر رضا غیاثوند

### Original Articles

- Molecular Identification of Enteroaggregative and Enteropathogenic Escherichia Coli Pathotypes (EPEC and EAEC) Strains Isolated from Urinary Tract Infections and their Antibiotic Susceptibility Pattern .. 1964  
 Nahid Soleimanifard MSc, Kumarss Amini PhD, Gholamali Moradli PhD
- Effect of Aerobic Training on Concentration of Plasma Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) in Postmenopausal Women ..... 1975  
 Maryam Mirhaj, Elahe Talebi-Garakani PhD, Rozita Fathi PhD, Alireza Safarzadeh PhD
- Extraction and Recognition of Myeloma Cells in Microscopic Images of Bone Marrow Aspiration ..... 1984  
 Zahra Saeedizadeh, Ardeshir Talebi MD, Alireza Mehri-Dehnavi PhD, Hossein Rabbani PhD, Omid Sarrafzadeh MSc
- In-vitro Therapeutic Effect of Allium Cepa, Oliveria Decumbens Vent and Muscari Neglectum against Trichomonas Vaginalis ..... 1992  
 Zohreh Fakhrieh-Kashan MSc, Mohsen Arbabi PhD, Mahdi Delavari PhD, Hossein Hooshyar PhD, Mohsen Taghizadeh PhD

### Review Article

- The Relationship between Resveratrol and Diabetes Mellitus ..... 2005  
 Omolbanin Kafeshani MSc, Reza Ghiasvand PhD



## مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۳۱۰)، بهمن ماه دی ۱۳۹۳

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

**امور نشر:**  
(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)  
**شرکت فرزانتگان راداندیش**  
اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵  
**تلفن و دورنگار:** ۰۳۱۱-۶۶۸۶۳۰۲  
f.radandish@gmail.com  
www.farzaneganco.ir  
تیراژ: ۵۰۰ نسخه

**ناشر:**  
انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان  
**نشانی:** اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان  
E-mail: publications@mui.ac.ir  
**دفتر مجله:** دانشکده پزشکی  
صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶  
مسؤول دفتر: گلناز رجبی  
**تلفن:** ۰۳۱۱-۶۶۹۴۷۳۷  
**دورنگار:** ۰۳۱۱-۷۹۲۲۲۹۱  
E-mail: jims@med.mui.ac.ir  
**وب سایت مجله:** http://www.journals.mui.ac.ir/jims

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

## راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

#### **اگر منبع مورد نظر مقاله است:**

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

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

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

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

#### **اگر منبع مورد نظر کتاب است:**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## فهرست مطالب

### مقاله‌های پژوهشی

تعیین هویت مولکولی پاتوتیپ‌های EAEC و EPEC باکتری اشرشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری به روش Multiplex polymerase chain reaction و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها..... ۱۹۵۴  
ناهید سلیمانی فرد، دکتر کیومرث امینی، دکتر غلامعلی مرادلی

تأثیر تمرین هوازی بر غلظت پلاسمایی آنزیم میدل آنژیوتنسین (ACE) زنان یائسه..... ۱۹۶۵  
مریم میرحاج، دکتر الهه طالبی گرکانی، دکتر رزینا فتیحی، دکتر علی‌رضا صفرزاده

استخراج و شناسایی میلوماسل در تصاویر میکروسکوپی اسپیراسیون مغز استخوان..... ۱۹۷۶  
زهرا سعیدی‌زاده، دکتر اردشیر طالبی، دکتر علیرضا مهری دهنوی، دکتر حسین ربانی، امید صراف‌زاده

تأثیر عصاره‌ی الکی پیاز (*Allium cepa*)، لعل کوهستان (*Oliveria decumbens Vent*) و سنبلک (*Muscari neglectum*) بر رشد تریکوموناس واژینالیس در شرایط *In vitro*..... ۱۹۸۵  
زهرا فخریه کاشان، دکتر محسن اربابی، دکتر مهدی دلاوری، دکتر حسین هوشیار، دکتر محسن تقی‌زاده

### مقاله مروری

مروری بر شواهد موجود: بررسی ارتباط رزوراترول و دیابت..... ۱۹۹۳  
ام‌البنین کافشانی، دکتر رضا غیاثوند

## تعیین هویت مولکولی پاتوتیپ‌های Enteropathogenic و Enteroaggregative باکتری اشرشیاکلی (EPEC و EAEC) جدا شده از عفونت ادراری به روش Multiplex polymerase chain reaction و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

ناهید سلیمانی‌فرد<sup>۱</sup>، دکتر کیومرث امینی<sup>۲</sup>، دکتر غلامعلی مرادلی<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** برخی از سویه‌های پاتوژنیک اشرشیاکلی می‌توانند باعث انواعی از بیماری‌های روده‌ای و خارج روده‌ای شوند. از مسایل مهم در درمان بیماری‌های عفونی، مقاومت باکتری‌های پاتوژن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی میزان فراوانی ژن‌های پاتوتیپ‌های EAEC (Enteropathogenic Escherichia coli)، EPEC (Enteropathogenic Escherichia coli) و مقاومت آنتی‌بیوتیکی اشرشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری می‌باشد.

**روش‌ها:** پس از جمع‌آوری نمونه‌ها، آزمون‌های مختلف بیوشیمیایی و میکروبی انجام و سپس آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن بر اساس دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) و E-test (Epsilonometer test) با آنتی‌بیوتیک‌هایی از گروه‌های مختلف انجام گردید. جهت شناسایی ژن‌های پاتوتیپ‌ها، از آزمون Multiplex polymerase chain reaction (M-PCR) یا Multiplex PCR استفاده شد.

**یافته‌ها:** اکثر اشرشیاکلی جدا شده نسبت به اریترومايسين (۱۰۰ درصد) و آمپیسیلین (۹۳/۳۳ درصد) مقاوم و نسبت به جنتامایسین (۶۶/۶۶ درصد) و سیپروفلوکساسین (۶۰/۰۰ درصد) حساس بودند و همچنین، بسیاری از سویه‌ها به چند دارو مقاومت داشتند. نتایج M-PCR نشان داد که ۱ نمونه (۲ درصد) دارای ژن CVD۴۳۲ (پاتوتیپ EAEC) بود.

**نتیجه‌گیری:** به دلیل اهمیت اشرشیاکلی به عنوان مهم‌ترین عامل اسهال کودکان در کشورهای در حال توسعه و با توجه به افزایش روزافزون مصرف و مقاومت نسبت به عوامل آنتی‌باکتریال، خطر جدی بیماران را تهدید می‌نماید. عدم همخوانی نتایج به دست آمده از روش M-PCR با نتایج مطالعات سایر محققان، ممکن است به علت منبع نمونه باشد که در این مطالعه، سویه‌های جدا شده از نمونه‌های ادراری مورد بررسی قرار گرفت؛ در حالی که سایر مطالعات، بر روی نمونه‌های اسهال خونی انجام شده است. از دیگر دلایل اختلاف، تفاوت‌های منطقه‌ای جغرافیایی می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** اشرشیاکلی، آنتی‌بیوگرام، Enteropathogenic Escherichia coli (EAEC)، Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC)، Multiplex polymerase chain reaction

**ارجاع:** سلیمانی‌فرد ناهید، امینی کیومرث، مرادلی غلامعلی. تعیین هویت مولکولی پاتوتیپ‌های Enteropathogenic و Enteropathogenic باکتری اشرشیاکلی (EPEC و EAEC) جدا شده از عفونت ادراری به روش Multiplex polymerase chain reaction و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲

(۳۱۰): ۱۹۶۴-۱۹۵۴

- ۱- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران
- ۲- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران
- ۳- مربی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران

Email: kamini@iau-saveh.ac.ir

نویسنده مسئول: دکتر کیومرث امینی



## مقدمه

خانواده‌ی انتروباکتریاسه شامل گونه‌های وابسته به هم و گسترده است که در خاک، آب، مواد در حال فساد و روده‌ی بزرگ انسان‌ها، حیوانات و حشرات یافت می‌شوند. این باکتری‌ها باعث ایجاد بیماری‌های مختلف در انسان و حیوانات می‌گردند (۱). جنس اشرشیا شامل هفت گونه است و مهم‌ترین گونه‌ی آن اشرشیاکلی می‌باشد. این گونه، دارای عوامل حدت مهمی است که توسط ژن‌های مختلفی رمزدهی می‌شوند، از جمله آدزین‌های فیمبریسه، آنتروتوکسین‌ها، سایتوتوکسین‌ها، کپسول و لیوپلی ساکارید می‌باشد (۲). از خصوصیات اعضای پاتوتیپ (Enteropathogenic Escherichia coli) EPEC باکتری اشرشیاکلی، ایجاد ضایعات هیستوپاتولوژیک در اپی‌تلیوم روده می‌باشد که به یاخته‌های روده‌ی کوچک میزبان متصل می‌شوند و قادر به تولید سموم شیگا نمی‌باشند. از خصوصیات پاتوتیپ‌های (Enteraggative Escherichia coli) EAEC می‌توان به عدم توانایی آن‌ها در تولید و ترشح سموم LT (Labile toxin) و ST (Stable toxin) و همچنین اتصال آن‌ها به سلول‌های HeLa به صورت تهاجمی اشاره نمود. مکانیسم ایجاد اسهال در پاتوتیپ EAEC خیلی پیچیده می‌باشد؛ به این ترتیب که ترکیبات مؤثر سیستم ترشحی نوع III در محور ریزپرزاها و برهم زدن تنظیم تبادلات یونی که باعث کاهش جذب آب می‌باشد، دخالت دارند (۳).

یکی از مسایل مهم در درمان بیماری‌های عفونی، مقاومت باکتری‌های پاتوژن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. مقاومت دارویی مفهوم پیچیده‌ای است که

در آن چندین عامل از جمله نوع میکروارگانیسم عفونت‌زا، محل میکروب در داخل بدن، توزیع میکروارگانیسم در بدن، غلظت دارو در محل عفونت و وضعیت ایمنی بیمار دخالت دارد و بر یکدیگر تأثیر می‌گذارند (۴).

مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به دو صورت ذاتی و اکتسابی می‌باشد. در مقاومت ذاتی، سلول طبیعی و یا وحشی، قادر به مهار آنتی‌بیوتیک‌ها است و منشأ کروموزومی دارد. در حالی که مقاومت اکتسابی در اثر قرار گرفتن جمعیت‌های حساس و طبیعی در معرض عوامل مختلف و تبدیل سویه‌های حساس به مقاوم ناشی می‌شود (۵). این مطالعه با هدف تعیین سویه‌های مقاوم باکتری E. coli (Escherichia coli) و شناسایی ژن‌های مؤثر در ایجاد مقاومت در بین نمونه‌های جداسازی شده از بیماران انجام گردید.

## روش‌ها

تعداد ۵۰ ایزوله از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری که عامل اصلی ایجاد کننده‌ی عفونت در آن‌ها، باکتری E. coli بود، جداسازی گردید. این نمونه‌ها جهت کشت بر روی محیط‌های بلاد آگار (Blood agar)، مک کانکی آگار (Macconkey agar)، EMB آگار (Eosin-methylene blue agar) و کروم آگار (CHROM agar) E. coli انتقال داده شدند و در 37°C به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون گردیدند. بعد از شناسایی و تأیید حضور باکتری E. coli، آزمون‌های بیوشیمیایی مانند (IMViC test, Methyl red test, Indol test, Voges-Proskauer test, Citrate test) و TSI

مختلف بر حسب  $\mu\text{g}$  استفاده گردید. برای استخراج DNA، از کیت باکتری‌های گرم منفی سیناژن (Cinna Pure DNA KIT-PR881613) استفاده گردید. برنامه‌ی آزمون Multiplex PCR یا Multiplex polymerase chain reaction: این برنامه شامل مرحله‌ی دناتوراسیون اولیه  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه، مرحله‌ی دناتوراسیون  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۴۰ ثانیه، مرحله‌ی اتصال  $58^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱ دقیقه، مرحله‌ی بسط  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲ دقیقه (تعداد ۴۰ سیکل)، مرحله‌ی بسط نهایی  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۷ دقیقه می‌باشد. پرایمرهای مورد استفاده در این آزمون در جدول ۱ آمده است (۱۸، ۱۶). مخلوط‌های استفاده شده جهت انجام واکنش به این شرح می‌باشد: آب مقطر  $16/8 \mu\text{l}$ ، PCR buffer ۱X، به میزان  $1/25 \mu\text{l}$ ،  $\text{MgCl}_2$  به میزان  $1/25 \mu\text{l}$ ،  $(5 \text{ Mm})$  dNTP mix (Deoxyribonucleotide) به میزان  $0/2 \mu\text{l}$ ، پرایمرهای مورد استفاده هر کدام  $1/5 \mu\text{l}$ ، آنزیم Tag polymerase به میزان  $0/1 \mu\text{l}$ ، نمونه‌ی DNA  $2/5 \mu\text{l}$  در حجم نهایی  $25 \mu\text{l}$  تهیه گردید. آزمون Multiplex-PCR در دستگاه TECHNE انجام شد. جهت بررسی محصول Multiplex-PCR نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۱ درصد انتقال داده شد و بعد از رنگ‌آمیزی، در دستگاه ژل داگ BIORAD مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۳ (SPSS Inc., Chicago, IL, version 13) و با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### یافته‌ها

این تحقیق بر روی ۵۰ ایزوله‌ی جداسازی شده از

(Triple sugar iron) جهت تشخیص نهایی انجام شد. بعد از تعیین هویت گونه‌های باکتری *E. coli* با آزمون‌های بیوشیمیایی، جهت انجام آزمون آنتی‌بیوگرام از روش دیسک دیفیوژن (Disk diffusion) به روش Kirby-Bauer و بر طبق دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) استفاده گردید (۶). تعدادی از کلونی باکتری به وسیله‌ی آنس برداشته و در سرم فیزیولوژی استریل حل شد تا برابر با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند گردد. سپس بر روی محیط مولر-هیتتون آگار (Muller-Hinton agar) کشت داده شد و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک با فاصله‌ی استاندارد بر روی محیط کشت قرار گرفت و در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  انکوبه گردید و بعد از ۲۴ ساعت، نتایج خوانده شد (۷).

جهت انجام این مطالعه، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک سفیم، نیتروفورانئوئین، سفتریاکسون، سفکسیم، نالیدکسیک اسید، اریتروماکسین، آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، آمپی‌سیلین از شرکت HIMEDIA (Himedia Laboratories Pvt.Limited-INDIA) تهیه گردید. جهت بررسی کنترل کیفی آزمایش‌ها، از سویه‌ی استاندارد اشرشیاکلی ATCC ۲۵۹۲۲ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. همچنین جهت انجام آزمایش تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC یا Minimum inhibitory concentration) از روش E-test (Epsilometer test) استفاده گردید. این آزمایش با آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، آمپی‌سیلین، اریتروماکسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، نالیدکسیک اسید تهیه شده از شرکت HIMEDIA (Himedia Laboratories Pvt.Limited-INDIA) انجام شد. در این مطالعه از نوارهای E-test با رقت‌های

بیماران با علائم بالینی انجام گرفت. میزان حساسیت سویه‌های مختلف به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده، در جدول ۲ آمده است. همان‌گونه که قابل مشاهده است، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک اریترومايسين به میزان ۱۰۰ درصد و کمترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک آمیکاسین (بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی) گزارش شد. همچنین نتایج مقاومت سویه‌ها به کل آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده به منظور مقایسه‌ی بهتر الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در شکل ۱ آمده است. برای بررسی سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) یا

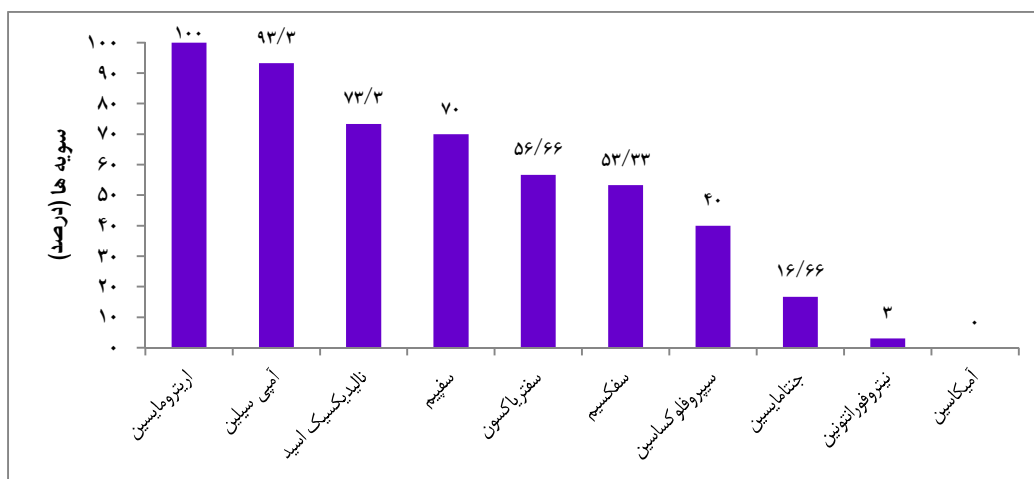
بیماران با علائم بالینی انجام گرفت. میزان حساسیت سویه‌های مختلف به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده، در جدول ۲ آمده است. همان‌گونه که قابل مشاهده است، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک اریترومايسين به میزان ۱۰۰ درصد و کمترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک آمیکاسین (بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی) گزارش شد. همچنین نتایج مقاومت سویه‌ها به کل آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده به منظور مقایسه‌ی بهتر الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در شکل ۱ آمده است. برای بررسی سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) یا

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام Multiplex-PCR (Multiplex-polymerase chain reaction)

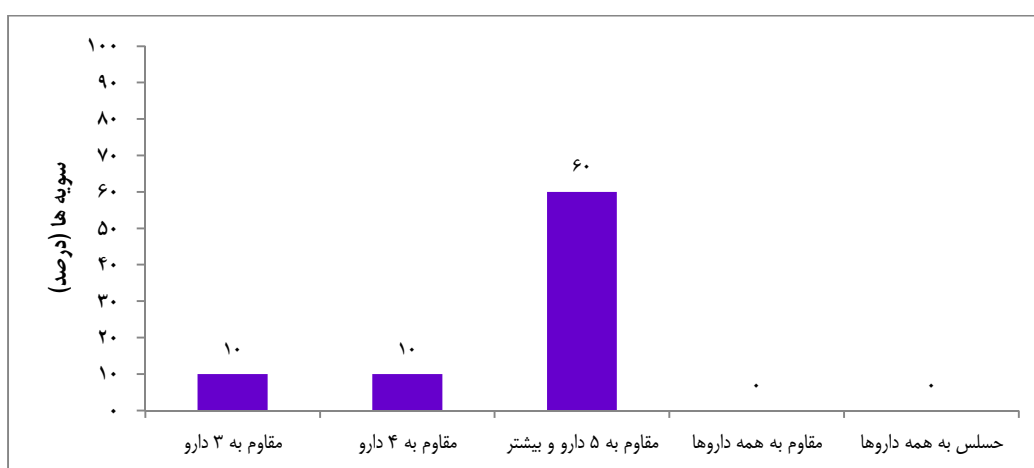
| غلظت پرایمر (pmol) | اندازه باند (bp) | ژن هدف | توالی پرایمر (۵' to ۳')    | پرایمر |
|--------------------|------------------|--------|----------------------------|--------|
| ۵                  | ۹۱۷              | eae    | CTGAACGGCGATTACGCGAA       | eae-f  |
| ۵                  | ۹۱۷              | eae    | CCAGACGATACGATCCAG(۱۲)     | eae-r  |
| ۵                  | ۳۲۶              | bfPA   | AATGGTGCTTGCGCTTGCTGC      | BFP-f  |
| ۵                  | ۳۲۶              | bfPA   | GCCGCTTTATCCAACCTGGTA(۵)   | BFP-r  |
| ۵                  | ۶۳۰              | CVD۴۳۲ | CTGGCGAAAGACTGTATCAT       | EAEC-f |
| ۵                  | ۶۳۰              | CVD۴۳۲ | CAATGTATAGAAATCCGCTGTT(۱۵) | EAEC-r |

جدول ۲. میزان حساسیت سویه‌های جداسازی شده به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن

| نوع آنتی‌بیوتیک | میزان مقاومت (درصد) Resistance | حساسیت متوسط (درصد) Intermediate | میزان حساسیت (درصد) Sensitive |
|-----------------|--------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| نیتروفورانتوئین | ۳/۳۴                           | -                                | ۹۶/۶۶                         |
| اریترومايسين    | ۱۰۰                            | -                                | -                             |
| آمیکاسین        | -                              | -                                | ۱۰۰                           |
| سفیپم           | ۷۰/۰                           | ۶/۶۷                             | ۲۳/۳۳                         |
| نالیدکسیک اسید  | ۷۳/۳۴                          | -                                | ۲۶/۶۶                         |
| آمیسیلیلین      | ۹۳/۳۴                          | ۳/۳۳                             | ۳/۳۳                          |
| سیپروفلوکساسین  | ۴۰/۰۰                          | -                                | ۶۰/۰۰                         |
| سفتریاکسون      | ۵۶/۶۶                          | -                                | ۴۳/۳۴                         |
| سفاکسیم         | ۵۳/۳۳                          | ۳/۳۳                             | ۴۳/۳۴                         |
| جتتامایسین      | ۱۶/۶۷                          | ۱۶/۶۷                            | ۶۶/۶۶                         |



شکل ۱. مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها به کل آنتی‌بیوتیک‌ها



شکل ۲. بررسی سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR یا Multi-drug Resistant)

قطعه‌ای به وزن ۹۱۷ جفت باز در هیچ یک از نمونه‌ها مشاهده نگردید (شکل ۴).

جدول ۳. نتایج حاصل از بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری اشرشیاکلی با روش Epsilonometer test بر حسب درصد

| نوع آنتی‌بیوتیک | حساس (درصد) | مقاوم (درصد) |
|-----------------|-------------|--------------|
| سیپروفلوکساسین  | ۸۰          | ۲۰           |
| نالیدکسیک اسید  | ۲۰          | ۸۰           |
| جنتامایسین      | ۱۰۰         | -            |
| آمیکاسین        | ۱۰۰         | -            |
| آمپی سیلین      | ۴۰          | ۶۰           |
| اریترومایسین    | -           | ۱۰۰          |

در این آزمون، بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک اریترومایسین مشاهده شد (شکل ۳). بر اساس نتایج حاصل از شناسایی مولکولی پاتوتیپ‌های EAEC و EPEC با استفاده از روش Multiplex PCR از مجموع ۵۰ نمونه مورد بررسی ژن CVD۴۳۲ در پاتوتیپ EAEC با قطعه‌ی ۶۳۰ جفت باز در ۱ جدایه (۲ درصد) مشاهده گردید. در هیچ یک از نمونه‌ها، ژن bFPA (Bundle-forming pilus) مربوط به پاتوتیپ EPEC با قطعه‌ای به وزن ۳۲۶ جفت باز مشاهده نشد. همچنین ژن EAE با

کودکان زیر ۵ سال در جهان سوم محسوب می‌شود. عفونت ادراری نیز یکی از شایع‌ترین عفونت‌هایی است که رتبه‌ی دوم را پس از عفونت‌های دستگاه تنفس به خود اختصاص داده است و سالیانه در حدود ۱۵۰ میلیون نفر در جهان بروز می‌نماید (۸). باکتری‌های فراوانی قادر به ایجاد عفونت در سیستم ادراری هستند که در بین آن‌ها، *E. coli* به عنوان شایع‌ترین عامل مطرح می‌باشد. در واقع، در تمام دنیا هنوز *E. coli* میکروارگانیسم غالب در عفونت‌های ادراری است که ۸۰-۹۰ درصد موارد عفونت‌های ادراری را ایجاد می‌کند (۸).

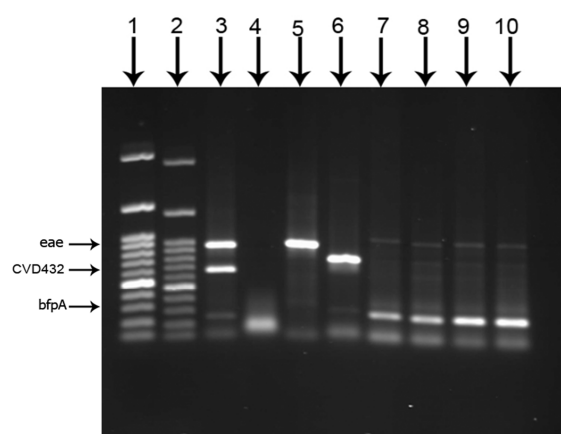
مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به ۲ صورت ذاتی و اکتسابی می‌باشد. در مقاومت ذاتی، سلول طبیعی و یا وحشی قادر به مهار آنتی‌بیوتیک‌ها است؛ در حالی که مقاومت اکتسابی در اثر قرار گرفتن جمعیت‌های حساس و طبیعی در معرض عوامل مختلف و سویه‌های حساس به مقاوم ناشی می‌شود (۴).

Dias Neto و همکاران در مطالعه‌ای بر روی ۱۸۸ نمونه‌ی ادرار در برزیل، اشرشیاکلی را از ۲۶ درصد موارد جدا و بیشترین میزان مقاومت را نسبت به آمپی‌سیلین (۲۷ درصد) گزارش نمودند (۹). Tambekar و همکاران در مطالعه‌ای بر روی ۶۸ نمونه‌ی ادراری در هند، اشرشیاکلی را از ۵۹ درصد موارد جدا کردند و بیشترین میزان مقاومت را نسبت به آمپی‌سیلین (۸۷ درصد) و کوتریماکسازول (۹۱ درصد) و کمترین مقاومت را نسبت به نیتروفورانتوئین (۲۹/۰ درصد) گزارش کردند (۱۰).

در مطالعه‌ی Tankhiwale و همکاران بر روی اشرشیاکلی، بیشترین مقاومت نسبت به



شکل ۳. نتیجه‌ی آزمون تعیین MIC (Minimum inhibitory concentration) به روش Epsilometer test نواری با آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین



شکل ۴. الکتروفورز محصول PCR (Polymerase chain reaction) بر روی ژل آگارز  
نتایج Multiplex PCR: از سمت چپ ۱ و ۲: ladder-۳ شاهد مثبت، ۴- شاهد منفی، ۵- سویه‌ی استاندارد، ۶ تا ۱۰: نمونه‌های مجهول  
eae: 917bp, bfpA: 326bp, CVD432: 630bp

## بحث

بیماری‌های ایجاد شده توسط باکتری اشرشیاکلی شامل اسهال خونی، اسهال، کولیت هموراژیک، ترمبوتیک ترومبوسیتوپنی پورپورا، سندرم اورمی همولتیک و در موارد شدید مرگ می‌باشد. اسهال، یکی از عوامل بیماری‌زا و مرگ و میر در میان

بوذری و همکاران در مطالعه‌ای بر روی ۲۰۴ ایزوله‌ی EAEC جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال، بیشترین درصد مقاومت به آمپی‌سیلین و بیشترین حساسیت در بین سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدکسیک اسید، جنتامایسین و سیپروفلوکساسین را گزارش نمودند (۱۵). در تحقیق حاضر نیز میزان مقاومت چند دارویی به ۵ دارو و بیشتر حدود ۶۰ درصد گزارش شده است.

مطالعات مختلفی در مورد شناسایی مولکولی پاتوتیپ‌های اشرشیاکلی با استفاده از روش M-PCR در کشورهای مختلف انجام شده است. Aranda و همکاران از روش M-PCR برای شناسایی پاتوتیپ‌های EPEC (تیبیک و آتیبیک)، EAEC، ETEC (*Enterotoxigenic Escherichia coli*)، EIEC (*Enteroinvasive Escherichia coli*)، STEC و (*Shiga toxin-producing Escherichia coli*) و شیگلا در نمونه‌های مدفوعی به دست آمده از افراد مبتلا به اسهال خونی حاد استفاده کردند و میزان EPEC تیبیک در ۶/۰ درصد موارد، EPEC آتیبیک در ۶/۰ درصد موارد، EAEC در ۴/۷ درصد، EIEC در ۲/۰ درصد، گونه‌های شیگلا در ۲/۰ درصد، سویه‌ی STEC در ۰/۷ درصد و مخلوطی از EPEC تیبیک و آتیبیک را در ۰/۷ درصد مشاهده نمودند (۱۶).

Vilchez و همکاران روش Multiplex PCR را با استفاده از ۸ جفت پرایمر اختصاصی به منظور شناسایی پاتوتیپ‌های EAEC، EIEC، EHEC (*Enterohemorrhagic Escherichia coli*) و EPEC، در مطالعه‌ی ایشان، ۶۸ نمونه ETEC به کار بردند. در مطالعه‌ی ایشان، ۱۲ نمونه (۲/۰ درصد) شامل EAEC، ۱۱/۶ درصد) شامل EAEC، ۱۲ نمونه (۲/۰ درصد)

کوتریموکسازول (۸۲/۰ درصد) و آمپی‌سیلین (۷۹/۹ درصد) و کمترین مقاومت نسبت به نیتروفوران‌توئین (۳۸/۰ درصد) و سفتی‌زوکسیم (۴۱/۳ درصد) گزارش شد (۱۱). در تحقیقاتی که توسط زمان‌زاد و همکاران در شهرکرد، بالاترین مقاومت‌ها نسبت به آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول مشاهده گردید (۱۲).

در مطالعه‌ی حاضر، بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به اریترومایسین (۱۰۰ درصد) و آمپی‌سیلین (۹۳/۳ درصد) و کمترین مقاومت مربوط به نیتروفوران‌توئین (۳/۰ درصد) و آمیکاسین (۰ درصد) بود که با نتایج مطالعات سایر محققان در نقاط مختلف دنیا همخوانی دارد. در مطالعات گوناگون در نواحی مختلف اروپا و آمریکای شمالی در دهه‌ی ۹۰، نشان داده شد که مقاومت به آمپی‌سیلین اغلب به بالاتر از ۳۰ درصد رسیده و روز به روز افزایش داشته است؛ به طوری که ظرف ۴ سال از ۲۶ درصد در خانم‌های دچار سیستیت بدون عارضه در آمریکا به ۳۴ درصد رسید (۱۳).

Tadesse و همکاران در آمریکا در مجموع ۱۷۲۹ نمونه‌ی *E. coli* را جدا کردند و یک روند رو به افزایش در مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سولفونامید، تتراسایکلین و جنتامایسین مشاهده کردند. مقاومت چند دارویی ( $> 3$ ) در مورد *E. coli* افزایش پیدا کرد؛ به طوری که از دهه‌ی ۱۹۵۰ تا ۲۰۰۰ از ۷/۲ درصد به ۶۳/۶ درصد رسید و شایع‌ترین فنوتیپ همکاری مقاومت در مورد تتراسایکلین و استرپتومایسین (۲۹/۷ درصد) و تتراسایکلین و سولفونامید (۲۹/۰ درصد) مشاهده شد (۱۴).

مطالعه، با مطالعات محققین دیگر در نقاط مختلف دنیا تفاوت دارد که می‌توان این دلایل را برای این موضوع مد نظر قرار داد:

دلیل اول ممکن است به علت منبع نمونه باشد که در این مطالعه، سویه‌های جدا شده از نمونه‌های ادراری مورد بررسی قرار گرفته است، در حالی که در سایر مطالعات، بیشتر بر روی نمونه‌ی اسهال خونی بررسی انجام شده است. یکی دیگر از دلایل اختلاف، تفاوت‌های منطقه‌ی جغرافیایی است. اکثر مطالعات در بین کشورهای آمریکایی و اروپایی صورت گرفته است و در ایران، مطالعات زیادی برای شناسایی مولکولی پاتوتیپ‌های *E. coli* با استفاده از M-PCR صورت نگرفته است که این خود می‌تواند دلیلی بر وجود اختلاف بین نتایج این تحقیق با سایر پژوهش‌ها باشد.

با استفاده از روش Multiplex PCR می‌توان در کوتاه‌ترین مدت زمان با ویژگی و حساسیت بالا به حضور ژن‌های بیماری‌زا پی برد و با درمان مناسب و به موقع، از ایجاد سویه‌های مقاوم و انتقال این ژن‌ها در جمعیت‌های انسانی و حیوانی جلوگیری به عمل آورد. جهت کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی باید ۲ عامل عمده یعنی استفاده‌ی زیاد از آنتی‌بیوتیک‌ها و سهولت گسترش ژن مقاومت را در نظر داشت. اساس درمان مناسب در عفونت‌های ادراری، انتخاب یک آنتی‌بیوتیک با کارایی بالا و ارزان می‌باشد. اقدامات کنترل عفونت و رعایت نکات بهداشتی در حذف یا کاهش این نوع سویه‌ها به ویژه در بیمارستان‌ها باید بسیار جدی گرفته شود. امروزه افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها یک معضل جهانی است که ناشی از مصرف بی‌رویه و روزافزون داروها

شامل EIEC، ۳۹ نمونه (۶/۶ درصد) شامل EPEC و ۱۳ نمونه (۲/۲ درصد) شامل ETEC بودند (۱۷). Moyo و همکاران در تانزانیا، از روش M-PCR به منظور شناسایی پاتوتیپ‌های EAEC، EPEC، ETEC، EIEC و EHEC استفاده کردند. ۲۲/۹ درصد از کودکان، مبتلا به اسهال ناشی از اشرشیاکلی بودند. ۱۴/۶ درصد از سویه‌ها به عنوان پاتوتیپ EAEC شناسایی شدند که حامل ژن *aggR* و ژن *aat* بودند. ۴/۶ درصد از سویه‌ها به عنوان پاتوتیپ EPEC شناسایی و در ۹۲/۳ درصد از پاتوتیپ‌های EPEC، به عنوان EPEC تیپیک حامل هر دو ژن *eae* و *bfPA* شناسایی گردیدند. ۳/۶ درصد از سویه‌ها به عنوان پاتوتیپ ETEC شناسایی و حامل ژن *Stla* یا *Stlb* بودند و ژن‌های مربوط به EHEC (*Stx1* و *Stx2*) و EIEC (*ial*) در هیچ کدام از نمونه‌ها مشاهده نشد. EAEC تیپیک و EPEC تیپیک به عنوان شایع‌ترین عامل اسهال خونی در کودکان تانزانیا شناسایی گردیدند (۱۸).

کارگر و همکاران در ایران، با استفاده از روش Multiplex PCR در طی مطالعه‌ای بر روی ژن‌های *Stx1*، *Stx2*، *eaeA* و *hly*، ۳ سویه دارای مخلوطی از ژن‌های *Stx1* و *eaeA* و ۱ سویه دارای مخلوطی از ژن‌های *Stx1* و *Stx2* و *eaeA* و ۱ سویه نیز دارای ژن *hly* بود (۱۹).

در این مطالعه، با استفاده از روش MultiPlex PCR جهت شناسایی مولکولی پاتوتیپ‌های EAEC و EPEC از مجموع ۵۰ نمونه، ۱ نمونه (۲ درصد) دارای ژن CVD۴۳۲ بود (پاتوتیپ EAEC). نتایج آزمون مولکولی به دست آمده با روش M-PCR در پاتوتیپ EPEC در این



## تشکر و قدردانی

از گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه و بخش باکتری‌شناسی دانشکده‌ی دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات سپاسگزاری می‌گردد.

می‌باشد و متأسفانه کشور ما هم از این قاعده مستثنی نیست. همچنین ضمن استاندارد شدن روش آنتی‌بیوگرام باید به نتایج آزمون حساسیت آنتی‌میکروبی عفونت‌های ادراری جهت کاربرد صحیح آنتی‌بیوتیک مؤثر توجه ویژه‌ای معطوف گردد.

## References

- Brooks GF, Morse SA, Brooks GF. Jawetz, Melnick, & Adelberg's medical microbiology. 22th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2001. p. 488.
- Nataro JP, Baldini MM, Kaper JB, Black RE, Bravo N, Levine MM. Detection of an adherence factor of enteropathogenic *Escherichia coli* with a DNA probe. *J Infect Dis* 1985; 152(3): 560-5.
- Ketchum PA. Microbiology: Concepts and applications. Hoboken, NJ: Wiley; 1998. p. 221-41.
- Fluit AC, Visser MR, Schmitz FJ. Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(4): 836-71.
- Aertsen A, Vanoirbeek K, de Spiegeleer P, Sermon J, Hauben K, Farewell A, et al. Heat shock protein-mediated resistance to high hydrostatic pressure in *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70(5): 2660-6.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement [Online]. [cited 2012 Jan]; Available from: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/M100S22E.pdf>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard [Online]. [cited 2012 Jan]; Available from: URL:<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/01-CLSI-M02-A11-2012.pdf>
- Sader HS, Jones RN, Dowzicky MJ, Fritsche TR. Antimicrobial activity of tigecycline tested against nosocomial bacterial pathogens from patients hospitalized in the intensive care unit. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 52(3): 203-8.
- Dias Neto JA, Dias Magalhães da Silva L, Carlos Pereira Martins A, Brianezi Tiraboschi R, Alonso Domingos AL, Jorge Suaid H, et al. Prevalence and bacterial susceptibility of hospital acquired urinary tract infection. *Acta Cir Bras* 2003; 18(Suppl 5): 36-8.
- Tambekar DH, Dhanorkar DV, Gulhane SR, Khandelwal VK, Dudhane MN. Antibacterial susceptibility of some urinary tract pathogens to commonly used antibiotics. *African Journal of Biotechnology* 2006; 5(17): 1562-5.
- Tankhiwale SS, Jalgaonkar SV, Ahamad S, Hassani U. Evaluation of extended spectrum beta lactamase in urinary isolates. *Indian J Med Res* 2004; 120(6): 553-6.
- Zamanzad B, Shirzad H, Naseri F. Comparison of the causative bacteria and antibacterial susceptibility pattern of nosocomial and community- acquired urinary tract pathogens in 13-35 years old women, Shahrekord, 2004. *J Arak Univ Med Sci* 2005; 8(4): 23-30. [In Persian].
- Sotto A, De Boever CM, Fabbro-Peray P, Gouby A, Sirot D, Jourdan J. Risk factors for antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients with urinary tract infections: a prospective study. *J Clin Microbiol* 2001; 39(2): 438-44.
- Tadesse DA, Zhao S, Tong E, Ayers S, Singh A, Bartholomew MJ, et al. Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. *Emerg Infect Dis* 2012; 18(5): 741-9.
- Bouzari S, Jafari A, Azizi A, Oloomi M, Nataro JP. Short report: characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* isolates from Iranian children. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65(1): 13-4.
- Aranda KR, Fagundes-Neto U, Scaletsky IC. Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. *J Clin Microbiol* 2004; 42(12): 5849-53.
- Vilchez S, Reyes D, Paniagua M, Bucardo F, Mollby R, Weintraub A. Prevalence of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in children from Leon, Nicaragua. *J Med Microbiol* 2009; 58(Pt 5): 630-7.



- 18.** Moyo SJ, Maselle SY, Matee MI, Langeland N, Mylvaganam H. Identification of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from infants and children in Dar es Salaam, Tanzania. *BMC Infect Dis* 2007; 7: 92.
- 19.** Kargar M, Dianati P, Homayoon M. Evolution of Virulence Genes and Antibiotic Resistance of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Isolated from Hamburger by Multiplex PCR in Shiraz. *J Isfahan Med Sch* 2011; 29(148): 977-87. [In Persian].

## Molecular Identification of Enteroaggregative and Enteropathogenic Escherichia Coli Pathotypes (EPEC and EAEC) Strains Isolated from Urinary Tract Infections and their Antibiotic Susceptibility Pattern

Nahid Soleimanifard MSc<sup>1</sup>, Kumarss Amini PhD<sup>2</sup>, Gholamali Moradli PhD<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Some of the pathogenic strain of Escherichia coli (E. coli) can cause none-enteritidis and enteritidis diseases. Antibiotic resistance is important in treatment of infectious diseases. The aim of this study was assessment of the the frequency of antibiotic-resistance genes in the clinically isolated enteroaggregative and enteropathogenic virutypes of Escherichia coli (EPEC and EAEC).

**Methods:** Clinically isolated strains were identified using biochemical test and antibiotic sensitivity assessment performed by disc diffusion method according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines, and epsilometer test (E-test) in different groups. The virutypes genes were identified via multiplex polymerase chain reaction (M-PCR).

**Findings:** All of the clinically isolated strains (100%) were resistance to erythromycin and 93.33% to ampicillin; 66.66% of the strains were susceptible to gentamycin and 60.00% to ciprofloxacin. Many of strains were multiple-drug resistant (MDR). In multiplex polymerase chain reaction, an enteroaggregative virutype of Escherichia coli was isolated (2%) carrying gene CVD432.

**Conclusion:** There is a serious risk for patients due the importance of Escherichia coli as major cause of child diarrhea in developing countries and according to increasing in utilization of resistance to the antibacterial drugs. Inconsistency in our finding and other researches may be due the difference sources of isolation sites; in this study, isolated sources were from urine samples, but in other researches, fecus was the source. Another source of inconsistency may lay in geographical differences.

**Keywords:** Escherichia coli, Antibiogram, Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC), Enteroaggregative Escherichia coli (EAEC), Multiplex polymerase chain reaction

**Citation:** Soleimanifard N, Amini K, Moradli Gh. **Molecular Identification of Enteroaggregative and Enteropathogenic Escherichia Coli Pathotypes (EPEC and EAEC) Strains Isolated from Urinary Tract Infections and their Antibiotic Susceptibility Pattern.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(310): 1954-64

1- Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

2- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

3- Lecturer, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

**Corresponding Author:** Kumarss Amini PhD, Email: kamini@iau-saveh.ac.ir

## تأثیر تمرین هوازی بر غلظت پلاسمایی آنزیم مبدل آنژیوتنسن (ACE) زنان یائسه

مریم میرحاج<sup>۱</sup>، دکتر الهه طالبی گرکانی<sup>۲</sup>، دکتر رزیتا فتحی<sup>۱</sup>، دکتر علی‌رضا صفرزاده<sup>۳</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** آنزیم مبدل آنژیوتنسن (ACE یا Angiotensin-converting enzyme) مترشح از اندوتلیال عروق، یکی از عوامل اصلی تنظیم فشار خون می‌باشد. هدف این پژوهش بررسی اثر یک دوره تمرین هوازی بر غلظت پلاسمایی ACE در زنان یائسه بود.

**روش‌ها:** آزمودنی‌های این پژوهش شامل ۱۴ زن یائسه (۴۰-۶۵ ساله) بودند. سطوح پلاسمایی ACE، شاخص‌های پیکرسنجی، اکسیژن مصرفی بیشینه ( $VO_{2max}$ ) و فشار خون سیستولیک و دیاستولیک پیش و پس از یک دوره برنامه‌ی تمرینی ارزیابی شد. برنامه‌ی تمرین هوازی در هفته‌ی اول با شدت ۴۰-۴۵ درصد حداکثر ضربان قلب ذخیره بود و به تدریج در هفته‌ی هشتم به ۷۰-۸۰ درصد حداکثر ضربان قلب ذخیره رسید.

**یافته‌ها:** پس از ۸ هفته تمرین هوازی، سطوح پلاسمایی ACE به طور معنی‌داری در آزمودنی‌ها افزایش یافت ( $P = ۰/۰۲۰$ ). کاهش معنی‌دار دور کمر نیز در زنان یائسه مشاهده شد ( $P < ۰/۰۰۱$ ). اکسیژن مصرفی بیشینه در آزمودنی‌ها افزایش معنی‌دار داشت ( $P = ۰/۰۰۱$ ). تغییرات سطوح پلاسمایی ACE ارتباط منفی و معنی‌داری با تغییرات دور کمر ( $P = ۰/۰۲۰$  و  $r = -۰/۶۰۱$ )، تغییرات وزن ( $P = ۰/۰۱۰$  و  $r = -۰/۶۳۰$ ) و تغییرات BMI (Body mass index) ( $P = ۰/۰۱۰$  و  $r = -۰/۶۳۷$ ) داشت.

**نتیجه‌گیری:** تمرین هوازی موجب افزایش سطوح پلاسمایی ACE در زنان یائسه بدون تغییر معنی‌داری در ترکیب بدنی و فشار خون آن‌ها می‌شود. مطالعات بیشتر با تعداد آزمودنی‌های زیادتر به منظور تأیید این نتیجه ضرورت دارد.

**واژگان کلیدی:** آنزیم مبدل آنژیوتنسن، تمرین هوازی، فشار خون، درصد چربی، ترکیب بدن

**ارجاع:** میرحاج مریم، طالبی گرکانی الهه، فتحی رزیتا، صفرزاده علی‌رضا. تأثیر تمرین هوازی بر غلظت پلاسمایی آنزیم مبدل

آنژیوتنسن (ACE) زنان یائسه. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۰): ۱۹۶۵-۱۹۷۵

## مقدمه

افزایش سن و کم تحرکی دو عامل اصلی در افزایش احتمال بروز بیماری‌های قلبی-عروقی می‌باشند. بیماری‌های قلبی-عروقی یکی از بیماری‌های مزمن در اکثر نقاط جهان و اصلی‌ترین عامل مرگ در بانوان هستند (۱). فشار خون یکی از اجزای بیماری‌های قلبی-عروقی می‌باشد که عوامل بسیاری از جمله سن،

جنس، یائسگی، ورزش و رژیم غذایی بر آن تأثیر می‌گذارد (۱). خطر ابتلا به فشار خون با بروز یائسگی در بانوان افزایش می‌یابد که ممکن است به علت کاهش هورمون زنانه‌ی استروئید در آن‌ها باشد (۱). بنابراین، به سبب اهمیت فشار خون و هشدارهای موجود، برخورداری از سبک زندگی مناسب که در آن فعالیت‌های بدنی جزء عوامل اصلی و مؤثر باشند،

۱- کارشناس ارشد، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۳- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر رزیتا فتحی

است که تمرین‌های فزاینده سطوح سرمی ACE را در کودکان افزایش داده است (۷). همچنین افزایش سطوح پلاسمایی ACE به هنگام یک جلسه تمرین هوازی فزاینده و کاهش آن بلافاصله پس از تمرین مشاهده شد (۸). این در حالی است که تفاوت معنی‌داری در سطوح در گردش ACE در پاسخ به یک جلسه تمرین هوازی یا مقاومتی دیده نشد (۹). با افزایش سن فعالیت بدنی افراد کمتر می‌شود. از سوی دیگر، فعالیت بدنی و رژیم غذایی از عوامل اثرگذار بر تغییرات وزن می‌باشند. ارتباط مستقیم وزن و ACE در مطالعات پیشین گزارش شده است (۱۰، ۲). کاهش معنی‌دار وزن از طریق رژیم غذایی و تمرین در زنان یائسه با کاهش مقادیر ACE همراه بود (۱۰). از این رو، با توجه به گسترش فشار خون در زنان یائسه و مشکلات ناشی از آن در جامعه‌ی زنان و تعداد اندک مطالعات در این زمینه، هدف از این پژوهش بررسی تغییرات غلظت پلاسمایی ACE در پاسخ به یک دوره‌ی تمرین هوازی در زنان یائسه بود.

### روش‌ها

پس از تکمیل پرسش‌نامه (شامل اطلاعات فردی، سوابق پزشکی و ورزشی) ۱۴ زن که آمادگی همکاری در طرح را در جلسه‌ای به طور رسمی و کتبی اعلام کردند، به صورت داوطلب انتخاب شدند. برای آشنایی با روش اجرای فعالیت ورزشی، آزمودنی‌ها در سالن ورزشی مورد نظر حضور یافتند و ویژگی‌های پیکرسنجی آنان اندازه‌گیری شد. برای تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی ( $VO_{2max}$ ) از آزمون Rock Port استفاده شد. از افراد شرکت‌کننده در این

بسیار مهم به نظر می‌رسد. از سوی دیگر، بررسی گزارش‌های تحقیقی نشان می‌دهد عوامل متعددی در ایجاد فشار خون دخیل هستند که از جمله‌ی آن می‌توان به آنزیم مبدل (تبدیل‌گر) آنژیوتنسنین (ACE یا Angiotensin-converting enzyme) اشاره داشت (۳-۱).

آنزیم ACE (کینیناز II یا Kininase II) دی‌پپتیدیل کربوکسی پپتیداز یا Dipeptidyl carboxypeptidase) در سال ۱۹۵۰ در پلاسمای یافت شد. عمل آنزیم ACE تولید شده از اندوتلیوم عروق تبدیل آنژیوتنسنین I (AngI) یا Angiotensin I به آنژیوتنسنین II (AngII) یا Angiotensin II و همچنین خنثی‌سازی ماده‌ی اتساع‌دهنده‌ی عروق یعنی برادی‌کینین (BK) یا Bradykinin می‌باشد (۴، ۱). این آنزیم، به عنوان یکی از اجزای سیستم رنین-آنژیوتنسنین-آلدوسترون (RAAS) یا Renin Angiotensin Aldosterone system نقش مهمی در تنظیم فشار خون از طریق تأثیر بر آبشارهای واکنش‌های بیوشیمیایی دارد. افزایش فعالیت ACE پلاسمایی ممکن است از طریق افزایش تولید AngII فشار خون را افزایش دهد (۶-۵)؛ از این رو، هدف مهمی در درمان فشار خون و نارسایی قلبی محسوب می‌گردد.

کم تحرکی و بی‌تحرکی، علاوه بر مساعد کردن زمینه‌ی ظهور بیماری‌های قلبی-عروقی، سبب کاهش تناسب و توانمندی‌های عملکردی زنان یائسه می‌شود (۱). تحقیقات انجام شده در خصوص تأثیر تمرینات ورزشی بر سطوح پلاسمایی ACE بسیار محدود می‌باشد. در مطالعات پیشین گزارش شده

آزمون خواسته شد تا بعد از گرم کردن خود مسافت ۱۶۰۰ m را با نهایت سرعت راه بروند. در طی انجام آزمون، نبض این افراد توسط بِلت کنترل و زمان آن‌ها با کرنومتر ثبت شد. در نهایت، ۵ ثانیه بعد از اتمام مسافت، تعداد ضربان قلب شمارش و ثبت گردید و مقدار آن‌ها توسط معادله برآورد گردید و بر حسب ml/kg/m محاسبه شد (۱۱).

- (وزن بدن به کیلوگرم  $\times 0/1692$ ) -  $132/85$   
 $VO_{2max} = (6/315 \times \text{جنس}) + (0/3877 \times \text{سن})$   
 (زمان با دقت صدم ثانیه  $\times 3/2649$ ) - (ضربان قلب در دقیقه  $\times 0/1565$ )

درصد چربی بدن با استفاده از کالیپر یا گامی ساخت ژاپن و روش سه نقطه‌ای (ران، سه سر بازویی و فوق خاصره) و فرمول جکسون و پولاک (Jackson and Pollock) محاسبه شد (۱۲) و یادامد غذایی حذف گردید.

برنامه‌ی تمرینی آزمودنی‌ها شامل ۸ هفته و هر هفته ۳ جلسه تمرین هوازی بود. برنامه‌ی تمرین هوازی در هفته‌ی اول شامل دویدن در سالن با شدت ۴۰-۴۵ درصد حداکثر ضربان قلب ذخیره به مدت ۲۵ دقیقه بود. به تدریج در هفته‌های بعد، شدت و مدت فعالیت هوازی افزایش یافت (هر هفته ۵ دقیقه به زمان تمرین و ۵ درصد به شدت تمرین افزوده شد) تا در هفته‌ی هشتم به ۴۵ دقیقه با ۸۰-۷۰ درصد حداکثر ضربان قلب ذخیره رسید. همچنین هر جلسه‌ی تمرین شامل ۱۵ دقیقه گرم کردن در ابتدای جلسه و ۱۰ دقیقه سرد کردن با اجرای دوی نرم، حرکات کششی و نرمشی در انتهای هر جلسه بود. ضربان قلب آزمودنی‌ها با استفاده از ضربان‌سنج پولار

کنترل می‌شد. ضربان قلب بیشینه از فرمول «سن-۲۲۰» و حداکثر ضربان قلب ذخیره از طریق فرمول کارونن (Karvonen) محاسبه شد (۱۱).

نمونه‌گیری خون و اندازه‌گیری فشار خون ۲۴ ساعت قبل از اولین و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرین انجام شد. پس از ناشتایی شبانه بین ساعات ۹-۸ صبح، از ورید بازویی آزمودنی‌ها ۵ cc خون گرفته شد و نمونه‌ها در لوله‌های حاوی ماده‌ی ضد انعقاد خون (EDTA یا Ethylenediaminetetraacetic acid) جمع‌آوری و به طور سریع (با سرعت ۳۵۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه) سانتریفوژ گردید. پلاسمای به دست آمده تا زمان انجام آزمایش‌ها در فریزر  $70^{\circ}\text{C}$ - نگهداری شد. سطوح ACE پلاسمای با روش ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) و با استفاده از کیت مخصوص (Human ACE ELISA, CUSABIO BIOTECH, Wuhan China) اندازه‌گیری شد. حساسیت این روش،  $1/95 \text{ ng/ml}$  بود.

از آزمون Kolmogorov-Smirnov به منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. چون داده‌ها دارای توزیع طبیعی بودند، به منظور بررسی اثر تمرین و مقایسه‌ی مقادیر قبل و پس از تمرین، از آزمون t همبسته استفاده شد. همچنین برای تعیین ارتباط ACE با سایر متغیرهای اندازه‌گیری شده، از ضریب همبستگی Pearson استفاده شد. کلیه‌ی عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد و سطح معنی‌داری آزمونها،  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

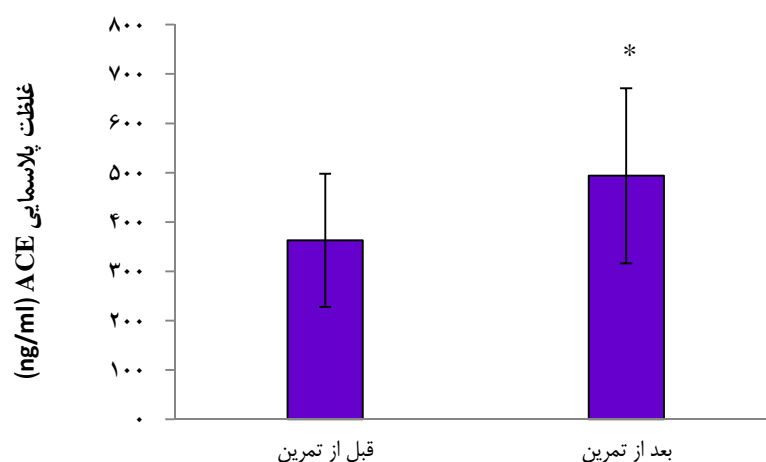
در مجموع، ۱۴ زن در این مطالعه شرکت کردند. میانگین سنی این افراد  $54/0 \pm 5/9$  سال، میانگین قد  $157/40 \pm 6/41$  سانتی‌متر و میانگین وزن  $71/70 \pm 10/41$  کیلوگرم بود. جدول ۱ ویژگی‌های پیکرسنجی آزمودنی‌ها قبل و بعد از برنامه‌ی تمرینی را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج حاصل از آزمون *Pair t*، کاهش معنی‌دار دور کمر ( $P = 0/010$ ) و افزایش معنی‌دار  $VO_{2max}$  ( $P = 0/001$ ) پس از ۸ هفته

تمرین هوازی در زنان یائسه مشاهده شد. در دیگر متغیرهای اندازه‌گیری شده در پژوهش حاضر از جمله وزن، شاخص توده‌ی بدنی، WHR (Waist-hip ratio)، فشار خون سیستولیک و فشار خون دیاستولیک پس از ۸ هفته تمرین هوازی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. سطوح پلاسمایی ACE پس از ۸ هفته تمرین هوازی در آزمودنی‌ها به صورت معنی‌داری افزایش ( $P = 0/020$ ) یافت (شکل ۱).

جدول ۱. شاخص‌های پیکرسنجی و فیزیولوژیک آزمودنی‌ها قبل و بعد از ۸ هفته تمرین هوازی

| متغیرها                         | قبل از تمرین      | پس از تمرین       | تغییرات          | مقدار P |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|------------------|---------|
| وزن (kg)                        | $10/41 \pm 71/79$ | $9/99 \pm 70/86$  | $1/90 \pm 0/92$  | 0/103   |
| نمایه‌ی توده‌ی بدن ( $kg/m^2$ ) | $3/34 \pm 28/91$  | $3/02 \pm 28/52$  | $0/80 \pm 0/39$  | 0/090   |
| دور کمر (cm)                    | $13/11 \pm 94/57$ | $11/82 \pm 90/72$ | $4/90 \pm 3/78$  | †0/010  |
| نسبت دور کمر به دور لگن         | $0/08 \pm 0/87$   | $0/60 \pm 0/85$   | $0/04 \pm 0/19$  | 0/130   |
| چربی بدن (درصد)                 | $3/70 \pm 24/02$  | $1/90 \pm 21/22$  | $3/30 \pm 2/80$  | 0/070   |
| حداکثر توان هوازی (ml/kg/m)     | $5/12 \pm 28/89$  | $5/04 \pm 32/93$  | $2/05 \pm -4/04$ | †0/001  |
| فشار خون سیستولیک (mmHg)        | $1/26 \pm 12/03$  | $0/71 \pm 11/64$  | $1/05 \pm 0/39$  | 0/180   |
| فشار خون دیاستولیک (mmHg)       | $1/01 \pm 7/50$   | $0/80 \pm 7/21$   | $0/90 \pm 0/28$  | 0/302   |

نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف از میانگین بیان شده‌اند. † تفاوت معنی‌داری درون گروهی را نشان می‌دهد ( $P < 0/050$ ).



شکل ۱. غلظت پلاسمایی ACE (Angiotensin-converting enzyme) در زنان یائسه قبل و بعد از ۸ هفته تمرین هوازی. \* تفاوت آماری آزمودنی‌ها؛ قبل و بعد از ۸ هفته تمرین ( $P < 0/050$ )

جدول ۲. همبستگی بین سطوح پلاسمایی ACE (Angiotensin-converting enzyme) با سایر متغیرهای پژوهش قبل از تمرین

| متغیرها                                | ضریب همبستگی | مقدار P |
|--|--------------|---------|
| وزن (kg)                               | -۰/۳۷۷       | ۰/۱۸۰   |
| نمایه‌ی توده‌ی بدن ( $\text{kg/m}^2$ ) | -۰/۴۸۵       | ۰/۰۷۰   |
| دور کمر (cm)                           | -۰/۵۹۷       | ۰/۰۲۰   |
| نسبت دور کمر به دور لگن                | -۰/۷۲۸       | ۰/۰۰۳   |
| چربی بدن (درصد)                        | ۰/۰۰۶        | ۰/۹۸۰   |
| حداکثر توان هوازی ( $\text{ml/kg/m}$ ) | ۰/۴۳۹        | ۰/۱۱۰   |
| فشار خون سیستولیک (mmHg)               | ۰/۲۳۷        | ۰/۴۱۰   |
| فشار خون دیاستولیک (mmHg)              | ۰/۲۸۴        | ۰/۳۲۰   |

جدول ۳. همبستگی بین تغییرات سطوح پلاسمایی ACE (Angiotensin-converting enzyme) با تغییرات سایر متغیرهای پژوهش

بعد از تمرین

| متغیرها                                | ضریب همبستگی | مقدار P |
|--|--------------|---------|
| وزن (kg)                               | -۰/۶۳۰       | ۰/۰۱۰   |
| نمایه‌ی توده‌ی بدن ( $\text{kg/m}^2$ ) | -۰/۶۳۷       | ۰/۰۱۰   |
| دور کمر (cm)                           | -۰/۶۰۱       | ۰/۰۲۰   |
| نسبت دور کمر به دور لگن                | -۰/۲۳۵       | ۰/۴۱۰   |
| چربی بدن (درصد)                        | -۰/۳۹۸       | ۰/۱۵۰   |
| حداکثر توان هوازی ( $\text{ml/kg/m}$ ) | ۰/۰۷۶        | ۰/۷۹۰   |
| فشار خون سیستولیک (mmHg)               | -۰/۲۴۸       | ۰/۳۹۰   |
| فشار خون دیاستولیک (mmHg)              | -۰/۳۶۰       | ۰/۲۰۶   |

### بحث

آنزیم ACE به عنوان یک پپتیداز دکاپپتیدی (Decapeptide peptides) به طور وسیعی در سیستم‌های بدن از جمله سیستم قلبی-عروقی یافت می‌شود (۴). این آنزیم، در تبدیل Ang I به Ang II نقش کاتالیزوری دارد. بسترهای عروقی از مکان‌هایی است که این آنزیم به وفور یافت می‌شود و سبب پاسخ عروقی، تنگی و تکثیر سلولی می‌گردد (۲). افزایش فعالیت این آنزیم سبب افزایش تولید Ang II می‌گردد که از قوی‌ترین منقبض کننده‌های عروقی است. این عامل انقباض قدرتمند با ساز و کارهای متعددی از جمله تنگی آرتریول‌ها، افزایش تولید

به منظور تعیین ارتباط بین سطوح پلاسمایی ACE و سایر متغیرهای پژوهش از آزمون تحلیل همبستگی Pearson استفاده شد. قبل از شروع تمرینات ارتباط منفی و معنی‌داری بین سطوح پلاسمایی ACE و دور کمر ( $P = ۰/۰۲۰$ ) و ( $r = -۰/۵۹۷$ ) و WHR ( $P = ۰/۰۰۳$  و  $r = -۰/۷۲۸$ ) مشاهده شد (جدول ۲). پس از ۸ هفته تمرین هوازی، ارتباط منفی معنی‌داری بین تغییرات سطوح پلاسمایی ACE و تغییرات وزن ( $P = ۰/۰۱۰$ ) و همچنین BMI ( $r = -۰/۶۳۰$ ) و دور کمر ( $P = ۰/۰۱۰$  و  $r = -۰/۶۳۷$ ) و دور کمر ( $P = ۰/۰۲۰$ ) و ( $r = -۰/۶۰۱$ ) مشاهده شد (جدول ۳).

جنسی، هورمون‌های تنظیم‌کننده‌ی اشتها و هورمون‌های مرتبط با انسولین نه خود انسولین گزارش کردند (۸).

در مطالعه‌ی حاضر، عدم تغییر وزن آزمودنی‌ها پس از ۸ هفته تمرین و همین‌طور عدم ارتباط سطوح پلاسمایی این آنزیم با وزن قبل از شروع تمرینات مشاهده شد. با توجه به یافته‌های این تحقیقات، ممکن است بتوان یکی از دلایل تغییرات مثبت ACE در مطالعه‌ی حاضر را عدم تغییر معنی‌دار وزن آزمودنی‌ها و عدم کنترل رژیم غذایی دانست. ممکن است یکی از دلایل کاهش این آنزیم در مطالعات قبلی، کاهش بافت چربی آزمودنی‌ها باشد. بافت چرب دارای منابع ACE می‌باشد، همچنین ACE در میکرواندوتلیال و آدیپوسیت‌ها نیز حضور دارد، اما سهم ACE پلاسما از بافت چرب هنوز شناخته نشده است (۱۵). همچنین در تحقیق حاضر، رابطه‌ی منفی و معنی‌داری بین تغییرات دور کمر، وزن و BMI با تغییرات سطوح پلاسمایی ACE به دنبال ۸ هفته تمرین دیده شد. در مطالعات پیشین گزارش شده است که ACE رابطه‌ی مستقیمی با وزن بدن دارد، همچنین این محققان افزایش فعالیت ACE را در افراد چاق نشان داده‌اند (۸، ۱۰).

از طرفی ACE در ایجاد چاقی و افزایش وزن مجدد نقش پیچیده‌ای دارد که توسعه‌ی بافت چرب و بازجذب آب و سدیم را شامل می‌شود (۸). باید به این نکته توجه داشت که پلی‌مورفیسم ژن این آنزیم، سطوح پلاسمایی این آنزیم را به مقدار زیادی تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۳، ۸، ۱)؛ به طوری که گزارش شده است، ژنوتیپ DD ژن ACE منجر به افزایش وزن، چاقی و افزایش چاقی شکمی می‌شود (۱۴). از

رادیکال آزاد و کاهش تولید نیتریک اکسید، سبب پر فشار خونی، هایپرتروفی میوکارد و اختلال در عملکرد اندوتلیال عروق می‌شود (۱۳). این ویژگی ACE سبب شده است که برای درمان فشار خون از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد.

مطالعه‌ی حاضر افزایش معنی‌دار غلظت پلاسمایی ACE را پس از ۸ هفته تمرین هوازی نشان می‌دهد. تحقیقات در مورد تأثیر فعالیت بدنی طولانی مدت بر سطوح پلاسمایی ACE بسیار محدود می‌باشد، همچنین مکانیسم دقیق عملکرد این آنزیم هنوز به درستی مشخص نشده است (۸، ۱۰). Engeli و همکاران کاهش مقادیر سرمی ACE را پس از کاهش معنی‌دار وزن در زنان یائسه‌ی چاق از طریق رژیم غذایی و تمرینات ژیمناستیک در آب گزارش کرده‌اند. علاوه بر این، بیان کردند از شروع تحقیق تا کاهش متوسط وزن آزمودنی‌ها هیچ ارتباطی بین سطوح سرمی ACE و کاهش وزن دیده نشد (۱۰). هم‌راستا با این تحقیق، Harp و همکاران (۱۴) و نیز Wang و همکاران (۸) پس از کاهش معنی‌دار وزن در آزمودنی‌های خود توسط رژیم غذایی، کاهش معنی‌دار ACE را گزارش کرده‌اند. Wang و همکاران ACE را به عنوان بهترین پیش‌بین کاهش وزن معرفی کرده‌اند، همچنین بیان کردند که این آنزیم، با مقدار پروتئین مصرفی و فیبرینوژن (FG یا Fibrinogen) تعامل بسیار بالایی دارد و در افرادی که مقدار FG در آن‌ها بالاتر است، قدرت پیشگویی ACE برای کاهش وزن در این افراد افزایش می‌یابد. Wang و همکاران به این نکته نیز اشاره کردند که قبل از کاهش معنی‌دار وزن، هیچ تغییری در سطوح ACE دیده نشده است و همچنین ارتباط نزدیک این آنزیم را با هورمون‌های



مشاهده نکردند (۱۹). توضیح وجود این تناقض‌ها بسیار دشوار است؛ چرا که مکانیسم دقیق عملکرد ACE پلاسمایی به دنبال فعالیت بدنی مشخص نشده است (۲۰، ۱۱).

بنابراین مداخله‌ی ورزشی با توجه به سطوح پایه‌ی ACE ممکن است اثرات متفاوتی را نشان دهد. به عبارتی، وضعیت سلامتی آزمودنی‌ها، عدم فعالیت بدنی، عدم کنترل رژیم غذایی (۱۵-۱۴)، هورمون‌های جنسی و هورمون‌های تنظیم‌کننده‌ی اشتها (۴) می‌تواند از عوامل اثرگذار در پاسخ این متغیر به فعالیت ورزشی باشد. از این رو، به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر، سازگاری‌هایی حاصل در هورمون‌ها (۲۰، ۸)، عدم تغییرات وزنی آزمودنی‌ها (۱۵-۱۴، ۱۰)، شدت و مدت تمرینات (۷) منجر به پاسخ افزایش در سطوح پلاسمایی ACE شده باشد.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که میانسالی با افزایش ACE و در پی آن، افزایش AngII و همچنین بیشتر شدن فشار خون همراه خواهد بود (۲۳-۲۱). علت بالا رفتن فشار خون را می‌توان عواملی مانند افزایش گیرنده‌های AngII در این افراد دانست. بررسی‌ها در این مورد مؤید آن است که با افزایش سن، میزان حساسیت به AngII در افراد میانسال گسترش می‌یابد و شانس ابتلا به فشار خون نیز افزایش می‌یابد (۲۵-۲۴، ۲۱).

از طرفی، برخی یافته‌ها نیز نشان داده‌اند که افزایش سن، با روند تدریجی شاخص‌های استرس اکسیداتیو همراه است که افزایش این شاخص‌ها خود منجر به افزایش فشار خون می‌شود (۲۶). از عوامل مهم دیگر در افزایش فشار خون، حساسیت به سدیم در سنین بالاتر است (۲۷). کم تحرکی و عدم فعالیت ورزشی از طریق افزایش سطح سدیم سرم،

سوی دیگر، آزمودنی‌های تحقیق حاضر زنان یائسه بودند و بر اساس نتایج تحقیقات گذشته، افزایش سطوح ACE در جوانان پس از برداشت تخمدان‌ها و کاهش آن با تزریق استروژن گزارش شده است (۱۶). همچنین محققان بیان کرده‌اند بیشترین مقدار ACE در زمان قاعدگی مربوط به زمانی است که فرد کمترین مقدار استروژن را دارد و این تغییرات، ممکن است از طریق مهار سنتز ریونوکلئیک پیامبر ACE و یا تغییرات در شکاف اتصال این آنزیم به غشا باشد (۱۶). پس می‌توان به این نکته اشاره کرد که ممکن است سطوح اولیه‌ی ACE در آزمودنی‌های تحقیق حاضر و تحقیقات قبلی متفاوت باشد. از سوی دیگر، بررسی‌ها نشان می‌دهد که بیان ژنی ACE از دو طریق می‌تواند تحت تأثیر قرار گیرد؛ اولین مورد، تحریک گیرنده‌های سلولی و به دنبال آن، تحریک پروموتورهای ژن ACE و دومین مورد نیز مقدار فعالیت آنزیم مهارکننده‌ی آنزیم ACE می‌باشد (۱۸-۱۷).

نتایج متناقضی در تحقیقات اندک پیشین در رابطه با سطوح پلاسمایی این آنزیم و فعالیت بدنی گزارش شده است (۲۰-۱۹، ۹، ۷). Woods و همکاران، افزایش معنی‌دار سطوح ACE در پاسخ به یک جلسه تمرین و افت بلافاصله‌ی آن پس از تمرین را گزارش داده‌اند (۲۰). این در حالی است که در مطالعه‌ی Day و همکاران، تفاوت معنی‌داری در سطوح خونی ACE در پاسخ به یک جلسه فعالیت ورزشی هوازی یا مقاومتی مشاهده نشد (۹). سطح سرمی بالای ACE در کودکان در مطالعه‌ی Arvay و همکاران در پاسخ به ورزش‌های فزاینده گزارش شده است (۷). همچنین Fyhrquist و همکاران تغییر معنی‌داری را پس از دوی ماراتون در سطح سرم ACE آزمودنی‌ها

مثال افزایش حجم ضربه‌ای) و همچنین، افزایش استفاده از اکسیژن توسط عضلات فعال (برای مثال افزایش چگالی مویرگی / میتوکندری) می‌تواند به عنوان ساز و کارهای اصلی پیشرفت در ظرفیت هوازی در نظر گرفته شوند (۳۱). همچنین، سرعت فسفریلاسیون هوازی (Oxidative phosphorylation) به دنبال تمرینات، صرف نظر از نوع تمرین افزایش می‌یابد (۳۲). این سازگاری ممکن است در نتیجه‌ی افزایش تعداد و فعالیت آنزیم‌های اکسایشی عضله حاصل شود (۳۲-۳۳)، که می‌تواند به عنوان یکی از ساز و کارهای احتمالی برای افزایش در  $VO_{2max}$  در نظر گرفته شود.

تمرین هوازی در بدن با تغییرات زیادی از جمله ترکیب بدن، تغییرات هورمونی، نوروپیتیدی و سیستم عصبی همراه می‌باشد. اما نمی‌توان به طور دقیق اشاره کرد که چه عاملی منجر به افزایش سطوح ACE در آزمودنی شده است. به هر حال، بررسی‌های بیشتری برای درک بهتر اثر ورزش بر سطوح پلاسمایی ACE نیاز است.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان از آقای دکتر مهدی هدایتی به دلیل مشاوره علمی سپاسگزاری می‌نمایند.

گیرنده‌های AngII و نیز بیشتر شدن بیان ژنی رنین و تحریک سیستم رنین - آنژیوتنسن منجر به افزایش AngII می‌شود که خود عاملی است که در فرایند افزایش فشار خون نقش مهمی را ایفا می‌کند (۲۸). از آن جایی که AngII از طریق تأثیر آنزیم مبدل آنژیوتنسن بر AngI به وجود می‌آید، در نتیجه در تحقیق حاضر این انتظار می‌رود که افزایش این آنزیم همراه با افزایش فشار خون باشد، اما تمرینات ورزشی نیز از چندین طریق می‌تواند اثر مفیدی بر عامل‌های ژنی و خونی مؤثر در فشار خون بالا داشته باشند (۱۳).

مهم‌ترین تأثیر تمرینات ورزشی در سطح مولکولی و بیان ژنی، افزایش در بیان ژن آنزیم‌های کاهنده‌ی فعالیت ACE (آنزیم مهارگر ACE) می‌باشد که اثر بسیار مهمی در سلامت قلبی - عروقی دارد (۲۹). از سوی دیگر، تمرین هوازی منجر به کاهش فعالیت سیستم عصبی خودکار و مقاومت عروقی می‌شود که این عوامل نیز می‌توانند منجر به کاهش فشار خون شوند. علاوه بر این، تمرین هوازی کاهش سطوح فعالیت رنین و نورآدرنالین را به همراه دارد (۳۰). بنابراین با توجه به یافته‌های این تحقیق، به نظر می‌رسد تأثیر تمرین هوازی بر فشار خون بارز بوده است.

تأثیر دیگر تمرین هوازی بر این افراد، افزایش معنی‌دار  $VO_{2max}$  است. افزایش تحویل اکسیژن (برای

### References

1. Rahimian Mashhad Z, Attarzade Hoseyni SR, Aryannejhad J. The effect of aerobic training and diet on cardiovascular risk factors and blood pressure in overweight and obese women with hypertension. *Iran J Endocrinol Metab* 2010; 12(4): 376-84. [In Persian].
2. Sturrock E, Natesh R, van Rooyen J, Acharya K. Structure of angiotensin I-converting enzyme. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61(21): 2677-86.
3. Paul M, Poyan MA, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev* 2006; 86(3): 747-803.
4. Hooper NM, Turner AJ. An ACE structure. *Nat Struct Biol* 2003; 10(3): 155-7.

5. Firoozrai M, Sharifi AM, Najafi M, Hosseini Gohari L. Angiotensin converting enzyme(ACE) activity, levels of lipids and apolipoproteins in patients with coronary artery disease. *Razi J Med Sci* 2008; 14(57): 151-6. [In Persian].
6. Cooper R, McFarlane-Anderson N, Bennett FI, Wilks R, Puras A, Tewksbury D, et al. ACE, angiotensinogen and obesity: a potential pathway leading to hypertension. *J Hum Hypertens* 1997; 11(2): 107-11.
7. Arvay G, Szathmary G, Reuter M. Changes in angiotensin-converting enzyme activity and angiotensin I level in asthmatic and healthy children after submaximal physical work. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 69(2): 178-80.
8. Wang P, Holst C, Andersen MR, Astrup A, Bouwman FG, van Otterdijk S, et al. Blood profile of proteins and steroid hormones predicts weight change after weight loss with interactions of dietary protein level and glycemic index. *PLoS One* 2011; 6(2): e16773.
9. Day SH, Williams C, Folland JP, Gohlke P, Williams AG. The acute effects of exercise and glucose ingestion on circulating angiotensin-converting enzyme in humans. *Eur J Appl Physiol* 2004; 92(4-5): 579-83.
10. Engeli S, Bohnke J, Gorzelniak K, et al. Weight loss and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Hypertension* 2005; 45(3): 356-62.
11. Dwyer GB, Davies SE. ACSM's health-related physical fitness assessment manual. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2008.
12. Jackson AS, Pollock ML, Ward A. Generalized equations for predicting body density of women. *Med Sci Sports Exerc* 1980; 12(3): 175-81.
13. Taribiyani B, Baghaiee B, Attarzadeh Hosseini SR. Effect of eight week moderate exercise training on angiotensin converting enzyme gene expression and angiotensin II activity in middle-aged men. *Razi J Med Sci* 2012; 19(102): 53-64. [In Persian].
14. Harp JB, Henry SA, DiGirolamo M. Dietary weight loss decreases serum angiotensin-converting enzyme activity in obese adults. *Obes Res* 2002; 10(10): 985-90.
15. Berggren JR, Hulver MW, Houmard JA. Fat as an endocrine organ: influence of exercise. *J Appl Physiol* (1985 ) 2005; 99(2): 757-64.
16. Sanders J, Harris J, Cooper J, Gohlke P, Humphries SE, Montgomery H, et al. Lack of change in serum angiotensin-converting enzyme activity during the menstrual cycle. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2006; 7(4): 231-5.
17. Abdulla J, Burchardt H, Abildstrom Z, Kober L, Torp-Pedersen C. The angiotensin converting enzyme inhibitor trandolapril has neutral effect on exercise tolerance or functional class in patients with myocardial infarction and reduced left ventricular systolic function. *Eur Heart J* 2003; 24(23): 2116-22.
18. Carreira MA, Tavares LR, Leite RF, Ribeiro JC, Santos AC, Pereira KG, et al. Exercise testing in hypertensive patients taking different angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Arq Bras Cardiol* 2003; 80(2): 133-32.
19. Fyhrquist F, Dessypris A, Immonen I. Marathon run: effects on plasma renin activity, renin substrate, angiotensin converting enzyme, and cortisol. *Horm Metab Res* 1983; 15(2): 96-9.
20. Woods D, Sanders J, Jones A, Hawe E, Gohlke P, Humphries SE, et al. The serum angiotensin-converting enzyme and angiotensin II response to altered posture and acute exercise, and the influence of ACE genotype. *Eur J Appl Physiol* 2004; 91(2-3): 342-8.
21. Vaziri ND, Wang XQ, Ni ZN, Kivlighn S, Shahinfar S. Effects of aging and AT-1 receptor blockade on NO synthase expression and renal function in SHR. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1592(2): 153-61.
22. Wang Z, Koike T, Li P, Jiang H, Natsume Y, Mu L, et al. Effects of angiotensin II AT1 receptor inhibition and exercise training on insulin action in rats on high-fat diet. *Life Sci* 2012; 90(9-10): 322-7.
23. Makhanova NA, Crowley SD, Griffiths RC, Coffman TM. Gene expression profiles linked to AT1 angiotensin receptors in the kidney. *Physiol Genomics* 2010; 42A(3): 211-8.
24. Podhorska-Okolow M, Dziegiel P, Gomulkiewicz A, Dolinska-Krajewska B, Murawska-Cialowicz E, Jethon Z, et al. The role of AT1 and AT2 angiotensin receptors in the mechanism of apoptosis in renal tubular cells after physical exercise. *Rocz Akad Med Bialymst* 2004; 49(Suppl 1): 8-10.
25. Dahlof B, Devereux RB, Kjeldsen SE, Julius S, Beevers G, de FU, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet* 2002; 359(9311): 995-1003.
26. Keidar S, Heinrich R, Kaplan M, Aviram M. Oxidative stress increases the expression of the angiotensin-II receptor type 1 in mouse peritoneal macrophages. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2002; 3(1): 24-30.
27. Stevens VA, Saad S, Poronnik P, Fenton-Lee CA, Polhill TS, Pollock CA. The role of SGK-1 in angiotensin II-mediated sodium reabsorption in human proximal tubular cells. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(6): 1834-43.

28. Jones JM, Park JJ, Johnson J, Vizcaino D, Hand B, Ferrell R, et al. Renin-angiotensin system genes and exercise training-induced changes in sodium excretion in African American hypertensives. *Ethn Dis* 2006; 16(3): 666-74.
29. Brothers RM, Haslund ML, Wray DW, Raven PB, Sander M. Exercise-induced inhibition of angiotensin II vasoconstriction in human thigh muscle. *J Physiol* 2006; 577(Pt 2): 727-37.
30. Fagard RH. Exercise is good for your blood pressure: effects of endurance training and resistance training. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33(9): 853-6.
31. Bayati M, Farzad B, Gharakhanlou R, Agha-Alinejad H. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces performance and metabolic adaptations that resemble 'all-out' sprint interval training. *J Sports Sci Med* 2011; 10(3): 571-6.
32. McKay BR, Paterson DH, Kowalchuk JM. Effect of short-term high-intensity interval training vs. continuous training on O<sub>2</sub> uptake kinetics, muscle deoxygenation, and exercise performance. *J Appl Physiol* (1985 ) 2009; 107(1): 128-38.
33. Burgomaster KA, Howarth KR, Phillips SM, Rakobowchuk M, Macdonald MJ, McGee SL, et al. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *J Physiol* 2008; 586(1): 151-60.

## Effect of Aerobic Training on Concentration of Plasma Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) in Postmenopausal Women

Maryam Mirhaj<sup>1</sup>, Elahe Talebi-Garakani PhD<sup>2</sup>, Rozita Fathi PhD<sup>2</sup>, Alireza Safarzadeh PhD<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Angiotensin converting enzyme (ACE) is secreted from vascular endothelium. This enzyme is one of the main determinants of blood pressure regulation. This study aimed to investigate the effect of aerobic training on plasma concentration of angiotensin-converting enzyme in postmenopausal women.

**Methods:** 14 postmenopausal women (40-65 years old) were enrolled. Plasma levels of angiotensin-converting enzyme, anthropometric indices, maximal oxygen uptake ( $VO_2max$ ), and systolic and diastolic blood pressure were measured before and after a training program. The exercise intensity started by 40-45% of maximum heart rate reserve for the first week and gradually received to 70-80% of maximum heart rate reserve in eight weeks.

**Findings:** The plasma levels of angiotensin-converting enzyme after 8 weeks of aerobic exercise significantly increased ( $P = 0.020$ ). In addition, a significant decrease in waist circumference was observed ( $P < 0.001$ ). Maximal oxygen uptake increased significantly, too ( $P < 0.001$ ). There was significant negative correlation between the changes in angiotensin-converting enzyme and the changes in waist circumference ( $P = 0.020$ ,  $r = -0.601$ ), weight ( $P = 0.020$ ,  $r = -0.63$ ) and body mass index (BMI) ( $P = 0.010$ ,  $r = -0.637$ ).

**Conclusion:** This study indicated that aerobic training could increase plasma levels of angiotensin-converting enzyme in postmenopausal women, without significant changes in body composition and blood pressure. Further studies with more numbers of subjects are needed to confirm these results.

**Keywords:** Angiotensin-converting enzyme, Aerobic training, Blood pressure, Fat percentage, Body composition

**Citation:** Mirhaj M, Talebi-Garakani E, Fathi R, Safarzadeh A. Effect of Aerobic Training on Concentration of Plasma Angiotensin Converting Enzyme (ACE) in Postmenopausal Women. J Isfahan Med Sch 2015; 32(310): 1965-75

1- Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran  
2- Associate Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran  
3- Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

**Corresponding Author:** Rozita Fathi PhD, Email: roz\_fathi@yahoo.com

## استخراج و شناسایی میلوماسل در تصاویر میکروسکوپی اسپیراسیون مغز استخوان

زهرا سعیدی زاده<sup>۱</sup>، دکتر اردشیر طالبی<sup>۲</sup>، دکتر علیرضا مهری دهنوی<sup>۳</sup>، دکتر حسین ربانی<sup>۴</sup>، امید صراف زاده<sup>۴</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** پلاسماسل‌ها، از نوعی گلوبول سفید خون به نام لنفوسیت B در مغز استخوان ساخته می‌شوند و کار آن‌ها، تولید پادتن‌ها است که به دفاع علیه عفونت‌ها کمک می‌کنند. تکثیر زیاد و بدخیم پلاسماسل‌ها (میلوماسل‌ها) در مغز استخوان نشان دهنده‌ی بیماری سرطان خون از نوع میلوم متعدد است. گاهی وجود عفونت در بدن، منجر به افزایش زیاد پلاسماسل‌ها می‌شود که در بعضی موارد، با سرطان میلوم متعدد اشتباه گرفته می‌شود. تشخیص میلوماسل‌ها از پلاسماسل‌های سالم بر اساس عواملی از جمله نسبت هسته به سیتوپلاسم، تراکم کروماتین‌های هسته، هاله‌ی روشن اطراف هسته و غیره انجام می‌شود که به دلیل واگذاری تصمیم نهایی به چشم و نظر انسان گاهی سبب تشخیص اشتباه می‌شود. مطالعه‌ی حاضر با هدف فراهم‌سازی امکان شناسایی دقیق میلوماسل توسط نرم‌افزار و با استفاده از تکنیک‌های نوین پردازش تصویر انجام شد.

**روش‌ها:** در این پژوهش، ابتدا با استفاده از الگوریتم بهبود کنتراست و خوشه‌بندی K- میانگین (K-means clustering)، هسته و سیتوپلاسم سلول‌ها به طور کامل استخراج شدند. سپس برای جداسازی هسته‌ها و سلول‌های به هم چسبیده، به ترتیب از دو الگوریتم تنگنا و آب پخش استفاده شد. در پایان، با استخراج ویژگی از هسته و سیتوپلاسم سلول‌های استخراج شده، میلوماسل‌ها از پلاسماسل‌های سالم افتراق داده شدند.

**یافته‌ها:** این مطالعه بر روی ۳۰ تصویر میکروسکوپی، شامل ۶۴ سلول پلاسماسل طبیعی و ۷۳ سلول میلوماسل، انجام شد و در افتراق میلوماسل و پلاسماسل‌های طبیعی، صحت ۹۹/۲۷ درصد حاصل گردید.

**نتیجه‌گیری:** در این پژوهش، روشی نیمه اتوماتیک جهت تشخیص پلاسماسل‌ها و تفکیک پلاسماسل‌های بدخیم از پلاسماسل‌های سالم در تصاویر میکروسکوپی مغز استخوان ارائه شد.

**واژگان کلیدی:** B سل‌ها، پلاسماسل میلوما، آنالیز تصاویر

**ارجاع:** سعیدی زاده زهرا، طالبی اردشیر، مهری دهنوی علیرضا، ربانی حسین، صراف زاده امید. استخراج و شناسایی میلوماسل در تصاویر

میکروسکوپی اسپیراسیون مغز استخوان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۰): ۱۹۸۴-۱۹۷۶

## مقدمه

دستگاه‌های بسیار پیشرفته در زمینه‌ی تشخیص و شمارش انواع گوناگون سلول‌های خونی نظر مستقیم پزشک بر روی لام خون محیطی، حرف آخر را در زمینه‌ی تشخیص و به دنبال آن درمان می‌زند. یکی از

از حیث دفاع در برابر عوامل خارجی، گلوبول‌های سفید در پیشانی جبهه‌ی جنگ با عوامل بیگانه‌ی نفوذی به بدن قرار دارند (۱). امروزه با وجود

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

۲- دانشیار، گروه باتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه بیوالکترونیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فناوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشجوی دکتری، گروه بیوالکترونیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فناوری‌های نوین علوم پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: talebi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر اردشیر طالبی

پلاسماسلی، نتایج قابل قبولی داشته باشد، حداقل به عنوان مشاور و ابزار کمکی برای پاتولوژیست، برداشتن گام مهمی در راستای کاربرد دانش مهندسی در زمینه‌ی علم پزشکی محسوب می‌شود. در این مطالعه، با استفاده از تکنیک‌های بهبود تصویر، کنتراست مابین پلاسماسل‌ها و گلبول‌های قرمز افزایش داده شد و سپس از کنتراست ایجاد شده و جداسازی رنگ‌ها، برای استخراج هسته و سیتوپلاسم پلاسماسل‌ها از تصویر استفاده گردید. در ادامه الگوریتم‌های پیشنهادی برای جداسازی هسته‌ها و سیتوپلاسم‌های به هم چسبیده ارایه و ویژگی‌های مفید برای افتراق مابین میلوماسل‌ها و پلاسماسل‌های طبیعی مطرح شد. در پایان، روش پیشنهادی بر روی ۳۰ تصویر میکروسکوپی اعمال شد و برای تعیین دقت آن، تعداد میلوماسل‌های تشخیصی با تعداد میلوماسل‌های تعیین شده توسط پزشک متخصص مقایسه گردید.

### روش‌ها

برای اجرای این مطالعه از آن جایی که حجم جامعه نامشخص بود، حجم نمونه با توجه به فرمول حجم نمونه‌ی کوکران (Cochran) به صورت معادله‌ی تعریف شد. در ضریب اطمینان ۹۵ درصد،  $Z = 1/96$  بود و به دلیل این که در این جا نمونه‌ها به دو گروه پلاسماسل طبیعی و بدخیم تقسیم می‌شدند،  $p = q = 0/5$  خواهد بود. بنابراین برای میزان خطای مجاز،  $0/14$  مقدار حجم نمونه برابر با ۵۰ نمونه حاصل گردید.

$$n = \frac{Z^2 pq}{d^2} \quad \text{معادله‌ی ۱}$$

در این مطالعه با همکاری بخش پاتولوژی

زمینه‌هایی که نظر پزشک به صورت مستقیم بر اسمیر مغز استخوان بسیار حیاتی است، تشخیص و افتراق میان پلاسماسل بدخیم و پلاسماسل طبیعی است. بنابراین وجود روش‌هایی که با استفاده از الگوریتم‌ها بینایی ماشین (Machine vision) بتوانند این تمایز را مشخص کنند، حداقل به عنوان مشاور برای پاتولوژیست، بسیار ارزشمند خواهد بود. پلاسماسل‌ها، از نوعی گلبول سفید خون به نام لنفوسیت B در مغز استخوان ساخته می‌شوند و کار آن‌ها تولید پادتن‌ها است که به دفاع علیه عفونت‌ها کمک می‌کنند. تکثیر زیاد و بدخیم پلاسماسل‌ها در مغز استخوان، نشان دهنده‌ی بیماری سرطان خون از نوع میلوم متعدد (Multiple myeloma) است (۲).

ارزیابی میزان درگیری مغز استخوان توسط پلاسماسل‌های بدخیم یکی از عوامل مهم در تشخیص و درمان بیماری میلوم متعدد و دیگر ناهنجاری‌های پلاسماسل است. احتمال وجود خطا در تشخیص میلوماسل‌ها از پلاسماسل‌های سالم به دلیل وابسته بودن به مهارت پاتولوژیست وجود دارد که در روش‌های اتوماتیک سعی در برطرف کردن این مشکلات است. استفاده از تشخیص کامپیوتری که مبتنی بر تکنیک‌های پردازش تصویر و نرم‌افزاری می‌باشد، علاوه بر سادگی و ارزانی، سبب صرفه جویی در زمان و افزایش دقت در تشخیص بیماری می‌گردد.

پژوهش حاضر با هدف فراهم‌سازی امکان شناسایی دقیق و شمارش پلاسماسل‌ها توسط نرم‌افزار و با استفاده از تکنیک‌های نوین پردازش تصویر انجام شد. لازم به ذکر است که تولید نرم‌افزاری که بتواند در زمینه‌ی تشخیص بدخیمی



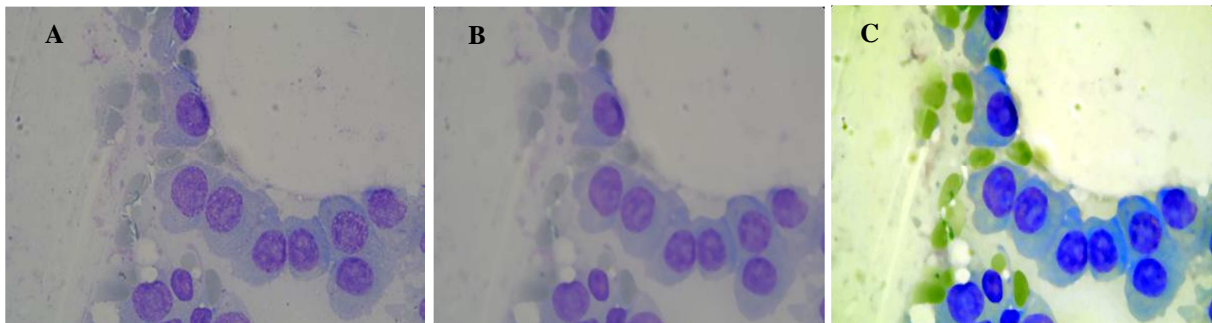
پس از انتقال تصاویر به رایانه، مراحل نرم‌افزاری پردازش تصاویر به شرح زیر انجام شدند:

### (۱) پیش پردازش

در این مرحله، به منظور کاهش نویز نقطه‌ای، یک فیلتر میانه (Median Filter) بر روی تصویر رنگی اعمال گردید. جهت جلوگیری از کاهش کیفیت لبه‌های تصویر، از اعمال فیلتر پایین‌گذر صرف نظر شد. پس از اعمال فیلتر، به منظور افزایش کنتراست از تابع کشش خطی کنتراست (Linear contrast stretching) (۳) بر روی هر سه زیر باندهای تصویر رنگی RGB (Red-green-blue) استفاده شد. این تابع به صورت معادله‌ی ۲ تعریف می‌شود و بر اساس آن، ورودی‌های کمتر از  $m$  به محدوده‌ی باریک و تاریک و ورودی‌های بزرگ‌تر از  $m$  به محدوده‌ی باریک و روشن فشرده می‌شوند و نتیجه‌ی آن، کنتراست بالاتر تصویر است. در این معادله،  $r$  مربوط به شدت تصویر ورودی و  $S$  مربوط به شدت تصویر خروجی است و  $E$  شیب تابع را کنترل می‌کند. نتایج حاصل از اعمال فیلتر میانه و اثر بهبود کنتراست در شکل ۱ آمده است.

$$S = T(r) = \frac{1}{1 + \left(\frac{m}{r}\right)^E} \quad \text{معادله‌ی ۲}$$

بیمارستان‌های الزهرا (س) و سیدالشهدا (ع)، ۳ اسمیر آسپیراسیون مغز استخوان مبتلا به بیماری میلو م متعدد و ۳ اسمیر آسپیراسیون مغز استخوان طبیعی و راکتیو (Reactive) تهیه شد. از آن جایی که هدف این تحقیق طراحی اولیه نرم‌افزار بود، بنابراین تعداد بیمار و لام در طراحی اولیه چندان مورد نظر نبود. مسلم است که برای تکمیل طرح در آینده‌ی نزدیک، تعداد بیشتر بیمار و لام جهت افزایش پایگاه داده و بهبود نتایج عملی مورد نیاز است. از اسمیرهای به دست آمده، توسط دوربین دیجیتال Nikon ۱ V۱ که بر روی میکروسکوپ نوری Nikon Eclipse ۵۰i با بزرگ‌نمایی (Magnification) نهایی ۱۰۰۰ سوار است، ۳۰ تصویر رنگی با رزولوشن (Resolution) بالا گرفته شد و سپس برای پردازش به رایانه منتقل گردید. تشخیص طبیعی یا مبتلا به سرطان بودن اسمیرهای پیش‌گفته، علاوه بر پزشک متخصص توسط فلوسایتومتری (Flow cytometry) نیز تأیید شد. لازم به ذکر است که تصاویر استفاده شده برای این مطالعه در [http://misp.mui.ac.ir/fa/plasma\\_cell\\_lineage images](http://misp.mui.ac.ir/fa/plasma_cell_lineage_images) قابل دانلود می‌باشد.



شکل ۱. نتایج پیش پردازش: (A) تصویر اصلی، (B) بعد از اعمال فیلتر میانه، (C) بعد از بهبود کنتراست

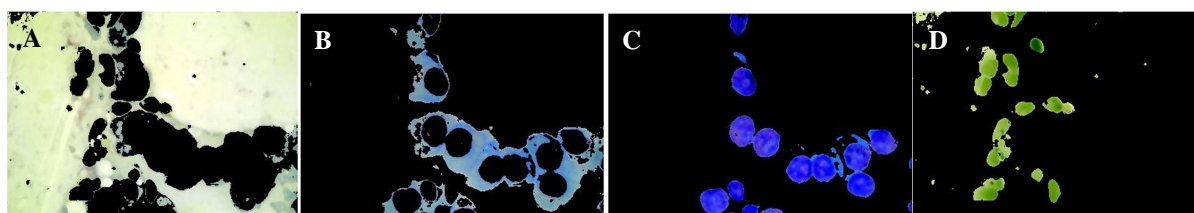


## ۲) بخش‌بندی هسته و سیتوپلاسم

در این مرحله از تفاوت رنگ ایجاد شده برای جداسازی هسته و سیتوپلاسم از سایر اجزای تصویر استفاده شد. برای این منظور، ابتدا سیستم رنگ تصویر به سیستم رنگ (Luminance-chrominance a and b) تغییر یافت. علت انجام این کار، این بود که میزان همبستگی رنگ‌ها در این نوع سیستم رنگ به یکدیگر کمتر می‌باشد و این امر، به تشخیص اجزای سلول به صورت مستقل کمک می‌کند. برای استخراج هسته و سیتوپلاسم از روش خوشه‌بندی K- میانگین (K-means clustering) با چهار کلاس استفاده شد (۴-۶). برای چهار کلاس ایجاد شده، میانگین زیر باند سبز محاسبه گردید. کلاسی که بیشترین مقدار میانگین را در زیر باند سبز داشت، متعلق به پس زمینه‌ی تصویر و حاوی مقادیر بالای روشنایی بود. کلاسی که در رده‌ی دوم قرار داشت، به گلبول‌های قرمز تعلق داشت که با بهبود کنتراست در مرحله‌ی قبل، به رنگ سبز متمایل می‌شد. کلاس بعدی، متعلق

به سیتوپلاسم‌های تصویر بود که دارای رنگ آبی روشن بودند و در نهایت، کلاسی که کمترین مقدار میانگین را در زیر باند سبز داشت، متعلق به هسته‌های تصویر بود که به رنگ آبی تیره مایل به بنفش مشاهده می‌شدند. شکل ۲ چهار کلاس خروجی حاصل از خوشه‌بندی K- میانگین را نشان می‌دهد.

در گام بعدی، به منظور کاهش نویزهای نقطه‌ای و خالص نمودن ماسک هسته، تصویر هسته‌ها با استفاده از عملگرهای شکل‌شناسی (Morphological operation) (۷-۸) یک بار با فیلتر دیسکی شکل (Disk shape) به قطر ۲ پیکسل بسته شد و سپس با همان فیلتر به قطر ۸ پیکسل باز گردید. در پایان، تمامی اشیایی را که در تصویر مساحتی کمتر از ۱۰۰ پیکسل داشتند، از تصویر حذف شدند. به این ترتیب، تصویر ماسک هسته‌ها ساخته شد. تمام این مراحل برای ساخت تصویر ماسک سیتوپلاسم نیز انجام گردید؛ با این تفاوت که مقادیر پیکسل فیلترها به ترتیب زیر تغییر یافت: ۳، ۵ و ۱۰۰۰. شکل ۳ نتیجه‌ی خروجی این مرحله را نمایش می‌دهد.



شکل ۲. چهار کلاس به دست آمده از روش خوشه‌بندی K- میانگین



شکل ۳. نتایج بخش‌بندی هسته و سیتوپلاسم: (A) تصویر اصلی، (B) ماسک سیتوپلاسم، (C) ماسک هسته

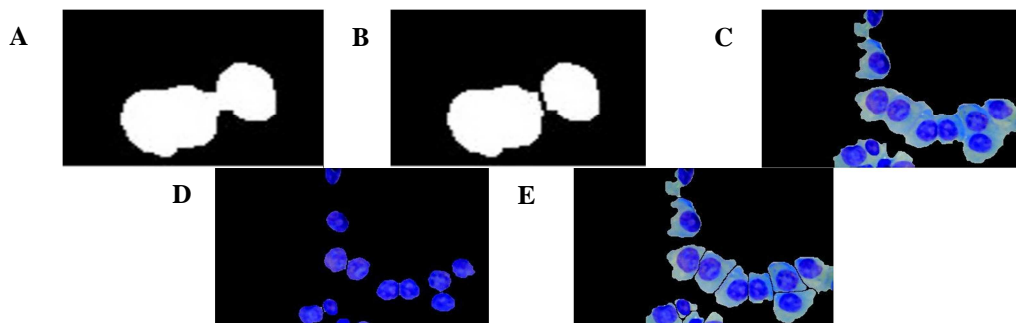
است قبل از اعمال تبدیل آب پخشان، یک سری پردازش‌هایی روی تصویر انجام شود تا ناحیه‌هایی با تغییرات کوچک در شدت که مقادیر گرادیان کوچکی دارند، حذف شوند تا با اعمال تبدیل آب پخشان، قطعه‌بندی به طور صحیح انجام گیرد (۳).

هسته‌ها نیز به دلیل وجود کروماتین دارای سطوح شدت روشنایی مختلف هستند و به همین دلیل، دارای گرادیان‌های مختلف نیز می‌باشند. برای غلبه بر این مشکل، از تبدیل آب پخشان کنترل شده با نشانگر استفاده می‌شود (۱۱-۱۰).

در این جا ابتدا تصویر رنگی سیتوپلاسم‌های متراکم به تصویر سطح خاکستری (Gray scale) تبدیل می‌شود و سپس تصویر گرادیان آن به دست می‌آید. سپس گرادیان‌های ضعیف حذف و تصویر ماسک هسته‌های جدا شده به آن اعمال می‌شود. این عمل، سبب می‌شود که از بیش قطعه‌بندی بعد از اعمال تبدیل آب پخشان جلوگیری شود. در نهایت، خطوط ایجاد شده از تبدیل آب پخشان به تصویر اصلی اعمال می‌شود. شکل ۴ نتایج حاصل از جداسازی هسته‌های به هم چسبیده و سیتوپلاسم‌های متراکم را نشان می‌دهد.

۲-۱) جداسازی هسته‌های به هم چسبیده برای استخراج ویژگی از هسته‌ها، نیاز است که هسته‌های متصل به هم از یکدیگر جدا شوند. برای این کار، روشی بر مبنای الگوریتم تنگنا (Bottleneck algorithm) (۹) ارایه شد. الگوریتم تنگنا از دو قسمت اصلی تشکیل شده است. برای قسمت اول روی توده‌ای که شامل دو یا تعداد بیشتری شیء به هم چسبیده است، تمرکز می‌شود. نقاط شکاف در باریک‌ترین بخش توده به نام تنگنا قرار دارند. پس از تعیین نقاط شکاف، در قسمت دوم این نقاط توسط خط به یکدیگر متصل می‌شوند تا توده به دو قسمت تقسیم شود.

۲-۲) جداسازی سیتوپلاسم‌های به هم چسبیده جداسازی سیتوپلاسم‌های متراکم نیاز به الگوریتمی دارد که از گرادیان (Gradient) مابین سیتوپلاسم‌های متراکم برای جداسازی استفاده کند. بنابراین از الگوریتم آب پخشان (Watershed algorithm) (۷) برای این منظور استفاده شد. کاربرد مستقیم الگوریتم آب پخشان به دلیل نویز و سایر بی‌نظمی‌های گرادیان، به طور معمول منجر به بیش قطعه‌بندی (Over segmentation) می‌شود. به همین دلیل، لازم



شکل ۴. نتایج جداسازی: (A) تصویر دو هسته به هم چسبیده، (B) هسته‌های جدا شده توسط الگوریتم تنگنا، (C) تصویر سلول‌های متراکم، (D) تصویر کاملی از هسته‌های جدا شده توسط الگوریتم تنگنا، (E) سلول‌های جدا شده توسط اعمال تصویر هسته‌های جدا شده و الگوریتم آب پخشان

Standard Deviation:  $\sigma_i =$ 

$$\sqrt{\frac{\sum_{x=1}^M \sum_{y=1}^N (I_i(x,y) - \mu)^2}{M \times N}} \quad \text{معادله ۳}$$

$$\text{Entropy: } \text{ent}_i = \frac{\sum_{x=1}^M \sum_{y=1}^N I_i(x,y) (-\ln I_i(x,y))}{M \times N}$$

معادله ۴

## یافته‌ها

الگوریتم پیش گفته جهت استخراج و جداسازی هسته و سیتوپلاسم بر روی ۳۰ تصویر میکروسکوپی، منجر به استخراج ۲۳۶ سلول شد. از این میان، ۷۳ سلول پلاسماسل‌های بدخیم، ۶۴ سلول پلاسماسل‌های طبیعی و ۹۹ سلول سایر سلول‌های مغز استخوان و همچنین پلاسماسل‌های مورد شک از نظر طبیعی یا بدخیم بودن را شامل می‌شدند. همان‌طور که اشاره شد، این الگوریتم طرح اولیه‌ی نرم‌افزار بود که بر روی تعداد نمونه‌های کم نیز نتایج قابل قبولی داشت. افزایش تعداد بیمار و لام جهت تکمیل پایگاه داده، گام بعدی در زمینه‌ی تکمیل نرم‌افزار است که به عنوان Future work در آینده‌ی نزدیک انجام خواهد گرفت. در این مطالعه فقط بر روی دو گروه پلاسماسل‌های طبیعی و بدخیم طبقه‌بندی صورت پذیرفت. بنابراین دو ویژگی استخراج شده از این ۱۳۷ سلول، به طبقه‌بندی کننده‌ی SVM (۱۳-۱۲) فرستاده شد تا بر اساس آن‌ها، پلاسماسل‌های بدخیم از طبیعی تفکیک گردد. به منظور بررسی دقت و صحت نتایج به دست آمده در طبقه‌بندی به صورت آماری، پارامترهایی چون حساسیت (Sensitivity)، ویژگی (Specificity) و صحت (Accuracy) برای نتایج به دست آمده محاسبه شدند. این مقادیر با توجه به معادله‌های ۵ تا ۷ به صورت زیر به دست آمد (۱۴):

$$\text{معادله ۵} \quad \text{حساسیت} = \frac{Tp}{Tp+Fn}$$

## ۳) استخراج ویژگی و طبقه‌بندی

بعد از استخراج هسته و سیتوپلاسم و جداسازی کامل آن‌ها، گام بعدی به دست آوردن ویژگی‌هایی بود که بتوان از آن‌ها برای طبقه‌بندی پلاسماسل‌های سالم از بدخیم استفاده کرد. یک سری ویژگی‌هایی که در این مرحله استخراج می‌شود، ویژگی‌هایی است که پزشک به صورت چشمی برای تفکیک پلاسماسل‌های سالم از بدخیم استفاده می‌کند. هاله‌ی روشن اطراف هسته، هسته با کروماتین شبیه چرخ درشکه در پلاسماسل‌ها، تغییر رنگ هسته و سیتوپلاسم از جمله این ویژگی‌ها هستند. از جمله ویژگی‌های دیگر، می‌توان به ویژگی‌های هندسی سلول مانند گرد بودن هسته، مرکزی نبودن هسته، میزان کشیدگی سیتوپلاسم و ویژگی‌های آماری مانند آنترپی (Entropy)، میانگین و انحراف معیار (Standard deviation) (۷) اشاره کرد. از بین ویژگی‌های پیش گفته، دو ویژگی آماری آنترپی و انحراف معیار که نشان دهنده‌ی پراکندگی داده‌ها از توزیع طبیعی هستند، بهترین نتیجه در تمییز پلاسماسل‌های بدخیم از طبیعی را دارا هستند. مقادیر این ویژگی‌ها در هسته و سیتوپلاسم، به ترتیب نشان دهنده‌ی تغییرات نامنظم شدت روشنایی و رنگ در هسته به دلیل کروماتین‌های متراکم شبیه چرخ درشکه و تغییرات روشنایی سیتوپلاسم حاصل از هاله‌ی روشن اطراف هسته بود. مقادیر این ویژگی‌ها در هسته و سیتوپلاسم و در زیر باند V در سیستم رنگ HSV (Hue-saturation-value) و در زیر باند B در فضای رنگ RGB محاسبه شد و برای طبقه‌بندی پلاسماسل‌های بدخیم از سالم به طبقه‌بندی کننده‌ی SVM (Support vector machine) ارسال گردید.

و انحراف معیار بر روی هسته و سیتوپلاسم سلول ها محاسبه و مقادیر به دست آمده به طبقه بندی کننده‌ی SVM فرستاده و صحت کار انجام شده اندازه گیری شد. همان طور که در جدول ۱ آمده است، ویژگی آنروپی کمترین خطا را در تشخیص میلوماسل ها در هر دو زیر باندها V و B دارد. از بین ۷۳ سلول میلوماسل، همه به درستی به عنوان میلوماسل شناخته شدند، اما از بین ۶۴ سلول پلاسماسل طبیعی، ۶۳ سلول به درستی پلاسماسل طبیعی و ۱ سلول به اشتباه میلوماسل تشخیص داده شد. بنابراین از بین دو ویژگی آنروپی و انحراف معیار هسته و سیتوپلاسم، آنروپی به عنوان ویژگی برتر در تشخیص میلوماسل ها در هر دو زیر باندها V و B با صحت ۹۹/۲۷ انتخاب می شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد زهرا سعیدی زاده به شماره‌ی ۳۹۲۵۰۹ مصوب دانشکده‌ی فناوری‌های نوین پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می باشد. بدین وسیله از زحمات استادان محترم گروه مهندسی پزشکی (بیوالکتریک) دانشکده‌ی فن آوری‌های نوین علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که ما را در انجام این طرح تحقیقاتی یاری نمودند، تشکر و قدردانی می گردد.

$$\text{معادله ۶} \quad \text{ویژگی} = \frac{Tn}{Tn+Fp}$$

$$\text{معادله ۷} \quad \text{صحت} = \frac{Tp + Tn}{Tp + Tn + Fp + Fn}$$

**Tp: تعداد پلاسماسل های بدخیم که توسط الگوریتم نیز به درستی، بدخیم شناسایی می شوند.**  
 **Tn: تعداد پلاسماسل های طبیعی که توسط الگوریتم نیز به درستی، طبیعی شناسایی می شوند.**  
 **Fp: تعداد پلاسماسل های طبیعی که توسط الگوریتم به اشتباه، بدخیم شناسایی می شوند.**  
 **Fn: تعداد پلاسماسل های بدخیم که توسط الگوریتم به اشتباه، طبیعی شناسایی می شوند.**  
 نتایج حاصل از طبقه بندی کننده در جدول ۱ آمده است.

### بحث

در این مطالعه، روشی نیمه اتوماتیک جهت تشخیص و بخش بندی هسته و سیتوپلاسم ارایه گردید. در این روش با استفاده از تکنیک افزایش کنتراست و روش مبتنی بر خوشه بندی k- میانگین، هسته و سیتوپلاسم از سایر اجزای تصویر استخراج شد. سپس برای جداسازی هسته و سیتوپلاسم های متصل به هم، به ترتیب الگوریتم های تنگنا و آب پخشان کنترل شده با نشانگر مورد استفاده قرار گرفت.  
 در پایان، برای افتراق بین پلاسماسل های بدخیم از پلاسماسل های سالم، دو ویژگی مهم مانند آنروپی

جدول ۱. نتایج حاصل از طبقه بندی کننده بر اساس ویژگی های آنروپی و انحراف معیار

| ویژگی         | آنروپی سلول در زیر باندها V و B | انحراف معیار سلول در زیر باندها B | آنروپی سلول در زیر باندها B | انحراف معیار سلول در زیر باندها V | آنروپی سلول در زیر باندها V |
|---------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| صحت (درصد)    | ۹۹/۲۷                           | ۸۱/۷۵                             | ۹۹/۲۷                       | ۶۴/۹۶                             | ۹۳/۴۳                       |
| حساسیت (درصد) | ۱۰۰/۰۰                          | ۷۳/۹۷                             | ۱۰۰/۰۰                      | ۶۵/۷۵                             | ۹۰/۴۱                       |
| ویژگی (درصد)  | ۹۸/۴۴                           | ۹۰/۶۳                             | ۹۸/۴۴                       | ۶۴/۰۶                             | ۹۶/۸۸                       |

## References

1. Guyton CA. Textbook of medical physiology. 11<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2005.
2. Minges Wols HA. Plasma cells. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons; 2006.
3. Mokhtar NR, Harun NH, Mashor MY, Roseline H, Mustafa N, Adollah R, et al. Image enhancement techniques using local, global, bright, dark and partial contrast stretching for acute leukemia images. World Congress on Engineering 2009; 1: 807.
4. Soltanzadeh R, Rabbani H, Talebi A. Extraction of nucleolus candidate zone in white blood cells of peripheral blood smear images using curvelet transform. Computational and Mathematical Methods in Medicine 2012; 2012: 1-12.
5. Chitade AZ, Katiyar S. Colour based image segmentation using k-means clustering. International Journal of Engineering Science and Technology 2010; 2(10): 5319-25.
6. Ravichandran K, Ananthi B. Color skin segmentation using K-means cluster. International Journal of Computational and Applied Mathematics 2009; 4(2): 153-7.
7. Gonzalez RC, Woods RE. Digital image processing. 2<sup>nd</sup> ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall; 2002. p. 299-300.
8. Meyer F, Beucher S. Morphological segmentation. Journal of Visual Communication and Image Representation 1990; 1(1): 21-46.
9. Wang H, Zhang H, Ray N. Clump splitting via bottleneck detection and shape classification. Pattern Recognition 2012; 45(7): 2780-7.
10. Bala A. An Improved watershed image segmentation technique using MATLAB. International Journal of Scientific and Engineering Research 2012; 3(6): 1-4.
11. Acharjya PP, Ghoshal D. A modified watershed segmentation algorithm using distances transform for image segmentation. International Journal of Computer Applications 2012; 52(12): 46-50.
12. Chang CC, Lin CJ. LIBSVM: a library for support vector machines. ACM Transactions on Intelligent Systems and Technology (TIST) 2011; 2(3): 27.
13. Smola A, Scholkopf B. A tutorial on support vector regression. Statistics and Computing 2004; 14(3): 199-222.
14. Glas AS, Lijmer JG, Prins MH, Bossel GJ, Bossuyt PM. The diagnostic odds ratio: a single indicator of test performance. J Clin Epidemiol 2003; 56(11): 1129-35.

## Extraction and Recognition of Myeloma Cells in Microscopic Images of Bone Marrow Aspiration

Zahra Saeedizadeh<sup>1</sup>, Ardeshir Talebi MD<sup>2</sup>, Alireza Mehri-Dehnavi PhD<sup>3</sup>,  
Hossein Rabbani PhD<sup>3</sup>, Omid Sarrafzadeh MSc<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Plasma cells are developed from B lymphocytes, a type of white blood cells generated in the bone marrow. The plasma cells produce antibodies to fight bacteria and viruses and stop infection and disease. In multiple myeloma, a cancer of plasma cells, collections of abnormal plasma cells (myeloma cells) accumulate in the bone marrow. Sometimes, existence of infection in body causes plasma cells increment, which could be diagnosed wrongly as multiple myeloma. Diagnosis of myeloma cells is mainly based on nucleus to cytoplasm ratio, compression of chromatin at nucleus, perinuclear zone in cytoplasm and etc.; so, because of depending final decision on human's eye and opinion, error risk in decision may be occurred. In this study, we presented an automatic method using image-processing techniques for myeloma cells diagnosis from bone marrow smears.

**Methods:** First, via contrast enhancement algorithm and k-means clustering, nucleus and cytoplasm of cells were completely extracted from bone marrow images. Then, for splitting connected nuclei and clump cells, two algorithms based on bottleneck and watershed methods were applied. Finally, via feature extraction from the nucleus and cytoplasm, myeloma cells were separated from normal plasma cells.

**Findings:** The algorithm was applied on 30 digital images contained 64 normal plasma cells and 73 myeloma cells. Applying the automatic identification of myeloma cells on provided database showed the accuracy of 99.27%.

**Conclusion:** In this study, an automatic method for detection and classification of plasma cells from myeloma cells in microscopic images of bone marrow aspiration was proposed.

**Keywords:** B-Cells, Plasma cell myeloma, Image analysis

**Citation:** Saeedizadeh Z, Talebi A, Mehri-Dehnavi A, Rabbani H, Sarrafzadeh O. **Extraction and Recognition of Myeloma Cells in Microscopic Images of Bone Marrow Aspiration.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(310): 1976-84

1- MSc Student, Department of Biomedical Engineering, School of Advanced Medical Technologies AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

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

3- Associate Professor, Bioelectric and Biomedical Engineering, School of Advanced Medical Technology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- PhD Student, Department of Biomedical Engineering, School of Advanced Medical Technologies AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Ardeshir Talebi MD, Email: talebi@med.mui.ac.ir

تأثیر عصاره‌ی الکلی پیاز (*Allium cepa*)، لعل کوهستان*(Oliveria decumbens Vent)* و سنبلک (*Muscari neglectum*) بر رشد تریکوموناسواژینالیس در شرایط *In vitro*

زهرة فخریه کاشان<sup>۱</sup>، دکتر محسن اربابی<sup>۲</sup>، دکتر مهدی دلاوری<sup>۳</sup>، دکتر حسین هوشیار<sup>۴</sup>، دکتر محسن تقی‌زاده<sup>۴</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** تریکوموناس واژینالیس تک یاخته‌ی تاژک‌دار بیماری‌زای دستگاه ادراری- تناسلی انسان است. هر ساله بیش از ۱۷۰ میلیون نفر در دنیا به این بیماری انگلی مبتلا می‌گردند. با توجه به عوارض جانبی مترونیدازول به عنوان داروی رایج این بیماری، در این مطالعه اثر عصاره‌ی الکلی پیاز (*Allium cepa*)، لعل کوهستان (*Oliveria decumbens Vent*) و کلاغک یا سنبلک (*Muscari neglectum*) بر رشد انگل تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی در سال ۱۳۹۲ بررسی گردید.

**روش‌ها:** این تحقیق با طراحی تجربی به صورت برون‌تنی روی ایزوله‌های تریکوموناس واژینالیس جدا شده از بیماران مراجعه کننده به ۵ مرکز بهداشتی- درمانی کاشان در سال ۱۳۹۲ صورت گرفت. تأثیر غلظت‌های مختلف از عصاره‌های الکلی پیاز، لعل کوهستان، کلاغک یا سنبلک با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر رشد تروفوزوئیت‌های تریکوموناس واژینالیس در ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از کشت سنجیده شد. همچنین تأثیر مترونیدازول به عنوان شاهد مثبت در غلظت‌های ۰/۰۲۵، ۰/۰۵۰، ۰/۱۰۰، ۰/۲۰۰ و ۰/۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر انگل مورد بررسی قرار گرفت. در همه‌ی موارد، تأثیر عصاره‌ها و دارو با شمارش و مقایسه‌ی تعداد انگل زنده و مرده با استفاده از رنگ‌آمیزی تریپان بلو محاسبه گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز آماری ANOVA (Analysis of variance) تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** عصاره‌های الکلی پیاز، لعل کوهستان، کلاغک یا سنبلک بر رشد تروفوزوئیت‌های تریکوموناس واژینالیس اثر ممانعت‌کنندگی دارد. IC<sub>۵۰</sub> (Half maximal inhibitory concentration) عصاره‌های الکلی گیاهان مورد بررسی و مترونیدازول ۲۴ ساعت پس از کشت به ترتیب برای عصاره‌ی الکلی لعل کوهستان ۱۰۱/۸، عصاره‌ی الکلی پیاز ۵۷۲/۳، عصاره‌ی الکلی سنبلک ۳۲۹/۴ و برای مترونیدازول ۰/۰۳۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید.

**نتیجه‌گیری:** عصاره‌های الکلی پیاز، لعل کوهستان و کلاغک یا سنبلک اثر ضد تریکوموناسی دارند. خصوصیات ضد تریکوموناسی عصاره‌ی الکلی لعل کوهستان، به مراتب بیشتر از عصاره‌ی الکلی پیاز و سنبلک می‌باشد. تحقیقات بیشتر بر روی اجزای تشکیل دهنده‌ی هر یک از عصاره‌ها جهت مطالعات بعدی لازم می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** تریکوموناس واژینالیس، عصاره‌ی الکلی، لعل کوهستان، پیاز، سنبلک

**ارجاع:** فخریه کاشان زهره، اربابی محسن، دلاوری مهدی، هوشیار حسین، محسن تقی‌زاده. تأثیر عصاره‌ی الکلی پیاز (*Allium cepa*)، لعل کوهستان (*Oliveria decumbens Vent*) و سنبلک (*Muscari neglectum*) بر رشد تریکوموناس واژینالیس در شرایط

*In vitro*. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۰): ۱۹۹۲-۱۹۸۵

۱- کارشناس ارشد، گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲- استادیار، گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳- استاد، گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۴- استادیار، گروه تغذیه، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران



## مقدمه

*Trichomonas vaginalis* تک یاخته‌ی تاژک‌دار بیماری‌زای دستگاه ادراری - تناسلی انسان می‌باشد که در زنان باعث واژینیت و در مردان اورتریت و پروستاتیت می‌گردد. تریکومونیازیس بیماری مقاربتی (Sex transmitted disease) دستگاه ادرای - تناسلی است و هر ساله بیش از ۱۷۰ میلیون نفر در دنیا به این بیماری انگلی مبتلا می‌گردند (۱). در نقاط مختلف جهان، میزان آلودگی بسیار متغیر است و در ایران درصد آلودگی بین ۱۵/۷-۲/۱ درصد تعیین شده است (۲). این عفونت، سبب عوارض متعددی از جمله ایجاد ترشحات فراوان، ادرار کردن دردناک، درد پس از مقاربت، پارگی زودرس کیسه‌ی آب، زایمان زودرس و وزن کم جنین در هنگام تولد می‌گردد و احتمال آلودگی به ایدز را افزایش می‌دهد (۳). داروی رایج جهت درمان این بیماری، مترونیدازول است که مقاومت دارویی نسبت به آن از کشورهای مختلف گزارش گردیده است (۴).

مترونیدازول دارای عوارض جانبی شناخته شده‌ای از قبیل سردرد، لکوپنی، تهوع، خشکی زبان و احساس طعم فلزی در دهان می‌باشد (۵).

پیاز (*Allium cepa*) از قدیمی‌ترین سبزی‌های شناخته شده در جهان و ایران و از خانواده‌ی آلیاسه (*Alliaceae*) می‌باشد و به دلیل داشتن آنتی‌بیوتیک، از جنبه‌های دارویی دارای اهمیت است. این گیاه، در درمان بیماری‌های کلیه، مثانه و پروستات در طب سنتی استفاده می‌گردد (۶). لعل کوهستان (*Oliveria decumbens Vent*) گیاهی بوته‌ای و از خانواده‌ی Umbelliferae است که در مناطق جنوبی ایران می‌روید و در درمان بیماری‌های عفونی در طب

سنتی به کار می‌رود. خاصیت ضد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت و ضد قارچی آن شناسایی شده است. این گیاه، حاوی ترکیباتی مانند تیمول، پاراسیمن، گاما-ترپنین، کارواکرول می‌باشد (۷-۸). کلاغک یا سنبلک (*Muscari neglectum*) از گیاهان بومی مدیترانه می‌باشد. از بافت‌های این گیاه، ماده‌ای به نام موسکارین استخراج می‌گردد (۹).

با توجه به شیوع و عوارض واژینیت تریکومونایی و نظرات متفاوتی که در زمینه‌ی کاربرد و اثربخشی داروهای گیاهی در درمان این بیماری وجود دارد، تحقیق حاضر با هدف تعیین اثربخشی عصاره‌های الکی گیاهان پیاز، لعل کوهستان، کلاغک یا سنبلک، بر رشد انگل تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاه در مقایسه با مترونیدازول به عنوان داروی رایج این بیماری با مقاومت دارویی شناخته شده انجام گردید.

## روش‌ها

تحقیق با طراحی تجربی و به صورت برون‌تنی روی ایزوله‌های تریکوموناس واژینالیس جدا شده از بیماران مراجعه کننده به ۵ مرکز بهداشتی - درمانی کاشان شامل بیمارستان شهید بهشتی، بیمارستان شبیه‌خوانی، درمانگاه فرهنگیان، درمانگاه گلابچی و یک آزمایشگاه خصوصی در سال ۱۳۹۲ صورت گرفت. نمونه‌ی مورد نیاز از ترشحات واژینال بخش خلفی سرویکس، توسط متخصص زنان و همچنین رسوب ادرار تهیه گردید. بلافاصله مقداری از نمونه‌ی برداشت شده جهت بررسی میکروسکوپی و بقیه جهت کشت در محیط TYI-S-۳۳ (Trypticase, Yeast extract, Iron-S-۳۳) (۱۰)



و با حجم مساوی از تمام نمونه‌ها به هر چاهک اضافه شد و پس از ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه در انکوباتور با دمای  $37^{\circ}\text{C}$  تعداد انگل زنده‌ی موجود در هر چاهک پلیت در مجاورت رنگ حیاتی (تریپان بلو) روی لام نئوبار شمارش و تمامی این مراحل ۳ بار تکرار شد.

انتخاب زمان‌های بررسی اثر دارو بر اساس مطالعات پایه صورت گرفت و از آن جا که برخی غلظت‌های عصاره‌ها تا ۴۸ ساعت نیز تعداد انگل زنده را به صفر نرسانده بودند، از انجام شمارش در زمان‌های کوتاه خوداری گردید. در هر پلیت ۳ چاهک به انگل و محیط کشت به عنوان شاهد منفی و چاهک بعدی به داروی مترونیدازول و انگل به عنوان گروه‌های شاهد مثبت با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر اختصاص داده شد. پس از مدت زمان‌های مورد نظر، تعداد تروفوزوئیت‌ها در محیط کشت با استفاده از لام نئوبار شمارش شد.

بعد از ۲۴ ساعت از مجاورت انگل با غلظت‌های مختلف عصاره، میزان  $\text{IC}_{50}$  با استفاده از نرم‌افزار Graph Pad محاسبه گردید. یافته‌های حاصل با استفاده از آزمون آنالیز آماری ANOVA (Analysis of variance) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### یافته‌ها

عصاره‌ی الکلی لعل کوهستان، رشد انگل را در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۱۲ ساعت به صفر رسانید. در صورتی که میانگین تعداد انگل زنده در گروه شاهد منفی  $26/1 \pm 1/85$

اختصاص داده شد و توسط متخصص انگل‌شناس، وجود انگل در نمونه مورد تأیید قرار گرفت.

بعد از کشت انگل با پاساژهای مکرر محیط کشت، یک روز در میان (به منظور آگزینیک کردن محیط کشت و حذف سریع‌تر باکتری و قارچ‌های موجود در نمونه‌های بالینی) و اضافه نمودن آنتی‌بیوتیک و آمفوتریپسین B جهت جلوگیری از رشد باکتری و قارچ، محیط کشت حاوی تریکوموناس واژینالیس به طور کامل آگزینیک و خالص گردید؛ به گونه‌ای که تعداد تروفوزوئیت‌های انگل در هر میلی‌لیتر محیط کشت TYI-S-۳۳ به  $10^5 \times 5$  رسیده شود. تعداد  $10^5 \times 5$  تروفوزوئیت انگل در هر میلی‌لیتر محیط کشت TYI-S-۳۳ شمارش و مقدار  $100 \mu\text{l}$  از محیط محتوی انگل به هر چاهک پلیت ۴۸ خانه‌ای کشت سلولی اضافه گردید.

پس از تأیید اصالت گیاهان توسط کارشناس مرکز تحقیقات کشاورزی، گیاه خشک آسیاب شد و طبق استانداردهای British Pharmacology عصاره‌گیری به روش پرکولاتور و با الکل اتانول ۷۰ درصد انجام گردید. ترکیب حلال با پودر گیاه به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد و سپس عصاره‌ی الکلی با استفاده از کاغذ صافی به میزان ۱ به ۱ حجمی تهیه گردید. عصاره‌ی به دست آمده داخل اتو  $60^{\circ}\text{C}$  مجهز به سیستم تهویه قرار داده شد تا غلظت ماده‌ی خشک آن افزایش یابد. در این دما، تبخیر سریع‌تر صورت می‌گیرد. به منظور تعیین میزان ماده‌ی خشک، رطوبت نمونه‌ی عصاره تعیین گردید (۱۱).

از هر کدام از غلظت‌های عصاره‌ی الکلی پیاز، لعل کوهستان و سنبلک، با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

بود ( $P < 0/050$ )؛ اما این عصاره‌ی الکی بعد از ۴۸ ساعت در غلظت‌های ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به بالا تعداد انگل را به صفر رسانید ( $P < 0/050$ ).  
 عصاره‌ی الکی پیاز، رشد انگل را در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۴۸ ساعت به  $1/05 \pm 10/20$  رسانید، در صورتی که تعداد انگل زنده در گروه شاهد منفی،  $1/90 \pm 62/06$  بود ( $P < 0/050$ ). عصاره‌ی الکی سنبلک بعد از ۴۸ ساعت در غلظت‌های ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به  $1/33 \pm 0/57$  رسید؛ هم‌زمان، در گروه شاهد منفی، تعداد انگل زنده  $1/90 \pm 62/06$  بود ( $P < 0/050$ ).

همچنین، نشان داده شد که مترونیدازول بعد از ۲۴ ساعت و در غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بالاتر، تعداد انگل را به صفر می‌رساند. بر اساس تعداد انگل زنده، پس از ۲۴ ساعت مجاورت با غلظت‌های مختلف عصاره‌ی الکی لعل کوهستان، پیاز، سنبلک میزان IC<sub>50</sub> برای مترونیدازول پس از ۲۴ ساعت،  $0/326$  میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره‌ی الکی لعل کوهستان  $10/1/8$  و  $572/3$  پیاز  $329/4$  میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. بعد از ۴۸ ساعت مترونیدازول در تمام غلظت‌ها تعداد انگل را صفر کرده بود.

جدول ۱. مقایسه‌ی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی الکی لعل بر رشد و بقای تریکوموناس واژینالیس ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت در *In vitro*

| غلظت (µg/ml)           | تعداد تروفوزیوت $\times 10^4$ |                  |                   |
|------------------------|-------------------------------|------------------|-------------------|
|                        | ۱۲ ساعت                       | ۲۴ ساعت          | ۴۸ ساعت           |
| ۱۲/۵                   | $21/70 \pm 1/57$              | $27/06 \pm 1/90$ | $43/43 \pm 3/90$  |
| ۲۵                     | $18/03 \pm 1/95$              | $25/06 \pm 1/90$ | $42/36 \pm 4/21$  |
| ۵۰                     | $14/96 \pm 1/85$              | $24/03 \pm 1/95$ | $30/10 \pm 2/85$  |
| ۱۰۰                    | $9/03 \pm 1/95$               | $15/10 \pm 2/05$ | $21/90 \pm 30/10$ |
| ۲۰۰                    | $6/00 \pm 1/90$               | $10/03 \pm 1/95$ | $4/03 \pm 1/95$   |
| ۴۰۰                    | $5/60 \pm 1/21$               | $7/00 \pm 2/00$  | ۰                 |
| شاهد منفی              | $26/10 \pm 1/85$              | $31/03 \pm 1/95$ | $62/06 \pm 1/90$  |
| مقایسه‌ی آماری گروه‌ها | $P < 0/050$                   |                  |                   |

جدول ۲. مقایسه‌ی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی الکی پیاز بر رشد و بقای تریکوموناس واژینالیس ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت در *In vitro*

| غلظت (µg/ml)           | تعداد تروفوزیوت $\times 10^4$ |                  |                  |
|------------------------|-------------------------------|------------------|------------------|
|                        | ۱۲ ساعت                       | ۲۴ ساعت          | ۴۸ ساعت          |
| ۱۲/۵                   | $26/13 \pm 1/65$              | $31/26 \pm 1/22$ | $61/00 \pm 1/53$ |
| ۲۵                     | $25/00 \pm 1/00$              | $29/26 \pm 1/40$ | $58/03 \pm 1/95$ |
| ۵۰                     | $24/33 \pm 3/20$              | $26/23 \pm 1/70$ | $53/00 \pm 1/00$ |
| ۱۰۰                    | $20/16 \pm 0/76$              | $24/40 \pm 1/86$ | $50/3 \pm 4/17$  |
| ۲۰۰                    | $17/06 \pm 1/90$              | $20/33 \pm 2/80$ | $35/06 \pm 1/33$ |
| ۴۰۰                    | $13/90 \pm 1/95$              | $18/23 \pm 1/90$ | $25/30 \pm 1/75$ |
| ۸۰۰                    | $12/03 \pm 2/05$              | $15/30 \pm 1/90$ | $16/10 \pm 1/85$ |
| ۱۰۰۰                   | $8/93 \pm 1/90$               | $14/00 \pm 1/80$ | $10/2 \pm 1/05$  |
| شاهد منفی              | $26/10 \pm 1/85$              | $10/3 \pm 1/95$  | $62/06 \pm 1/90$ |
| مقایسه‌ی آماری گروه‌ها | $P < 0/050$                   |                  |                  |

جدول ۳. مقایسه‌ی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی الکی سنبلک بر رشد و بقای تریکوموناس واژینالیس ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت در *In vitro*

| غلظت (µg/ml)           | تعداد تروفوزئیت $\times 10^4$ |                  |                  |
|------------------------|-------------------------------|------------------|------------------|
|                        | ۱۲ ساعت                       | ۲۴ ساعت          | ۴۸ ساعت          |
| ۱۲/۵                   | $26/03 \pm 1/85$              | $30/06 \pm 2/90$ | $59/10 \pm 2/05$ |
| ۲۵                     | $25/1 \pm 0/85$               | $30/06 \pm 0/90$ | $49/06 \pm 2/10$ |
| ۵۰                     | $24/93 \pm 1/9$               | $27/00 \pm 1/90$ | $29/30 \pm 2/60$ |
| ۱۰۰                    | $20/03 \pm 1/95$              | $22/00 \pm 1/37$ | $29/06 \pm 1/90$ |
| ۲۰۰                    | $16/90 \pm 1/95$              | $19/10 \pm 1/95$ | $20/03 \pm 1/95$ |
| ۴۰۰                    | $10/06 \pm 1/70$              | $14/00 \pm 1/90$ | $6/90 \pm 1/85$  |
| ۸۰۰                    | $8/06 \pm 1/90$               | $10/20 \pm 1/90$ | $1/96 \pm 0/95$  |
| ۱۰۰۰                   | $6/06 \pm 1/90$               | $8/06 \pm 1/90$  | $1/33 \pm 0/57$  |
| شاهد منفی              | $26/1 \pm 1/85$               | $31/03 \pm 1/95$ | $62/06 \pm 1/90$ |
| مقایسه‌ی آماری گروه‌ها | $P < 0/050$                   |                  |                  |

### بحث

بر اساس مطالعه‌ی حاضر، عصاره‌ی الکی لعل کوهستان در غلظت‌های ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعداد انگل را به صفر رسانید و  $IC_{50}$  بعد از ۲۴ ساعت،  $10/1/8$  میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. در مورد عصاره‌ی الکی سنبلک، با گذشت ۴۸ ساعت در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تعداد  $1/33 \pm 0/57$  انگل زنده یافت شد و میزان  $IC_{50}$  بعد از ۲۴ ساعت،  $329/4$  میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. در مورد عصاره‌ی الکی پیاز، بعد از ۴۸ ساعت در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تعداد  $10/2 \pm 1/05$  انگل زنده یافت گردید و میزان  $IC_{50}$  بعد از ۲۴ ساعت،  $572/3$  میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. میزان  $IC_{50}$  بعد از ۲۴ ساعت برای داروی مترونیدازول،  $0/0326$  میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. میزان اثر سه عصاره بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس متفاوت از یکدیگر بود که نشان دهنده‌ی ترکیبات شیمیایی متفاوت و خاص هر یک از این گیاهان نسبت به یکدیگر می‌باشد.

Calzada و همکاران در مکزیك عصاره‌ی الکی خام ۲۲ گیاه دارویی را روی رشد تریکوموناس واژینالیس مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج این تحقیق، *Carica papaya* و *Cocos nucifera* بیشترین فعالیت ضد تریکوموناسی را با  $5/6-5/8 \mu\text{g/ml}$  :  $IC_{50}$  نشان دادند که در مقایسه با تحقیق حاضر، اثرات ضد انگلی مؤثرتری داشتند. مطالعه‌ی Calzada و همکاران،  $IC_{50}$  مترونیدازول را  $0/037 \mu\text{g/ml}$  نشان داد (۱۲).

Ahmed در دانشگاه Ain shams قاهره اثر عصاره‌ی سیر و پیاز بر رشد تریکوموناس واژینالیس را در شرایط آزمایشگاهی بررسی و مشاهده نمود که سیر، حدود  $3/7$  برابر قوی‌تر از پیاز اثر ضد تریکوموناس واژینالیس دارد (۱۳). بر اساس بررسی مؤمنی و زمان‌زاد، عصاره‌ی پیاز بر روی باکتری‌های اشرشیاکلی، اورئوس و پسودوموناس آئروژنیوزا و قارچ کاندیدا آلبیکنس جدا شده از نمونه‌های ادراری افراد مبتلا به عفونت ادراری-تناسلی مؤثر گزارش گردید (۱۴).

بر اساس پژوهش محبوبی و همکاران اسانس گیاه

همکاران در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که ترکیبات پیلاز مانند آلیسین و آجوئین که از گیاه *Allium hirtifolium* استخراج می‌شوند، می‌توانند اثر ضد تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول داشته باشند (۱۹). سرشتی و همکاران با بررسی تأثیر عصاره‌ی آبی و اتانولی سرشاخه‌های هوایی گیاه چای کوهی بر تریکوموناس واژینالیس، این عصاره‌ها را بر انگل تریکوموناس بی‌تأثیر گزارش نمودند (۲۰).

این مطالعه به روشنی نشان داد که عصاره‌ی الکلی لعل کوهستان در مقایسه با عصاره‌ی الکلی پیاز و عصاره‌ی الکلی سنبلک بر مهار رشد و تکثیر تک یاخته‌ی بیماری‌زای تریکوموناس واژینالیس مؤثرتر می‌باشد. با توجه به شیوع بالای تریکومونیاژیس و عوارض جانبی داروی مترونیدازول به عنوان خط مقدم درمان، تحقیقات بیشتر از جمله مطالعه بر روی اجزای تشکیل دهنده‌ی هر یک از عصاره‌ها جهت مطالعات بعدی لازم می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

ضمن قدردانی از کلیه‌ی کسانی که در انجام این تحقیق همکاری نموده‌اند، از سرکار خانم زینب جونیدی و سرکار خانم دکتر فاطمه سلیمانی به طور ویژه سپاسگزاری می‌گردد.

لعل کوهستان بر گروهی وسیعی از میکروارگانسیم‌ها شامل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و مخمر مؤثر می‌باشد (۱۵). در دهه‌های اخیر، مطالعات بی‌شماری برای انتخاب اثر گیاهان علیه انگل تریکومونالیس واژینالیس انجام گرفته است. ضیایی و همکاران در مطالعه‌ای، تأثیر گیاهان درمنه‌ی کوهی، آویشن شیرازی و مورد را روی تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت بررسی نمودند و به این نتیجه رسیدند که هر سه گیاه، تأثیر قابل توجهی بر انگل دارند و سبب از بین رفتن انگل در محیط کشت می‌شوند (۱۶). حسنی و همکاران تأثیر عصاره‌های مختلف اکالیپتوس را روی رشد انگل تریکوموناس بررسی نمودند و نشان دادند که این گیاه، در غلظت پایین به صورت صد درصد سبب ممانعت از رشد انگل می‌گردد (۱۷).

Murray در تحقیقات مشابهی تأثیر ریشه، ریزوم و جوانه‌ی *Echinacea* (سرخارگل) و *Angelica* (سنبل ختایی) و برگ و پوسته‌ی *Neurolaena lobata* (گیاه سرخدار)، *Mikania cordifolia* و *Scutia buxifolia* را به صورت *In vitro* مورد بررسی قرار دادند و اثرات داروهای ذکر شده را در توقف رشد و تکثیر تریکوموناس واژینالیس نشان دادند (۱۸). تاران و

### References

- Harp DF, Chowdhury I. Trichomoniasis: evaluation to execution. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2011; 157(1): 3-9.
- Rasti S, Taghriri A, Behrashi M. Trichomoniasis in parturients referring to Shabihkhani hospital in Kashan, 2001-02. Feyz 2003; 7(2): 21-5. [In Persian].
- Johnston VJ, Mabey DC. Global epidemiology and control of *Trichomonas vaginalis*. Curr Opin Infect Dis 2008; 21(1): 56-64.
- Sobel JD, Nyirjesy P, Brown W. Tinidazole therapy for metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis. Clin Infect Dis 2001; 33(8): 1341-6.
- Schwebke JR, Barrientes FJ. Prevalence of

- Trichomonas vaginalis isolates with resistance to metronidazole and tinidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(12): 4209-10.
6. Germplasm Resources Information Network. "Allium cepa information from NPGS/GRIN". USDA, ARS, National Genetic Resources Program [Online]. [cited 2007 Jan 23]; Available from: URL: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?2244>
  7. Amin G, Salehi Sourmaghi MH, Zahedi M, Khanavi M, Samadi N. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Oliveria decumbens*. *Fitoterapia* 2005; 76(7-8): 704-7.
  8. Motamedi H, Darabpour E, Gholipour M, Nezhad SM. Antibacterial effect of ethanolic and methanolic extracts of *plantago ovata* and *oliveria decumbens* endemic in iran against some pathogenic bacteria. *International Journal of Pharmacology* 2010; 6(2): 117-22. [In Persian].
  9. Grey-Wilson C, Mathew B, Blamey M. *Bulbs: the bulbous plants of Europe and their allies*. London, UK: Collins; 1981. p. 115.
  10. Diamond LS, Harlow DR, Cunnick CC. A new medium for the axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other *Entamoeba*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1978; 72(4): 431-2.
  11. Foster S, Tyler VE. *Tyler's honest herbal: A sensible guide to the use of herbs and related remedies*. Hove, UK: Psychology Press; 1999.
  12. Calzada F, Yepez-Mulia L, Tapia-Contreras A. Effect of Mexican medicinal plant used to treat trichomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *J Ethnopharmacol* 2007; 113(2): 248-51.
  13. Ahmed SA. In vitro effects of aqueous extracts of garlic (*Allium sativum*) and onion (*allium cepa*) on *trichomonas vaginalis*. *Parasitologists United Journal* 2010; 3(1-2): 45-54.
  14. Momeni L, Zamanzad B. The antibacterial properties of *Allium cepa* (onion) and *Zingiber officinale* (ginger) extracts on *Staphylococcus aureus* *Pseudomonas aeruginosa* *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolated from vaginal specimens. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2010; 11(4): 81-7. [In Persian].
  15. Mahboubi M, Feizabadi MM, Haghi G, Hosseini H. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil from *Oliveria decumbens* Vent. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants* 2008; 24(1): 56-65. [In Persian].
  16. Ziaiye H, Azadbakht M, Abdollahi F, Shabankhani B. Effect of methanolic extracts of *Artemisia aucheri* Boiss, *Zataria multiflora* Boiss and *Myrtus communis* L. on *Trichomonas vaginalis* (In Vitro). *J Gorgan Uni Med Sci* 2006; 8(1): 34-8. [In Persian].
  17. Hassani S, Asghari G, Yousefi H, Kazemian A, Rafieiean M, Darani HY. Effects of different extracts of *Eucalyptus camaldulensis* on *Trichomonas vaginalis* parasite in culture medium. *Adv Biomed Res* 2013; 2: 47.
  18. Murray MT. *Textbook of natural medicine*. London, UK: Churchill Livingstone; 2000.
  19. Taran M, Rezaeian M, Izaddoost M. In vitro Antitrichomonas Activity of *Allium Hirtifloium* (Persian Shallot) in Comparison with Metronidazole. *Iran J Public Health* 2006; 35(1): 92-4.
  20. Sereshti M, Yousofi Darani H, Zebardast N, Rafean M, Manochehre Naeini K, Yousofi H. Effect of Ethanolic and Watery Extract of Aerial Parts of *Stachys Lavandulifolia* on *Trichomonas vaginalis*, In vitro. *J Med Plants* 2012; 11(S8): 159-65. [In Persian].

## In-vitro Therapeutic Effect of *Allium Cepa*, *Oliveria Decumbens* Vent and *Muscari Neglectum* against *Trichomonas Vaginalis*

Zohreh Fakhrieh-Kashan MSc<sup>1</sup>, Mohsen Arbabi PhD<sup>2</sup>, Mahdi Delavari PhD<sup>2</sup>,  
Hossein Hooshyar PhD<sup>3</sup>, Mohsen Taghizadeh PhD<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** *Trichomonas vaginalis* is a flagellate pathogenic protozoon of human urogenital tract that infect 170 million new cases through the world annually. Considering the side effects of metronidazole, as common drug to treatment of this disease, this study was conducted to evaluate the in-vitro activity of extracts of *Allium cepa*, *Oliveria decumbens* Vent and *Muscari neglectum* against *Trichomonas vaginalis*.

**Methods:** This experimental study was carried out on *Trichomonas vaginalis* isolated from patients referred to five health centers in Kashan, Iran, in 2013. The effect of alcoholic extract of *Allium cepa*, *Oliveria decumbens* Vent and *Muscari neglectum* on growth of *Trichomonas vaginalis* in concentrations of 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 and 1000 µg/ml was evaluated in TYI-s-33 medium after 12, 24 and 48 hours. The results were compared with metronidazole effect in concentrations of 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 µg/ml, as positive control. The number of alive and dead throphozoite measured and compared using trypan blue staining. The half maximal inhibitory concentration (IC50) was determined using GraphPad prism5.

**Findings:** The alcoholic extracts of *Allium cepa*, *Oliveria decumbens* Vent and *Muscari neglectum* had inhibitory effect on in-vitro growth of *Trichomonas vaginalis*. The IC50 rate was calculated 101.8 for *Oliveria dacumbens* Vent, 572.3 for *Allium cepa* and 329.4 for *Muscari neglectum* after 24 hours. The IC50 rate of mrtonidazole was calculated 0.0326 at the same time.

**Conclusion:** Alcoholic extracts of *Allium cepa*, *Oliveria dacumbens* Vent and *Muscari neglectum* have antitrichomonal effects; the effect of *Oliveria decumbens* Vent was higher than others. We recommend further studies using major components of these plants, especially *Oliveria dacumbens*, to investigate the antitrichomoniasis effect of it.

**Keywords:** *Trichomonas vaginalis*, *Allium cepa*, *Oliveria decumbens* Vent, *Muscari neglectum*, alcoholic extract

**Citation:** Fakhrieh-Kashan Z, Arbabi M, Delavari M, Hooshyar H, Taghizadeh M. **In-vitro Therapeutic Effect of *Allium Cepa*, *Oliveria Decumbens* Vent and *Muscari Neglectum* against *Trichomonas Vaginalis*.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(310): 1985-92

1- Department of Parasitology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Parasitology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

3- Professor, Department of Parasitology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Nutrition, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

**Corresponding Author:** Mohsen Arbabi PhD, Email: arbabi4.mohsen@yahoo.com

## مروری بر شواهد موجود: بررسی ارتباط رزوراترول و دیابت

ام‌البین کافشانی<sup>۱</sup>، دکتر رضا غیاثوند<sup>۲</sup>

### مقاله مروری

#### چکیده

**مقدمه:** رزوراترول به گروه بزرگی از ترکیبات بیولوژیک به نام فیتواستروژن‌ها تعلق دارد که فواید متعددی برای آن در بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان و بیماری‌های التهابی ذکر شده است. همچنین، شواهد متناقضی هم در رابطه با اثرات مفید رزوراترول در درمان و پیشگیری از عوارض دیابت و چگونگی این اثر وجود دارد که در این مقاله‌ی مروری آن‌ها را بررسی می‌کنیم.

**روش‌ها:** مقالات مربوط از بانک‌های اطلاعاتی Scopus، PubMed، Google scholar از سال ۲۰۰۰ تا سال ۲۰۱۰ مورد جستجو قرار گرفتند.

**نتیجه‌گیری:** در اکثر مطالعات، اثرات مفید متعددی از رزوراترول در زمینه‌ی پیشگیری و درمان دیابت عنوان شده بود؛ اما احتمال می‌رود همه‌ی مطالعات در حیوانات انجام شده است که پیشنهاد می‌گردد با توجه به اثرات احتمالی مشابه، مطالعات در انسان هم انجام شود.

**واژگان کلیدی:** رزوراترول، دیابت، متابولیسم گلوکز، مقاومت انسولینی، فعالیت انسولین

**ارجاع:** کافشانی ام‌البین، غیاثوند رضا. مروری بر شواهد موجود: بررسی ارتباط رزوراترول و دیابت. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛

۳۲ (۳۱۰): ۱۹۹۳-۲۰۰۵

#### مقدمه

دیابت یک بیماری متابولیکی پیچیده است که در حدود ۵ درصد از افراد دنیا را درگیر کرده است. طبق طبقه‌بندی انجمن دیابت امریکا، دیابت به دو نوع اول و دوم تقسیم می‌شود که دیابت نوع اول کمتر از ۱۰ درصد کل موارد را تشکیل می‌دهد و دیابت نوع دوم، ۹۰ درصد باقی‌مانده را تشکیل می‌دهد (۱). بسته به نوع دیابت، درمان‌های مختلفی وجود دارد که به طور معمول تجویز می‌شود. اما علاوه بر درمان‌های معمول فعلی، ترکیبات طبیعی متعددی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند که یکی از این ترکیبات رزوراترول می‌باشد.

رزوراترول (۳ و ۵ و ۴- تری هیدروکسی استیلین) که به دو فرم سیس و ترانس وجود دارد، متعلق به گروه پلی‌فنل‌ها می‌باشد. پلی‌فنل‌ها خود متعلق به زیر گروه فیتوآلکسین می‌باشند. این ماده برای اولین بار در سال ۱۹۴۰ از ریشه‌های *White hellebore* (*Veratrum grandiflorum*) جدا شد و سپس در انگور، بادام زمینی، *Pines* و عصاره‌ی *poly gonumcuspidatum*، *Itadori tee* و ریشه‌ی *polygonum* توت یافت شد. غنی‌ترین منبع آن، در درمان‌های می‌باشد که یک ریشه‌ی گیاهی است و در درمان‌های اقوام آسیایی استفاده می‌شود (۲-۵). معروف‌ترین

۱- دانشجوی دکتری، مرکز تحقیقات امنیت غذایی، دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه تغذیه‌ی جامعه، دانشکده‌ی تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران



## کاهش قند خون و هموستاز گلوکز

حفظ قند خون در سطح طبیعی آن در بیماران مبتلا به دیابت ضروری است؛ چرا که افزایش گلوکز خون باعث عوارض متعدد دیابت می‌شود (۱۲). بنابراین روش‌های مختلفی برای کاهش قند خون وجود دارد از جمله داروهای کاهنده‌ی قند خون که عوارضی را هم به دنبال دارند (۱۳-۱۴). اما مصرف طولانی مدت ترکیبات طبیعی مانند رزوراترول که در دیابت نوع اول و دوم مفید هستند، عوارضی را به همراه ندارد. در مطالعات زیادی بر روی رت‌های مبتلا به دیابت، عمل ضد هیپرگلیسمی رزوراترول مشاهده شده است. بین اثرات مفید رزوراترول بر روی دیابت، توانایی آن برای کاهش هیپرگلیسمی مستندتر است و اثر ضد گلیسمی رزوراترول در موش‌های چاق (۱۵-۱۶) و در موش‌های مبتلا به دو نوع دیابت (دیابت با Streptozotocin یا با Streptozotocin- nicotinamide) دیده شده است (۱۷-۱۸). در بعضی از مطالعات نیز اثر رزوراترول بر روی کاهش سطح HbA<sub>1c</sub> (Glycated hemoglobin) مشاهده شده است نشان دهنده‌ی اثر کاهنده‌ی طولانی مدت قند خون توسط آن می‌باشد (۱۹-۲۰).

این اثر هم در حیوانات با قند خون طبیعی و هم در حیوانات با قند خون بالا مشاهده شده است (جدول ۱). اکثر مطالعات نشان می‌دهد که رزوراترول روی غلظت گلوکز خون در حیوانات با قند طبیعی اثر نمی‌گذارد. در مطالعه‌ی Szkudelski نشان داده شد که مصرف ۱۰-۵۰ mg رزوراترول به ازای ۱ kg وزن بدن، که به صورت داخل معدی به رت‌های طبیعی داده شد، در زمان ۳۰ دقیقه، گلوکز خون را

منبع رزوراترول انگور می‌باشد که غلظت آن در انگور، بین ۴۰۰-۵۰۰ μg به ازای گرم در خوشه‌ی تازه متغیر است (۳). غلظت رزوراترول در پوست توت‌ها هم که منبع غنی آن می‌باشند بیشتر از مغز آن‌هاست. سنتز رزوراترول در گیاهان به وسیله‌ی عفونت‌های میکروبی (۳) و اشعه‌ی ماورای بنفش (۶) القا می‌شود. برای مثال، بعد از عفونت ایجاد شده توسط *Fungus botrytis cinerea* در توت، مقدار فیتوآلکسین به سرعت در توت‌های مجاور افزایش می‌یابد (۷).

علاوه بر منابع طبیعی آن، این ترکیب به صورت قرص نیز در بعضی کشورها وجود دارد که به عنوان مکمل غذایی تجویز می‌شود.

بیشتر مطالعات انجام شده در رابطه با رزوراترول و مواد مشابه در زمینه‌ی بیماری‌های قلبی-عروقی می‌باشد (۸-۹). در حالی که اکثر اطلاعات جدید از مطالعه بر روی حیوانات به دست آمده است، اما می‌تواند اثرات نویدبخشی از این ماده را در پیشگیری و درمان بیماری‌های متابولیکی از جمله چاقی و دیابت ارایه نماید (۱۰-۱۱). در این مقاله، مطالعات مربوط به اثر رزوراترول و دیابت مرور شدند.

به طور معمول، کنترل دیابت شامل سه بعد اصلی کاهش گلوکز خون، نگهداری سلول‌های بتا پانکراس و بهبود عملکرد و ترشح انسولین می‌باشد. اطلاعات به دست آمده از مطالعات مختلف نشان می‌دهد که اثرات مفید رزوراترول شامل همه‌ی این موارد می‌باشد، اما مستندات در مورد اثر رزوراترول بر حفظ سلول‌های بتا پانکراس و بهبود عملکرد انسولین، ضعیف است؛ در حالی که در رابطه با اثر رزوراترول بر کاهش گلوکز خون، مستندات قوی موجود می‌باشد.



تغییر نداد (۱۹) و همچنین در مطالعه‌ای که توسط Subramanian و Palsamy (۲۰) انجام شد، با مصرف ۵ mg رزوراترول به ازای ۱ kg وزن بدن به مدت ۳۰ روز به صورت مصرف دهانی یا به صورت تزریق داخل صفاقی برای ۴۲ روز (۲۰-۲۱) غلظت قند خون تغییر نکرد. همچنین در مطالعه‌ی Juan و همکاران نیز دادن دوز خوراکی بالاتر از ۲۰ mg به ازای ۱ کیلوگرم وزن بدن برای ۲۸ روز (۲۲) و تزریق داخل صفاقی ۱۰-۲۰ mg به ازای ۱ کیلوگرم وزن بدن برای ۳۰ روز روی قند خون رت‌ها تأثیری نداشت (۲۳).

اما در مطالعه‌ای که توسط Su و همکاران انجام شد، اثر کاهنده‌ی قند خون در رت‌های طبیعی دیده شد؛ به طوری که در این مطالعه، مصرف دوز خیلی پایین رزوراترول (۰/۷۵-۰/۲۵ mg/kg Bw) در رت‌هایی که در طی شب گرسنه بودند، باعث کاهش در قند خون ۹۰ دقیقه بعد از مصرف شد. همچنین پاسخ گلیسمیک به تزریق داخل وریدی گلوکز (۲ mg/kg Bw) در رت‌هایی که رزوراترول به میزان ۰/۵ mg به ازای ۱ kg وزن بدنشان دریافت کردند، در مقایسه با حیواناتی که آن را دریافت نکردند، کاهش پیدا کرد (۲۱).

همچنین در مطالعه‌ی Chi و همکاران گاوآژ ۱۰-۰/۵ mg/kg از رزوراترول، به طور معنی‌داری قند خون را در رت‌هایی که در شب گرسنه بودند و همچنین بعد از درمان گلوکز دهانی به میزان ۱ g/kg کاهش داد (۲۴).

در اکثر مطالعات، در حیوانات مبتلا به دیابت اثر کاهش دهنده‌ی رزوراترول نشان داده شده است. در موش‌هایی که به وسیله‌ی

Sterptozotocin-nicotin amide دچار دیابت شده‌اند، این اثر در کوتاه مدت و طولانی مدت دیده شده است. در مطالعه‌ی Su و همکاران با مصرف ۰/۵ mg/kg رزوراترول در مدت ۴ روز توسط رت‌های مبتلا به دیابت شده توسط Sterptozotocin-nicotin acmide هیپرگلیسمیا به طور معنی‌داری در مقایسه با حیوانات مبتلا به دیابت درمان نشده کاهش یافته است (۲۱) و در مطالعه‌ی Chi و همکاران، ۹۰-۱۲۰ دقیقه بعد از مصرف رزوراترول (۰/۲۵ mg/kg Bw) در موش‌های مبتلا به دیابت فرایند هیپرگلیسمیا به طور معنی‌داری نسبت به موش‌های غیر مبتلا به دیابت کاهش یافته است (۲۴). سایر مطالعات روی رت‌هایی که به وسیله‌ی Sterptozotocin-nicotin amide مبتلا به دیابت شده‌اند، اطلاعات قبلی را تأیید می‌کند و نکته‌ی جالب این که فعالیت ضد هیپرگلیسمی این ترکیب با اثر کاهنده‌ی سولفونیل گایکلازید قابل مقایسه می‌باشد (۲۰). اثر این ترکیب در موش‌های مبتلا به دیابت شده توسط Sterptozotocin در مطالعات دیگر (با تزریق وریدی یا مصرف دهانی رزوراترول) نیز دیده شده است (۲۵، ۲۱). یکی از مکانیسم‌های مطرح شده در مطالعات بر روی رت‌هایی که به طور آزمایشی دچار دیابت شده‌اند، این است که بیان انتقال دهنده‌ی گلوکز وابسته به انسولین (GluT۴) و (GluT۱) در رت‌هایی که رزوراترول مصرف کرده‌اند، نسبت به رت‌هایی که مصرف نکرده‌اند، افزایش یافته است (۲۵-۲۶). اگر چه در بعضی از مطالعات بر روی رت‌هایی که به وسیله‌ی Streptozotocin دچار دیابت شده‌اند، مصرف رزوراترول غیر مؤثر بوده است (۲۷-۳۰).

موش‌هایی که به وسیله‌ی

موش‌هایی که به وسیله‌ی

موش‌هایی که به وسیله‌ی

موش‌هایی که به وسیله‌ی

انسولین می‌باشد که اثر مستقیم آن بر روی برداشت گلوکز در شرایط *In vitro* نشان داده شده است. در عضلات سلولوس، سلول‌های بافت چربی و هپاتوسیت‌های جدا شده از بدن رت‌های مبتلا شده به دیابت به وسیله *Sterptozotocin* و انکوباته شده در حضور رزوراترول ( $1-10^{-10}$   $\mu\text{M}$ ) بدون وجود انسولین برداشت گلوکز افزایش پیدا کرد (۲۱) که به نظر می‌رسد به دلیل افزایش فعالیت انتقال دهنده‌های گلوکز در غشای پلاسمایی می‌باشد. همچنین در مطالعات دیگر نیز برداشت گلوکز در عضلات اسکلتی که در معرض  $100 \mu\text{g}$  رزوراترول قرار گرفته بودند، نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (۲۶).

در مطالعه‌ای که رت‌ها یک رژیم غذایی با کلسترول و فروکتوز بالا داشتند و مقدار  $1 \text{ mg/kg Bw}$  رزوراترول از طریق گاواژ برای ۱۵ روز یا ۱۵ هفته دریافت می‌کردند، نیز فرایند برداشت گلوکز به وسیله‌ی عضلات سلولوس و کبد در مقایسه با بافت‌های گروهی که آن را دریافت نکرده بودند، افزایش پیدا کرد (۲۶).

Deng و همکاران به نتایج جالبی در زمینه‌ی نقش اساسی گیرنده‌ی استروژن در مکانیسم عمل رزوراترول دست یافتند و نشان دادند که افزایش برداشت گلوکز توسط رزوراترول R در حضور و در فقدان انسولین به فعال شدن گیرنده‌ی  $\alpha$  استروژن نیاز دارد. عملکرد رزوراترول شامل دخالت در مراحل ابتدایی و انتهایی به ترتیب از طریق  $\text{P38/Erk}$  و  $\text{P38/Akt}$  می‌باشد. به علاوه،  $\text{P13k}$  نیز در مرحله‌ی انتهایی نقش دارد که نقش آن در کاهش گلوکز خون از قبل در موش‌های مبتلا به دیابت در شرایط *In vivo* شرح داده شده است (۲۷).

مکانیسم دوم که در رابطه با اثر رزوراترول در بهبود هموستاز گلوکز مطرح می‌باشد، این است که این ماده باعث افزایش فعالیت  $\text{PGC-1}\alpha$  (Peroxisome proliferator-activated -1-alpha receptor gamma coactivator) می‌شود که احتمال می‌رود به فعالیت  $\text{sirt 1}$  وابسته به رزوراترول مرتبط باشد.  $\text{PGC-1}\alpha$  یک فعال کننده‌ی گیرنده‌ی هورمون هسته‌ای می‌باشد که بیوژنز میتوکندریایی را در بافت چربی قهوه‌ای و عضلات اسکلتی القا می‌کند (۲۸-۲۷).  $\text{PGC-1}\alpha$  مسیرهای متابولیکی را که باعث حفظ بقای پستانداران در شرایط گرسنگی طولانی مدت می‌شود، فعال می‌کند و باعث افزایش گلوکوژنوژنز کبدی، بتااکسیداسیون اسیدهای چرب و برداشت گلوکز غیر وابسته به انسولین در عضلات می‌شود و همچنین ترشح انسولین را کاهش می‌دهد. بنابراین اثرات  $\text{PGC-1}\alpha$  از موارد خاص در دیابت است که مطالعات متعددی نشان می‌دهد فعالیت اکسیداتیو میتوکندریایی می‌تواند روی برداشت گلوکز اثر بگذارد. در واقع، در سلول‌های عضلات اسکلتی همزمان با اثرات  $\text{PGC-1}\alpha$  روی تنفس میتوکندریایی، بیان ژنی انتقال دهنده‌ی گلوکز حساس به انسولین ( $\text{GluT4}$ ) و در نتیجه، برداشت گلوکز افزایش می‌یابد. اگر چه حساسیت به انسولین در این فرایند انتقال، افزایش پیدا نمی‌کند (۲۸-۲۷).

مکانیسم سوم برای چگونگی تأثیر رزوراترول بر متابولیسم گلوکز و عملکرد انسولین تنظیم نسخه‌برداری از RNA پلیمراز II و چرخه‌ی Ubiquitin عنوان شده است (۲۵).

به نظر می‌رسد فعالیت کاهش قند خون رزوراترول شامل اثرات وابسته و غیر وابسته به

همچنین مصرف رزوراترول باعث تغییر در فعالیت آنزیم‌های متعددی از مسیر گلیکولیتیک در کلیه و کبد می‌شود؛ به طوری که فعالیت گلیکوژن سنتتاز را افزایش می‌دهد و فعالیت گلیکوژن فسفریلاز را در کبد موش‌های مبتلا به دیابت با ذخایر گلیکوژن کبدی افزایش یافته، کاهش

می‌دهد (۲۳).

اثر مستقیم رزوراترول روی تجمع گلیکوژن در شرایط *In vitro* مشاهده شده است و در هیپاتوسیت‌های جدا شده از رت‌های مبتلا به دیابت شده توسط Sterptozotocin به طور معنی‌داری سنتز گلیکوژن افزایش یافته است (۲۱).

جدول ۱. اثر رزوراترول روی غلظت قند خون در رت‌های طبیعی و مبتلا به دیا بت

| گروه                     | تأثیر      | گروه مورد مطالعه  | دوز درمان/ مدت زمان درمان                                | نویسنده   |
|--------------------------|------------|---|--|---|
|                          | کاهش یافته | رت‌های مبتلا به دیابت شده به وسیله‌ی استرپتوزوتوسین             | ۰/۵ mg/kg Bw در روز به مدت ۴۲ روز به صورت داخل صفاقی     | SU و همکاران (۲۱)                                   |
|                          | کاهش یافته | رت‌های مبتلا به دیابت شده به وسیله‌ی استرپتوزوتوسین             | ۰/۵ mg/kg Bw در روز به مدت ۱۴-۱۰ روز به صورت داخل معدی   | Schmatz و همکاران (۲۳)                              |
| موش‌های دچار هیپرگلیسمیا | کاهش یافته | رت‌های مبتلا به دیابت شده به وسیله‌ی استرپتوزوتوسین نیکوتینامید | ۰/۵ mg/kg Bw در روز به مدت ۱۴-۸ روز به صورت داخل معدی    | SU و همکاران (۲۱)                                   |
|                          | کاهش یافته | رت‌های مبتلا به دیابت شده به وسیله‌ی استرپتوزوتوسین             | ۲/۵ mg/kg در روز به مدت ۱۵ روز به صورت دهانی             | Schmatz و همکاران (۲۹) و Park و همکاران (۳۱)        |
|                          | کاهش یافته | رت‌های مبتلا به دیابت شده به وسیله‌ی استرپتوزوتوسین نیکوتینامید | ۵ mg/kg در روز به مدت ۳۰ روز به صورت دهانی یا معدی       | Palsamy و Subramanian (۲۰) و Schmatz و همکاران (۲۳) |
|                          | بدون تغییر | رت‌های مبتلا به دیابت شده به وسیله‌ی استرپتوزوتوسین             | ۲۰-۱۰ mg/kg در روز به مدت ۳۰ روز به صورت صفاقی           | Schmatz و همکاران (۲۳)                              |
|                          | بدون تغییر | رت‌های طبیعی  | ۲۰ mg/kg در روز به صورت دهانی به مدت ۳۰ روز              | Juan و همکاران (۲۲)                                 |
|                          | کاهش یافته | رت‌های طبیعی  | ۵-۱۰ mg/kg در روز به صورت داخل معدی به مدت ۹۰ دقیقه      | SU و همکاران (۲۱)                                   |
|                          | کاهش یافته | رت‌ها بعد از درمان با گلوکز دهانی                               | ۱۰ mg/kg در روز به صورت داخل معدی به مدت ۱۲۰-۹۰ دقیقه    | Chi و همکاران (۲۴)                                  |
| موش‌های با قند خون طبیعی | کاهش یافته | رت‌ها با گرسنگی شبانه   | ۰/۵-۱۰ mg/kg در روز به صورت داخل معدی به مدت ۹۰ دقیقه    | Chi و همکاران (۲۴)                                  |
|                          | بدون تغییر | رت‌های طبیعی  | ۵ mg/kg در روز به صورت داخل صفاقی به مدت ۴۲ روز          | Su و همکاران (۲۱)                                   |
|                          | بدون تغییر | رت‌های طبیعی  | ۱۰-۵۰ mg/kg در روز به صورت داخل معدی به مدت ۳۰ دقیقه     | Penumathsa و همکاران (۲۸)                           |
|                          | بدون تغییر | رت‌های طبیعی  | ۵ mg/kg وزن بدن به صورت دهانی یا داخل معدی به مدت ۳۰ روز | Schmatz و همکاران (۲۳)                              |
|                          | بدون تغییر | رت‌های طبیعی  | ۱۰-۲۰ mg/kg در روز به صورت داخل صفاقی به مدت ۳۰ روز      | Schmatz و همکاران (۲۳)                              |

### اثر رزوراترول بر روی عملکرد انسولین

اثر رزوراترول بر روی عملکرد انسولین در سه زمینه می‌باشد:

#### حفظ و نگهداری سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس

طبق مطالعات حیوانی و انجام آزمایش‌ها در شرایط *In vitro* دیده شده است که رزوراترول ترشح انسولین را به وسیله‌ی جزایر پانکراسی که به تازگی جدا شده‌اند، کاهش می‌دهد (۳۲، ۲۹). اثر مهار رزوراترول بر ترشح انسولین، می‌تواند ناشی از تغییرات متابولیسمی در سلول‌های بتا باشد. تحت شرایط فیزیولوژیک فرایند افزایش ترشح انسولین سطح به مکانیسم‌های مختلف صورت می‌گیرد که عبارت از انتقال گلوکز به داخل سلول و متابولیسم اکسیداتیو آن، هیپرپلاریزاسیون غشای داخلی میتوکندری، افزایش تشکیل ATP (Adenosine triphosphate) و افزایش نسبت ATP به ADP (Adenosine diphosphate)، بسته شدن کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP، دیپلاریزاسیون غشای پلاسمایی، باز شدن کانال‌های کلسیمی حساس به ولتاژ و افزایش در غلظت  $Ca^{2+}$  داخل سلولی می‌باشد (۳۳-۳۴).

از بین این وقایع متوالی که منجر به افزایش ترشح انسولین می‌شود، رزوراترول در سطح تشکیل ATP عمل می‌کند. جزایر پانکراسی که در معرض رزوراترول قرار می‌گیرند، لاکتات بیشتری آزاد می‌کنند و اکسیداسیون گلوکز نسبت به گروه شاهد به مقدار زیادی کاهش می‌یابد (۱۹).

رزوراترول هیپرپلاریزاسیون غشای داخلی میتوکندری را کاهش می‌دهد که باعث کاهش فعالیت زنجیره‌ی تنفسی میتوکندریایی می‌شود و در نتیجه این

تغییرات متابولیسمی، باعث کاهش سطح ATP در جزایر لانگرهانس می‌شود و چون افزایش در نسبت ATP/ADP برای ترشح انسولین ضروری است، بنابراین کاهش ATP باعث کاهش ترشح انسولین می‌شود (۳۵، ۱۹).

نکته‌ی مهم این است که این اثر رزوراترول قابل برگشت است (۳۲، ۱۹). در حیوانات، علاوه بر این مکانیسم دیده شده است که رزوراترول با مهار پروتئین کیناز C (Protein kinase C یا PKC) در سلول‌های بتا هم باعث کاهش ترشح انسولین می‌شود؛ چرا که تحریک بیش از حد طولانی مدت سلول‌های بتا، باعث افزایش تخریب آن‌ها می‌شود. بنابراین مهار ترشح انسولین به وسیله‌ی رزوراترول ممکن است این اثرات نامطلوب را کاهش دهد.

برای اثر محافظتی رزوراترول روی جزایر پانکراس، مکانیسم‌های دیگری هم از جمله اثر مهار آن روی فعالیت سیتوکین‌ها عنوان شده است (۳۶). به تازگی گزارش شده است که در صورتی که سلول‌های جزایر لانگرهانس جدا شده‌ی رت در معرض سیتوکین‌ها قرار بگیرد، باعث اثرات نامطلوب متعددی مانند افزایش اتصال NF-KB (Nuclear factor -kappa light chain enhancer of activated B cells) متصل شده به DNA، افزایش تولید NO (Nitric oxide) و افزایش بیان I NOS (Inducible nitric oxide synthase) می‌شود که همه‌ی این اثرات مخرب، به وسیله‌ی رزوراترول مهار می‌شود که این توانایی با فعال کردن پروتئین داستیلاز وابسته به  $NAD^+$  (deacetylase sirt1) صورت می‌گیرد (۳۶). مطالعاتی که در شرایط *In vitro* در حیوانات صورت گرفته‌اند نیز نقش مهم مهار فعالیت سیتوکین‌ها

به وسیله‌ی رزوراترول را تأیید می‌کند (۲۰). مکانیسم دیگری که برای اثر محافظتی رزوراترول عنوان شده‌اند، اثر آنتی‌اکسیدانی آن است. با توجه به این که مشخص شده است که دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول‌های بتا به طور معنی‌داری پایین‌تر از سایر انواع سلول‌ها است، بنابراین سلول‌های بتا به آسیب اکسیداتیو حساس هستند (۳۷).

در مطالعه‌ای گزارش شده است که در بافت پانکراس در رت‌های مبتلا به دیابت که دیابت در آن‌ها به وسیله‌ی نیکوتینامید استرپتوزوتوسین ایجاد شده است، سطوح پراکسیدها، لیپیدها، هیدروپراکسیدها و پروتئین کربونیل به طور معنی‌داری نسبت به حیوانات طبیعی بالا است که نشان دهنده‌ی آسیب اکسیداتیو می‌باشد. همچنین فعالیت آنزیم‌هایی که در فعالیت آنتی‌اکسیدانی نقش دارند، مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتیون پراکسیداز و گلوکوتاسیون S- ترانسفراز کمتر می‌باشد و رزوراترول در رت‌ها باعث کاهش آسیب اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیم‌های پیش‌گفته می‌شود (۲۰) که این اثر، اهمیت زیادی دارد؛ چرا که در افراد مبتلا به دیابت نوع دوم، استرس اکسیداتیو یکی از عواملی است که منجر به نارسایی سلول‌های بتا می‌شود (۳۸).

### بهبود عملکرد انسولین

دیابت نوع دوم به طور معمول با مقاومت انسولینی همراه می‌باشد و مطالعات حیوانی نشان می‌دهد که رزوراترول حساسیت انسولینی را افزایش می‌دهد. تعدادی از این مطالعات بر روی موش‌ها با رژیم غذایی پرچرب و مقاومت به انسولین انجام شده (۳۹-۴۰) و در مطالعه‌ای هم این اثر در موش‌های Zucker چاق دیده شده است (۴۱).

مکانیسم‌های مختلفی برای رزوراترول در کاهش مقاومت انسولینی ذکر شده است که یکی از آن‌ها، کاهش در بافت چربی می‌باشد که در موش‌هایی که تحت رژیم پرکالری بودند، اثر رزوراترول در کاهش مقدار چربی بدن دیده شده است (۴۳-۴۲، ۴۰، ۳۸)؛ به طوری که اثر خوردن رزوراترول مشابه اثر رژیم با محدودیت کالری می‌باشد (۴۵-۴۴). مانند مطالعات حیوانی، در مطالعات آزمایشگاهی (In vitro) هم کاهش مقدار ATP (۳۹) و کاهش تجمع تری‌گلیسیرید در سلول‌های چربی جدا شده‌ی رت دیده شده است (۴۶). به نظر می‌رسد در این سلول‌ها، رزوراترول باعث افزایش پاسخ لیپولیتیک به اپی‌نفرین و کاهش لیپوزنز می‌شود (۴۷).

در مطالعه‌ای که روی سلول‌های چربی جدا شده‌ی انسان انجام شده است، رزوراترول به طور مؤثری از مقاومت انسولینی القا شده به وسیله‌ی لینولئیک اسید کونژوگه جلوگیری می‌کند. همچنین این ماده از التهاب ایجاد شده به وسیله‌ی لینولئیک اسید کونژوگه جلوگیری می‌کند که مکانیسم‌های عنوان شده عبارت از جلوگیری از فعال شدن کیناز وابسته به سیگنال خارج سلولی، مهار بیان ژن‌های مربوط به التهاب و افزایش فعالیت PPAR- $\gamma$  (Peroxisome proliferator activated receptor ) می‌باشند (۴۸).

یکی دیگر از مکانیسم‌هایی که در بسیاری از مطالعات انجام شده در رابطه با اثر رزوراترول بر بهبود عملکرد انسولین بر روی حیوانات مطرح شده است، فعال شدن sirt1 و پروتئین کیناز فعال شده AMP-activated protein یا AMPK (۵-Amp kinase) می‌باشد (۴۲، ۳۹-۳۸، ۳۶). البته در

رت، رزوراترول به میزان  $1-100 \mu\text{m}$  یک اثر مهار کننده‌گی بر ترشح انسولین دارد. البته این اثر در حضور غلظت تحریکی گلوکز دیده شده است؛ در حالی که در حضور گلوکز، در غلظت غیر تحریکی چنین تأثیری دیده نشده است (۳۳).

در حضور رزوراترول، سایر مسیرهای ترشحی انسولین که از کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP مجزا می‌باشد، نیز کاهش می‌یابد (۱۹). همچنین مطالعه روی سلول‌های پانکراس جدا شده‌ی رت نشان می‌دهد که اثر مهار رزوراترول روی ترشح انسولین، فقط به وسیله‌ی گلوکز القا نمی‌شود؛ بلکه به وسیله‌ی سایر سوخت‌های میتوکندریایی مانند لوسین و گلوتامین هم که نشان دهنده‌ی متابولیسم میتوکندریایی در سلول‌های بتا است، تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۱۹). آزمایش‌های تجربی این فرضیه را تأیید می‌کند و نشان می‌دهد که کاهش ترشح انسولین در حضور رزوراترول به دلیل آشفتگی متابولیکی در سلول‌های جزایر پانکراس است. در شرایط فیزیولوژیک، افزایش ترشح در انسولین در حضور گلوکز مقدم است که به دلیل گلیکولیز اکسیداتیو و هیپرپلاریزاسیون غشای داخلی میتوکندری در سلول‌های بتا می‌باشد (۳۵).

در آنالیز فعالیت متابولیکی سلول‌های پانکراس که در معرض رزوراترول قرار می‌گیرند، کاهش اکسیداسیون گلوکز و افزایش تولید لاکتات مشاهده می‌شود که نشان دهنده‌ی اختلال در متابولیسم اکسیداتیو گلوکز است (۱۹). اگر چه اختلال متابولیکی اهمیت اساسی دارد، اما مهار پروتئین کیناز C (PKC) در سلول‌های بتا هم در مهار ترشح انسولین نقش دارد (۲۹). مهار فعالیت PKC در

مطالعه‌ی Pacholec و همکاران، عنوان شد که رزوراترول ۱ روی فعالیت sirt1 به طور مستقیم اثر ندارد (۴۹).

### اثر روی ترشح انسولین

تعداد زیادی از ترکیبات طبیعی مشتق شده از گیاهان از جمله رزوراترول، می‌توانند روی ترشح انسولین اثر بگذارند (۴۹-۵۲). اثر این ماده روی ترشح انسولین اولین بار به وسیله‌ی Zhang و همکاران مطالعه شد (۵۳). آزمایش‌ها روی سلول‌های INS-1 چنین اثری را نشان نداد، در حالی که سایر مطالعات نشان داد که رزوراترول به طور معنی‌داری روی ترشح انسولین اثر می‌گذارد که مکانیسم‌های مختلفی عنوان شده است، از جمله این که به گیرنده‌ی سولفونیل اوره که یک بلوکر کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP است و منجر به افزایش ترشح انسولین می‌شود، متصل می‌گردد (۵۴).

در شرایط فیزیولوژیک، کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP در نتیجه‌ی افزایش در نسبت ATP به ADP (که نتیجه‌ی متابولیسم گلوکز یا سایر سوخت‌ها است)، بلوکه می‌شود. افزایش نسبت ATP/ADP باعث افزایش دیپلاریزاسیون غشای پلاسما و افزایش ترشح انسولین می‌شود (۳۲). مطالعات دیگر، اثر رزوراترول روی سلول‌های MIN6 را نشان داده‌اند که باعث بلوکه شدن کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP و کانال‌های پتاسیمی وابسته به ولتاژ و در نتیجه، دیپلاریزاسیون غشا می‌شود (۵۵).

مطالعه روی جزایر پانکراس، اطلاعات جدیدی را از عملکرد رزوراترول در رابطه با ترشح انسولین نشان می‌دهد. بر خلاف سلول‌های انسولینما (Insulinoma)، در سلول‌های پانکراس جدا شده‌ی

شدن با گیرنده‌های استروژن و فعالیت استروژنی - ضد استروژنی دارد (۵۷). بنابراین بعضی از اثرات آن به واسطه‌ی گیرنده‌های استروژنی صورت می‌گیرد.

حضور رزوراترول، در آزمایش‌های قبلی در شرایط *In vitro* نشان داده شده است (۵۴، ۵۶). بعضی مطالعات نشان می‌دهد که این ماده توانایی برای بانده

جدول ۲. اثرات رزوراترول روی حساسیت انسولین، غلظت انسولین خون و ترشح پایه‌ی انسولین

| پارامتر          | تأثیر                | حیوانات - سلول‌ها  | دوز یا غلظت تجویز شده  | نویسنده                                |
|------------------|----------------------|--|--|--|
| حساسیت انسولین   | کاهش یافته           | هیپاتوسیت‌ها   | $200 \mu\text{m}$ ، $16/10$ ساعت   | Bowers و همکاران (۵۷)                  |
|                  | افزایش یافته         | موش با رژیم پرچربی   | $400 \text{ mg/kg/day}$ برای ۱۶ هفته   | Zhang (۵۸)                             |
|                  | کاهش یافته           | بافت عضلانی انسان  | $100 \mu\text{m}$ برای مدت ۳۰ دقیقه قبل از تحریک با انسولین و ۲۰ دقیقه بعد از آن | Baur و همکاران (۳۴)                    |
|                  | افزایش یافته         | رت‌های Zucker چاق  | $10 \text{ mg/kg}$ به مدت ۴ تا ۸ هفته  | Rivera و همکاران (۴۲)                  |
| ترشح انسولین     | تحریک شده بدون تغییر | سلول‌های B- ترشح شده‌ی انسولین موش<br>سلول‌های جزایر پانکراسی جدا شده‌ی رت | $100 \mu\text{m}$ - ۶۰ دقیقه<br>$100 \mu\text{m}$ - ۹۰ دقیقه                     | Chen و همکاران (۵۴)<br>Szkudelski (۳۷) |
|                  | کاهش یافته           | رت‌های طبیعی   | $50 \text{ mg/kg}$ به صورت داخل معدی / ۳۰ دقیقه                                  | Penumathsa و همکاران (۲۸)              |
| غلظت انسولین خون | کاهش یافته           | موش با رژیم چربی و با هیپرانسولینمیا                                       | با یک رژیم غذایی و به مقدار ۰/۰۴ درصد برای ۶ ماه                                 | Zhang (۵۸)                             |
|                  | کاهش یافته           | موش با رژیم چربی و با هیپرانسولینمیا                                       | با یک رژیم غذایی به مقدار $\text{mg/kg}$ ۴۰۰ در روز برای ۱۶ هفته                 | Lagouge و همکاران (۲۵)                 |
|                  | کاهش یافته           | رت‌ها با رژیم فروکتوز بالا و هیپرانسولینمیا                                | $1 \text{ mg/kg}$ به صورت دهانی به مدت ۱۵ روز یا ۱۵ هفته                         | Deng و همکاران (۲۷)                    |
|                  | کاهش یافته           | رت‌ها با رژیم فروکتوز بالا و هیپرانسولینمیا                                | $79/2 \text{ ng}$ در روز به صوت تزریق داخل مغزی به مدت ۵ هفته                    | Ramadori و همکاران (۶۰)                |
|                  | کاهش یافته           | رت‌های Zucker چاق یا هیپرانسولینمیا  | با یک رژیم غذایی به مقدار $10 \text{ mg/kg}$ به مدت ۸-۴ هفته                     | Frojdo و همکاران (۱۰)                  |
|                  | کاهش یافته           | رت‌های مبتلا شده به دیابت به وسیله‌ی استریتوزوتوسین و نیکوتینامید          | $0/5 \text{ mg/kg}$ به صورت داخل معدی / ۳ بار در روز به مدت ۱۴ روز               | Su و همکاران (۲۴)                      |
|                  | افزایش یافته         | رت‌های دارای اضافه وزن   | $10 \text{ mg/kg}$ - ۳ به صورت داخل صفاقی به مدت ۹۰ دقیقه                        | Chi و همکاران (۲۴)                     |
|                  | افزایش یافته         | رت‌های مبتلا شده به دیابت با استریتوزوتوسین و نیکوتینامید                  | $10 \text{ mg/kg}$ - ۳ به صورت دهانی به مدت ۹۰ دقیقه                             | Schmatz و همکاران (۲۳)                 |
|                  | افزایش یافته         | رت‌های مبتلا شده به دیابت با استریتوزوتوسین و نیکوتینامید                  | $50 \text{ mg/kg}$ - ۱۰ در روز به صورت داخل معدی به مدت ۳۰ دقیقه                 | Penumathsa و همکاران (۲۸)              |
|                  | بدون تغییر           | رت‌های طبیعی   | $5 \text{ mg/kg}$ به صورت دهانی به مدت ۳۰ روز                                    | Palsamy و Subramanian (۲۰)             |
| بدون تغییر       | رت‌های طبیعی         | $5 \text{ mg/kg}$ به مدت ۳۰ روز  | Frojdo و همکاران (۵۹)  |  |
| بدون تغییر       | رت‌های طبیعی         | $10 \text{ mg/kg}$ تا ۳ به صورت دهانی به مدت ۹۰ دقیقه                      | Chi و همکاران (۲۴)   |  |



و مطالعات در این زمینه در انسان بسیار محدود می‌باشد. با توجه به مطالعات حیوانی، به نظر می‌رسد که این ماده بتواند به تنهایی یا به صورت ترکیب با داروها در جلوگیری و درمان دیابت در انسان هم نقش داشته باشد که البته قضاوت قطعی و نهایی در این زمینه، نیاز به انجام مطالعات انسانی دارد.

### نتیجه‌گیری

در پایان، چنین نتیجه‌گیری می‌شود که در مطالعاتی که در زمینه‌ی ارتباط رزوراترول با دیابت انجام شده‌اند، نتایج متفاوتی به دست آمده است و در اکثر مطالعات، اثرات مفید متعددی از آن در زمینه‌ی پیشگیری و درمان دیابت عنوان شده است، اما به طور تقریبی، همه‌ی مطالعات در حیوانات انجام شده

### References

1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2006; 29(Suppl 1): S43-S48.
2. Zahedi HS, Jazayeri S, Ghiasvand R, Djalali M, Eshraghian MR. Effects of polygonum cuspidatum containing resveratrol on inflammation in male professional basketball players. *Int J Prev Med* 2013; 4(Suppl 1): S1-S4.
3. Roggero JP, Garciaparrilla C. Effects of ultraviolet irradiation on resveratrol and changes in resveratrol and various of its derivatives in the skins of ripening grapes. *Sci Aliments* 1995; 15(5): 411-22.
4. Burns J, Yokota T, Ashihara H, Lean ME, Crozier A. Plant foods and herbal sources of resveratrol. *J Agric Food Chem* 2002; 50(11): 3337-40.
5. Pervaiz S. Resveratrol: from grapevines to mammalian biology. *FASEB J* 2003; 17(14): 1975-85.
6. Sbaghi M, Jeandet P, Faivre B, Bessis R, Fournioux JC. Development of methods using phytoalexin (resveratrol) assessment as a selection criterion to screen grapevine in vitro cultures for resistance to grey mould (*Botrytis cinerea*). *Euphytica* 1995; 86(1): 41-7.
7. Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* 1997; 275(5297): 218-20.
8. Bertelli AA, Das DK. Grapes, wines, resveratrol, and heart health. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009; 54(6): 468-76.
9. Askari Gh, Ghiasvand R, Hajishafiee M, Akbari F. The effects of quercetin supplementation on endothelial function, oxidative stress, athletic performance, inflammatory biomarkers and muscle damage indices in athletes. *J Isfahan Med Sch* 2012; 29(165): 2246-52. [In Persian].
10. Frojdo S, Durand C, Pirola L. Metabolic effects of resveratrol in mammals--a link between improved insulin action and aging. *Curr Aging Sci* 2008; 1(3): 145-51.
11. Szkudelska K, Szkudelski T. Resveratrol, obesity and diabetes. *Eur J Pharmacol* 2010; 635(1-3): 1-8.
12. Bloomgarden ZT. Diabetes complications. *Diabetes Care* 2004; 27(6): 1506-14.
13. Palumbo PJ. Glycemic control, mealtime glucose excursions, and diabetic complications in type 2 diabetes mellitus. *Mayo Clin Proc* 2001; 76(6): 609-18.
14. Cheng AY, Fantus IG. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *CMAJ* 2005; 172(2): 213-26.
15. Lekli I, Szabo G, Juhasz B, Das S, Das M, Varga E, et al. Protective mechanisms of resveratrol against ischemia-reperfusion-induced damage in hearts obtained from Zucker obese rats: the role of GLUT-4 and endothelin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294(2): H859-H866.
16. Sharma S, Misra CS, Arumugam S, Roy S, Shah V, Davis JA, et al. Antidiabetic activity of resveratrol, a known SIRT1 activator in a genetic model for type-2 diabetes. *Phytother Res* 2011; 25(1): 67-73.
17. Palsamy P, Subramanian S. Modulatory effects of resveratrol on attenuating the key enzymes activities of carbohydrate metabolism in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats. *Chem Biol Interact* 2009; 179(2-3): 356-62.
18. Silan C. The effects of chronic resveratrol treatment on vascular responsiveness of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm Bull* 2008; 31(5): 897-902.
19. Szkudelski T. Resveratrol-induced inhibition of insulin secretion from rat pancreatic islets: evidence for pivotal role of metabolic



- disturbances. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293(4): E901-E907.
20. Palsamy P, Subramanian S. Ameliorative potential of resveratrol on proinflammatory cytokines, hyperglycemia mediated oxidative stress, and pancreatic beta-cell dysfunction in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats. *J Cell Physiol* 2010; 224(2): 423-32.
  21. Su HC, Hung LM, Chen JK. Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290(6): E1339-E1346.
  22. Juan ME, Vinardell MP, Planas JM. The daily oral administration of high doses of trans-resveratrol to rats for 28 days is not harmful. *J Nutr* 2002; 132(2): 257-60.
  23. Schmatz R, Schetinger MR, Spanevello RM, Mazzanti CM, Stefanello N, Maldonado PA, et al. Effects of resveratrol on nucleotide degrading enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci* 2009; 84(11-12): 345-50.
  24. Chi TC, Chen WP, Chi TL, Kuo TF, Lee SS, Cheng JT, et al. Phosphatidylinositol-3-kinase is involved in the antihyperglycemic effect induced by resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci* 2007; 80(18): 1713-20.
  25. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell* 2006; 127(6): 1109-22.
  26. Breen DM, Sanli T, Giacca A, Tsiani E. Stimulation of muscle cell glucose uptake by resveratrol through sirtuins and AMPK. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 374(1): 117-22.
  27. Deng JY, Hsieh PS, Huang JP, Lu LS, Hung LM. Activation of estrogen receptor is crucial for resveratrol-stimulating muscular glucose uptake via both insulin-dependent and -independent pathways. *Diabetes* 2008; 57(7): 1814-23.
  28. Penumathsa SV, Thirunavukkarasu M, Zhan L, Maulik G, Menon VP, Bagchi D, et al. Resveratrol enhances GLUT-4 translocation to the caveolar lipid raft fractions through AMPK/Akt/eNOS signalling pathway in diabetic myocardium. *J Cell Mol Med* 2008; 12(6A): 2350-61.
  29. Schmatz R, Mazzanti CM, Spanevello R, Stefanello N, Gutierrez J, Maldonado PA, et al. Ectonucleotidase and acetylcholinesterase activities in synaptosomes from the cerebral cortex of streptozotocin-induced diabetic rats and treated with resveratrol. *Brain Res Bull* 2009; 80(6): 371-6.
  30. Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, Koneru S, Juhasz B, Zhan L, Otani H, et al. Resveratrol alleviates cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetes: Role of nitric oxide, thioredoxin, and heme oxygenase. *Free Radic Biol Med* 2007; 43(5): 720-9.
  31. Park HJ, Yang JY, Ambati S, Della-Fera MA, Hausman DB, Rayalam S, et al. Combined effects of genistein, quercetin, and resveratrol in human and 3T3-L1 adipocytes. *J Med Food* 2008; 11(4): 773-83.
  32. Szkudelski T. The insulin-suppressive effect of resveratrol - an in vitro and in vivo phenomenon. *Life Sci* 2008; 82(7-8): 430-5.
  33. Szkudelski T. Resveratrol inhibits insulin secretion from rat pancreatic islets. *Eur J Pharmacol* 2006; 552(1-3): 176-81.
  34. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006; 444(7117): 337-42.
  35. Barger JL, Kayo T, Vann JM, Arias EB, Wang J, Hacker TA, et al. A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. *PLoS One* 2008; 3(6): e2264.
  36. Henquin JC. Triggering and amplifying pathways of regulation of insulin secretion by glucose. *Diabetes* 2000; 49(11): 1751-60.
  37. Lee JH, Song MY, Song EK, Kim EK, Moon WS, Han MK, et al. Overexpression of SIRT1 protects pancreatic beta-cells against cytokine toxicity by suppressing the nuclear factor-kappaB signaling pathway. *Diabetes* 2009; 58(2): 344-51.
  38. Lenzen S. Oxidative stress: the vulnerable beta-cell. *Biochem Soc Trans* 2008; 36(Pt 3): 343-7.
  39. Robertson RP. Oxidative stress and impaired insulin secretion in type 2 diabetes. *Curr Opin Pharmacol* 2006; 6(6): 615-9.
  40. Sun C, Zhang F, Ge X, Yan T, Chen X, Shi X, et al. SIRT1 improves insulin sensitivity under insulin-resistant conditions by repressing PTP1B. *Cell Metab* 2007; 6(4): 307-19.
  41. Um JH, Park SJ, Kang H, Yang S, Foretz M, McBurney MW, et al. AMP-activated protein kinase-deficient mice are resistant to the metabolic effects of resveratrol. *Diabetes* 2010; 59(3): 554-63.
  42. Rivera L, Moron R, Zarzuelo A, Galisteo M. Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats. *Biochem Pharmacol* 2009; 77(6): 1053-63.
  43. Shang J, Chen LL, Xiao FX. Resveratrol improves high-fat induced nonalcoholic fatty liver in rats. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2008; 16(8): 616-9. [In Chinese].

44. Shang J, Chen LL, Xiao FX, Sun H, Ding HC, Xiao H. Resveratrol improves non-alcoholic fatty liver disease by activating AMP-activated protein kinase. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29(6): 698-706.
45. Rocha KK, Souza GA, Ebaid GX, Seiva FR, Cataneo AC, Novelli EL. Resveratrol toxicity: effects on risk factors for atherosclerosis and hepatic oxidative stress in standard and high-fat diets. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(6): 1362-7.
46. Szkudelska K, Nogowski L, Szkudelski T. Resveratrol and genistein as adenosine triphosphate-depleting agents in fat cells. *Metabolism* 2011; 60(5): 720-9.
47. Szkudelska K, Nogowski L, Szkudelski T. Resveratrol, a naturally occurring diphenolic compound, affects lipogenesis, lipolysis and the antilipolytic action of insulin in isolated rat adipocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2009; 113(1-2): 17-24.
48. Kennedy A, Overman A, Lapoint K, Hopkins R, West T, Chuang CC, et al. Conjugated linoleic acid-mediated inflammation and insulin resistance in human adipocytes are attenuated by resveratrol. *J Lipid Res* 2009; 50(2): 225-32.
49. Pacholec M, Bleasdale JE, Chrnyk B, Cunningham D, Flynn D, Garofalo RS, et al. SRT1720, SRT2183, SRT1460, and resveratrol are not direct activators of SIRT1. *J Biol Chem* 2010; 285(11): 8340-51.
50. Pinent M, Castell A, Baiges I, Montagut G, Arola L, Ardevol A. Bioactivity of flavonoids on insulin-secreting cells. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2008; 7(4): 299-308.
51. Zahedi M, Ghasvand R, Feizi A, Asgari G, Darvish L. Does Quercetin Improve Cardiovascular Risk factors and Inflammatory Biomarkers in Women with Type 2 Diabetes: A Double-blind Randomized Controlled Clinical Trial. *Int J Prev Med* 2013; 4(7): 777-85.
52. Hambrock A, de Oliveira Franz CB, Hiller S, Grenz A, Ackermann S, Schulze DU, et al. Resveratrol binds to the sulfonylurea receptor (SUR) and induces apoptosis in a SUR subtype-specific manner. *J Biol Chem* 2007; 282(5): 3347-56.
53. Zhang Y, Jayaprakasam B, Seeram NP, Olson LK, DeWitt D, Nair MG. Insulin secretion and cyclooxygenase enzyme inhibition by cabernet sauvignon grape skin compounds. *J Agric Food Chem* 2004; 52(2): 228-33.
54. Chen WP, Chi TC, Chuang LM, Su MJ. Resveratrol enhances insulin secretion by blocking K(ATP) and K(V) channels of beta cells. *Eur J Pharmacol* 2007; 568(1-3): 269-77.
55. Slater SJ, Seiz JL, Cook AC, Stagliano BA, Buzas CJ. Inhibition of protein kinase C by resveratrol. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1637(1): 59-69.
56. Atten MJ, Godoy-Romero E, Attar BM, Milson T, Zopel M, Holian O. Resveratrol regulates cellular PKC alpha and delta to inhibit growth and induce apoptosis in gastric cancer cells. *Invest New Drugs* 2005; 23(2): 111-9.
57. Bowers JL, Tyulmenkov VV, Jernigan SC, Klinge CM. Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 2000; 141(10): 3657-67.
58. Zhang J. Resveratrol inhibits insulin responses in a SirT1-independent pathway. *Biochem J* 2006; 397(3): 519-27.
59. Frojdo S, Cozzone D, Vidal H, Pirola L. Resveratrol is a class IA phosphoinositide 3-kinase inhibitor. *Biochem J* 2007; 406(3): 511-8.
60. Ramadori G, Gautron L, Fujikawa T, Vianna CR, Elmquist JK, Coppari R. Central administration of resveratrol improves diet-induced diabetes. *Endocrinology* 2009; 150(12): 5326-33.

## The Relationship between Resveratrol and Diabetes Mellitus

Omolbanin Kafeshani MSc<sup>1</sup>, Reza Ghasvand PhD<sup>2</sup>

### Review Article

#### Abstract

**Background:** Resveratrol belongs to a large group of biologically active substances found in plants which are classified as phytoestrogen because of their ability to interact with estrogen receptors. Several beneficial effects of resveratrol are described in the literature such as cardioprotective, anti-cancer, anti-inflammatory and antioxidant actions. There are conflicting evidence about the beneficial effects of resveratrol in treatment and prevention of diabetic complications. So, we decided to explore them in this review.

**Methods:** Related articles from Google scholar, PubMed, Scopus databases from 2000 to 2010 were searched.

**Conclusion:** Several useful effects of resveratrol in prevention and treatment of diabetes mellitus were recorded. However, almost all of the studies were conducted in animals that regarding the possible effects in human, similar studies should be proposed in them.

**Keywords:** Resveratrol, Diabetes, Insulin resistance, Glucose metabolism, Insulin action

**Citation:** Kafeshani O, Ghasvand R. **The Relationship between Resveratrol and Diabetes Mellitus.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(310): 1993-2005

1- PhD Candidate, Food Security Research Center, School of Nutrition and Food Science, Isfahan University of Medical Science, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Community Nutrition, School of Nutrition and Food Science, Isfahan University of Medical Science, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Reza Ghasvand PhD, Email: ghasvand @hth.mui.ac.ir

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

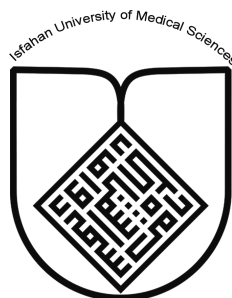
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
  - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations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

## INSTRUCTION TO AUTHORS

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

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

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



## JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 310, 3<sup>rd</sup> week, January 2015

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

---

### Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

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

### Office:

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

Telefax: +98 311 7922291

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

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

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

Farzanegan Radandish Co.

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

Telefax: +98 311 6686302

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

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

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

Circulation: 500

---

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

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

---

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

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