

مقاله های پژوهشی

- بررسی وضعیت بقای سلولی و بیان نشانگرهای عصبی در سلول های حاصل از تمایز سلول های بنیادی مشتق از بافت چربی در سیستم کشت سه بعدی آلینات ۱۴۹۱
زهرا خسروی زاده، دکتر شهناز رضوی، دکتر حمید بهرامیان، محمد کاظمی
- اپریژین، نشانگر زیستی جدید در تشخیص تصلب شریان و سکنه قلبی ۱۵۰۶
آرینا فاتحیان، دکتر هاشم نیری، دکتر معصومه صادقی
- مقایسه تاثیر دو روش درمانی فیزیوتراپی - رفلکسولوژی پا و فیزیوتراپی بر علائم استئوآرتریت زانو در سالمندان ... ۱۵۱۷
احمد رضا کاظمی، دکتر بهنام قاسمی، دکتر محمد رضا مرادی
- بررسی ارتباط پلی مورفیسم FokI ژن گیرنده ویتامین D (VDR) با چاقی ۱۵۳۰
دکتر مریم استاد شریف، فرزاد رشیدی خوراسگانی

مقاله مروری

- مرور نظام مند بر تاثیر مقدار کلسیم مصرف شده توسط مادر در زمان بارداری بر فشار خون فرزندان ۱۵۳۸
فهیمة جمشیدی، دکتر رویا کلیشادی

Original Articles

- Cell Viability and Neural Markers Expression of Human Adipose-Derived Stem Cells after Neural Induction in Alginate Tridimensional Cell Culture 1505
Zahra Khosravizadeh MSc, Shahnaz Razavi PhD, Hamid Bahramian PhD, Mohammad Kazemi MSc
- Irisin, a New Biomarker in Diagnosis of Atherosclerosis and Myocardial Infarction 1516
Azita Fatahian, Hashem Nayeri PhD, Masoumeh Sadeghi MD
- Comparison of Two Methods of Physiotherapy-Reflexology of foot and Physiotherapy on Symptoms of Senile Patients with Knee Osteoarthritis 1529
Ahmad Reza Kazemi, Behnam Ghasemi PhD, Mohammad Reza Moradi PhD
- The Relationship of FokI Polymorphism in Vitamin D Receptor (VDR) Gene and Obesity 1537
Maryam Ostadsharif PhD, Farzad Rashidi-Khorasgani MSc

Review Article

- Maternal Calcium Supplementation and its Effect on Offspring Blood Pressure: A Systematic Review on the Current Evidence 1546
Fahimeh Jamshidi, Roya Kelishadi MD



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و سوم، شماره (۳۵۰)، بهمن دوم آبان ۱۳۹۴

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

E-mail: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مسئول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

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

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

وب سایت مجله:

امور نشر:

(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)

شرکت فرزانتگان راداندیش

اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵

تلفن و دورنگار: ۰۳۱-۳۶۶۸۶۳۰۲

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

(EN): 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. 15th 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. 2nd 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. 6th 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

بررسی وضعیت بقای سلولی و بیان نشانگرهای عصبی در سلول‌های حاصل از تمایز سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی در سیستم کشت سه بعدی آلزینات..... ۱۴۹۱

زهرا خسروی‌زاده، دکتر شهناز رضوی، دکتر حمید بهرامیان، محمد کاظمی

ایریزین، نشان‌گر زیستی جدید در تشخیص تصلب شریان و سکته‌ی قلبی..... ۱۵۰۶

آزیتا فتاحیان، دکتر هاشم نیری، دکتر معصومه صادقی

مقایسه‌ی تأثیر دو روش درمانی فیزیوتراپی- رفلکسولوژی پا و فیزیوتراپی بر علائم استئوآرتریت زانو در سالمندان..... ۱۵۱۷

احمدرضا کاظمی، دکتر بهنام قاسمی، دکتر محمد رضا مرادی

بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم **FokI** ژن گیرنده‌ی ویتامین **D (VDR)** با چاقی..... ۱۵۳۰

دکتر مریم استاد شریف، فرزاد رشیدی خوراسگانی

مقاله مروری

مرور نظام‌مند بر تأثیر مقدار کلسیم مصرف شده توسط مادر در زمان بارداری بر فشار خون فرزندان..... ۱۵۳۸

فهیمة جمشیدی، دکتر رویا کلیشادی

بررسی وضعیت بقای سلولی و بیان نشانگرهای عصبی در سلول‌های حاصل از تمایز سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی در سیستم کشت سه بعدی آلژینات

زهرا خسروی زاده^۱، دکتر شهناز رضوی^۲، دکتر حمید بهرامیان^۳، محمد کاظمی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مطالعات متعددی برای فراهم کردن تعداد کافی سلول‌های عصبی جهت درمان آسیب‌های نورودژنراتیو انجام شده است. سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی، میزان تکثیر و مقاومت زیادی نسبت به آپوپتوز دارند. این سلول‌ها، قابلیت تمایز به دودمان‌های مختلف سلولی از قبیل سلول‌های عصبی را دارند. هیدروژل آلژینات، پلیمر پلی‌ساکاریدی است که دارای ویژگی‌های مناسبی از قبیل زیست‌سازگاری و عدم تحریک سیستم ایمنی می‌باشد. در این مطالعه، تأثیر هیدروژل آلژینات بر میزان بقا و بیان نشانگرهای عصبی سلول‌های حاصل از تمایز سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی انسانی بررسی شد.

روش‌ها: سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی انسانی در محیط کشت عصبی القا و سپس در هیدروژل آلژینات انکپسوله شدند. میزان رشد و تمایز سلول‌ها به ترتیب با استفاده از ارزیابی Doubling time و Real time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (Real time RT-PCR) (Real time RT-PCR) ۷ روز پس از انکپسوله کردن سلول‌ها بررسی شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون One way-ANOVA انجام گردید.

یافته‌ها: میزان رشد سلول‌های انکپسوله در هیدروژل آلژینات، کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P < 0/001$). در حالی که میانگین بیان ژن‌های GFAP (Glial fibrillary acidic protein)، Nestin و MAP2 (Microtubule-associated protein 2) در سلول‌های انکپسوله در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/001$).

نتیجه‌گیری: اگر چه سرعت تکثیر سلول‌های انکپسوله در هیدروژل آلژینات، در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت، اما هیدروژل آلژینات می‌تواند باعث افزایش تمایز عصبی سلول‌های انکپسوله شود.

واژگان کلیدی: هیدروژل آلژینات، سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی، تمایز عصبی، تکثیر

ارجاع: خسروی زاده زهرا، رضوی شهناز، بهرامیان حمید، کاظمی محمد. بررسی وضعیت بقای سلولی و بیان نشانگرهای عصبی در سلول‌های حاصل از تمایز سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی در سیستم کشت سه بعدی آلژینات. مجله دانشکده پزشکی

اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۰): ۱۴۹۱-۱۵۰۵

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم تشریحی و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- استاد، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشجوی دکتری، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

مقدمه

قدرت بازسازی سیستم عصبی بسیار کم است و به علت محدودیت تعداد سلول‌های بنیادی عصبی قابل دسترس در سیستم عصبی پس از تولد، به کارگیری پیوند سلول‌های بنیادی نورونی، زمینه‌ی مناسبی جهت بهبود عملکرد اعصاب در بیماری‌های نروژنراتیو و ضایعات عصبی مانند پارکینسون، کره هانتینگتون و آسیب طناب نخاعی فراهم نموده است (۱). مهندسی بافت، تلاش می‌کند مدل‌هایی را برای جایگزینی بافت عصبی آسیب دیده فراهم کند. برای رسیدن به این هدف، سلول‌های ویژه و داربست‌های پلیمری به کار گرفته می‌شوند (۲).

به تازگی، سلول‌های بنیادی و پیش‌ساز از بافت‌های فرد بالغ مانند مغز استخوان، پوست، عضله و چربی جدا شده‌اند (۳). بافت چربی یک منبع از سلول‌های استرومایی مزانشیمی چند استعدادی است. سلول‌های جدا شده از بافت چربی، قادر به خودنوسازی هستند و می‌توانند برای تمایز به رده‌های بافتی مختلفی مانند آدیپوسیت‌ها، استئوبلاست‌ها، میوبلاست‌ها و کندروبللاست‌ها القا شوند (۴-۵). پژوهشگران دریافته‌اند که سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی (Adipose-derived stem cells یا ADSCs) همچنین، می‌توانند به سلول‌های مشابه سلول‌های شوان با قابلیت‌های فنوتیپی و عملکردی تمایز یابند (۶). به علاوه، بافت چربی فراوان است و جهت کاربرد کلینیکی کمتر از سایر سلول‌های بنیادی سیستم ایمنی را درگیر می‌کند (۷).

مطالعات اخیر نشان داده است که سلول‌های بنیادی حاصل از بافت چربی، می‌تواند یک جایگزین مناسب برای سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت مغز

استخوان محسوب شود؛ چرا که این بافت، از طریق لیپوساکشن و روش‌هایی که نسبت به آسپیراسیون از مغز استخوان کمتر تهاجمی است، به دست می‌آید (۸-۱۰).

تعداد سلول‌های بنیادی استخراج شده از این بافت، نسبت به مغز استخوان بسیار بیشتر است (در بافت مغز استخوان ۰/۰۰۲ و در بافت چربی ۲ درصد) (۱۱). همچنین، سلول‌های چربی، سرعت تکثیر بالاتری نسبت به سلول‌های بنیادی مشتق از بافت مغز استخوان دارند. از این رو، می‌توان تعداد کافی سلول بنیادی از این بافت استخراج و در موارد کلینیکی استفاده نمود (۱۲).

آزمایش‌ها نشان داده است که سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی، عوامل نوروتروفیک و عوامل رشد عصبی بهبود دهنده‌ی بازسازی میلین را در اعصاب آسیب دیده تولید می‌کنند و نسبت به آپوتوز مقاوم‌تر هستند (۱۳-۱۵، ۱۱).

تحقیقات اخیر نشان داده است که تمایز این سلول‌ها به خصوص به سلول‌های عصبی، بستگی به شرایط محیط کشت، انتخاب نوع تحریک کننده‌ها و عوامل رشد یا اثرهای تنظیمی و القایی انواع عوامل خارجی در شرایط *In vitro* دارد.

از طرف دیگر، در مهندسی بافت از هیدروژل‌ها به عنوان داربست جهت ایجاد محیط مناسب کشت استفاده می‌شود. داربست به عنوان فراهم کننده‌ی ماتریکس خارج سلولی و تولید کننده‌ی سیگنال‌هایی برای سلول‌ها و هدایت رشد بافت جدید، عمل می‌کند (۱۶).

هیدروژل آلزینات، داربست مناسبی برای پیوند سلول‌های بنیادی عصبی است؛ چرا که به خوبی با

بیشتر و جمع‌شدگی کمتری دارند؛ در حالی که ژل‌های با محتوای M نرم‌تر هستند و خاصیت الاستیکی و منافذ کمتری دارند (۲۵). پلی‌ساکاریدهای ماتریکس خارج سلولی، هدایت آکسونی، عملکرد، تکامل سیناپسی و مهاجرت سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۶-۲۷).

بنا بر این، داربست‌هایی با پایه‌ی پلی‌ساکاریدی یا داربست‌های اصلاح شده با پلی‌ساکاریدها در مهندسی بافت عصبی بررسی شده‌اند (۱۹). توالی‌های پلی‌ساکاریدی آلزینات، ممکن است مانند گروه‌های عملکردی در ماتریکس خارج سلولی مغز عمل کنند که می‌تواند آبخارهای انتقال سیگنال برای هدایت مهاجرت سلولی و رشد عصبی را تعدیل کنند (۲۸). با توجه به این که سیستم عصبی مرکزی، مکانی با مصنوعیت ایمنی می‌باشد، ممکن است سلول‌های انکپسوله شده در هیدروژل آلزینات به خوبی توسط سیستم عصبی مرکزی تحمل شوند (۲۹).

هیدروژل آلزینات، به علت تهیه‌ی آسان و توانایی آن برای انکپسوله کردن سلول‌ها مورد توجه قرار گرفته است (۳۰-۳۴). این ماده به طور وسیعی برای رهایش دارو، انکپسوله کردن سلول و تولید مجدد بافت استفاده می‌شود (۳۵-۴۰). انواع مختلفی از سلول‌ها در هیدروژل آلزینات انکپسوله و به صورت *In vivo* و *In vitro* کشت داده شده‌اند (۴۱-۴۵، ۳۰). در مطالعه‌ای، رشد و تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به کاردیومیوسیت در هیدروژل آلزینات بررسی شد. نتایج این مطالعه، نشان داد که سلول‌های بنیادی جنینی انکپسوله در این هیدروژل، می‌توانند به ساختارهای شبه بلاستولا تبدیل شوند (۴۶). در مطالعه‌ی دیگری، فیبروبلاست‌های انکپسوله

محیط *In vitro* و بافت سیستم عصبی مرکزی سازگار است. این ماده، به طور طبیعی در جلبک قهوه‌ای یافت می‌شود و می‌تواند توسط باکتری سنتز شود (۱۷). آلزینات، دارای دو منومر D-mannuronic acid (M) و L-guluronic acid (G) است. آلزینات، یک هیدروژل با سازگاری زیستی است که از آن برای انکپسوله کردن سلول‌ها با هدف حفاظت سلول از سیستم ایمنی میزبان استفاده می‌شود. در حالی که مولکول‌های کوچک مثل گلوکز، اکسیژن و مواد زاید تولید شده، آزادانه از ماتریکس ژل عبور می‌کنند (۱۸).

این هیدروژل به طور مهم برای انکپسوله کردن سلولی شامل سلول‌های بنیادی عصبی استفاده می‌شود و به عنوان پلیمری با بار منفی، هیدروفیل و مغذی طبقه‌بندی می‌شود (۱۹).

آلزینات، دارای خصوصیات منحصر به فرد زیادی برای استفاده در انکپسوله کردن سلول‌ها است. از جمله به علت داشتن خاصیت هیدروفیلیک، می‌تواند به صورت یک ماده‌ی زمینه‌ی خارج سلولی بستری مناسب جهت رشد سلول‌ها فراهم کند. به علاوه، ژلاتینه شدن آن در دمای اتاق نیاز به وجود حلال‌های آبی ندارد و تخلخل ژلی بالای آن سبب سهولت در انتشار ماکرومولکول‌ها می‌شود. داربست آلزینات، می‌تواند محیط مناسبی را جهت تسهیل کشت سلول‌ها از طریق افزایش تجمع سلولی ایجاد کند. این ویژگی‌های آلزینات، منجر به استفاده‌ی مؤثر آن در مهندسی بافت شده است (۲۰-۲۱).

خواص مکانیکی هیدروژل آلزینات، می‌تواند به وسیله‌ی کنترل وزن مولکولی پلیمر، نسبت M:G، انواع اتصالات عرضی و غلظت کاتیون‌های اتصالات عرضی تعیین شود (۲۲-۲۴). ژل‌های آلزینات غنی از G، منافذ

بالا تری از سلول‌های عصبی جهت پیوند و کاربرد در کلینیک استفاده نمود.

روش‌ها

روش جداسازی سلول‌های بنیادی از بافت چربی: نمونه‌های چربی انسانی استفاده شده در این تحقیق، از بافت چربی سه خانم، پس از تکمیل فرم رضایت و عمل سزارین تهیه شد. بافت چربی بلافاصله پس از عمل جراحی در ظرف حاوی PBS (Phosphate-buffered saline) به آزمایشگاه بافت‌شناسی منتقل شد. بافت چربی به همراه ظرف آن وزن شد. زیر هود، نمونه چند بار با PBS شسته شد تا دبری و خون از بافت چربی جدا شود. پس از قطعه قطعه کردن، بافت چربی به فالكون ۵۰ ml منتقل شد. بافت‌های جدا شده از چربی، به ظرف منتقل و بار دیگر وزن شد و با کم کردن آن از وزن اولیه، وزن چربی استفاده شده تعیین شد. به ازای هر گرم چربی، ۰/۵ ml آنزیم کلاژناز I ۰/۰۱ درصد به فالكون اضافه شد. پس از مخلوط کردن آنزیم با چربی، فالكون به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور قرار داده شد. برابر حجم آنزیم، محیط کشت حاوی FBS (Fetal bovine serum) ۱۰ درصد به فالكون حاوی چربی جهت خشتی کردن آنزیم اضافه و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۱۶۰۰ سانتریفوژ شد. مایع رویی تخلیه و دوباره محیط کشت به رسوب سلولی اضافه و پیپت شد و نمونه به مدت ۵ دقیقه با دور rpm ۱۶۰۰ سانتریفوژ شد. پس از تخلیه مایع رویی، سوسپانسیون سلولی جهت کشت به فلاسک‌های محتوی محیط کشت DMEM/ F12 (Dulbecco's modified eagle medium/F-12)

در آلزینات، برای حداقل ۶۰ روز زنده ماندند و حفظ ثبات سلول‌ها در موقعیت مناسب توسط آلزینات، باعث تولید ماتریکس خارج سلولی و عوامل رشد شد (۲). Xie و همکاران، سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی را در هیدروژل پپتیدی خاص به عصب تمایز دادند و ۱۰ روز پس از تمایز عصبی، توده‌های سلولی تمایز یافته با Nestin رنگ گرفتند (۸).

انکپسوله کردن سلول، یکی از مهم‌ترین یافته‌ها برای سلول درمانی است. با این وجود، این روش سلول درمانی به دلیل تحریک سیستم ایمنی در کلینیک استفاده نمی‌شود. سلول‌های غیر اتولوگ انکپسوله، سیتوکین‌هایی را ترشح می‌کنند که در نهایت منجر به پاسخ سیستم ایمنی میزبان و احاطه شدن کپسول‌های حاوی سلول به وسیله‌ی بافت التهابی می‌شوند. این پاسخ التهابی، باعث کاهش بقای سلول‌های انکپسوله می‌شود (۴۷-۴۸).

یکی از راه‌های کاهش پاسخ ایمنی میزبان، استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت خود میزبان است. با توجه به مزایای سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی به عنوان یک منبع اتولوگ از سلول‌های بنیادی و ویژگی‌های منحصر به فرد کپسول هیدروژل آلزینات در تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی، تصمیم گرفته شد که این سلول‌ها در هیدروژل آلزینات کشت شوند و بیان ژن‌های GFAP (Glial fibrillary acidic protein) و Nestin، MAP2 (Microtubule-associated protein 2) در این سلول‌ها بررسی و با گروه شاهد مقایسه شود. در صورتی که سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی در هیدروژل آلزینات تمایز عصبی مطلوبی داشته باشند، می‌توان از این روش برای فراهم کردن درصد

۲۴ well محتوی محلول CaCl_2 ، 102 mM قطره گذاری شد. پلیت محتوی بیدهای آلژینات به مدت نیم ساعت در انکوباتور قرار داده شد. محلول CaCl_2 از روی بیدها حذف شد و بیدها دو بار با بافر 20 mM Tris و یک بار با محیط کشت شسته شد. سپس محیط کشت القای عصبی، حاوی آنتی بیوتیک به چاهکها اضافه گردید و پلیتها در انکوباتور قرار گرفت.

بررسی مورفولوژی سلولهای انکپسوله با استفاده از SEM: مورفولوژی سلولهای انکپسوله شده در آلژینات، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (SEM) یا Scanning electron microscope) بررسی شد. بیدهای آلژینات در پارافرمالدهید 4% درصد تثبیت و برشهای انجمادی (Cryocut 1800, reichert, JUNG, Germany) تهیه شد. برشهای $9 \mu\text{m}$ پوشش طلا داده شد و سپس با میکروسکوپ الکترونی (Seron Technology AIS 2500, India) بررسی گردید.

ارزیابی Doubling time: زمان دو برابر شدن (Doubling time)، به عنوان معیاری جهت بررسی رشد سلولهای بنیادی جدا شده از بافت چربی محاسبه شد. سلولها با تراکم سلولی 5×10^4 سلول در چاهک پلیت 6 well (گروه شاهد) و همین تعداد سلول در هیدروژل آلژینات به مدت 1 روز (گروه 1)، 3 روز (گروه 2) و 7 روز (گروه 3) کشت شد. Doubling time با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Doubling time} = T \left[\frac{\ln 2}{\ln(N_2 - N_1)} \right]$$

T برابر با زمان آزمایش، N_1 تعداد اولیه و N_2 تعداد نهایی سلولها است.

حاوی FBS 10% درصد و پنی سیلین / استرپتومایسین 1% درصد منتقل شد.

القای تمایز عصبی از طریق تهیهی نوروسفر: پس از انجام شمارش سلولی جهت تشکیل نوروسفر، $10^6 \times 1$ سلول به محیط DMEM/F12 حاوی Heparin pen/str (Human epidermal growth factor)، (Basic fibroblast growth factor)، bFGF و B27 منتقل شد. عوامل hEGF، B27 و Heparin هر سه روز یک بار به محیط اولیه اضافه شدند.

القای تمایز نورونیک: با تشکیل نوروسفرها در روز هفتم پس از القا، محیط حاوی نوروسفر به فالكون 15 ml منتقل شد. 1 ml آنزیم تریپسین - EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) به پتری دیش اضافه شد و جهت جدا شدن سلولها از کف دیش، سه دقیقه در انکوباتور قرار داده شد. با استفاده از محیط کشت محتوی سرم، آنزیم خنثی شد و پس از چند بار پیپت کردن، 5 دقیقه با دور 1600 rpm سانتریفوژ شد. محیط روی سلولها تخلیه و محیط کشت نوروبازال به نوروسفرهای منفرد شده اضافه شد. جهت انجام هر آزمایش، تعداد مناسب سلول در نظر گرفته شد.

سلولهای کشت تک لایه‌ای به عنوان گروه شاهد و سلولهای انکپسوله شده در هیدروژل آلژینات، به عنوان گروه آلژینات در نظر گرفته شدند.

نحوه‌ی انکپسوله کردن سلولها در هیدروژل آلژینات: شمارش سلولی انجام شد و برای هر 1 ml محلول هیدروژل آلژینات $10^6 \times 1$ سلول در نظر گرفته شد. محلول آلژینات حاوی سلولهای بنیادی به وسیله‌ی سرنگ با Gage 22 در چاهکهای پلیت

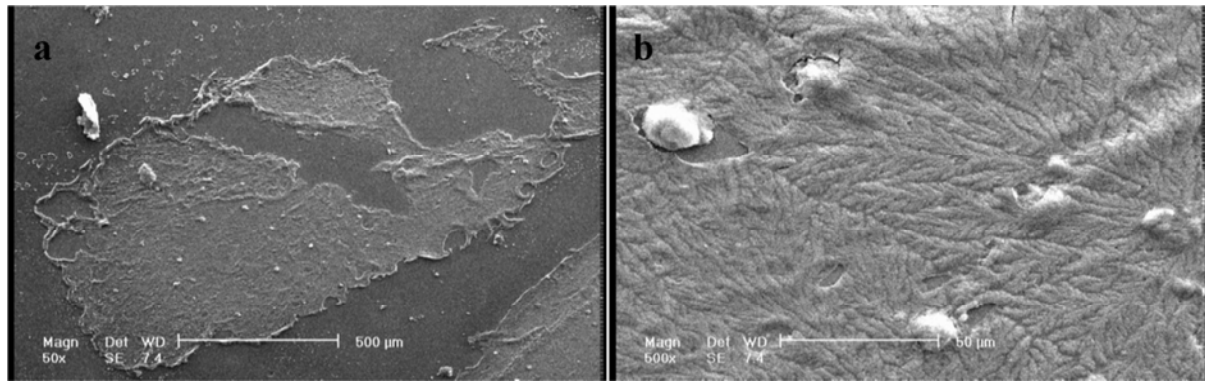
با استفاده از نسخه برداری معکوس، از روی الگوی mRNA استخراج شده، رشته‌ی cDNA ساخته شد. به این منظور، از هر نمونه mRNA مورد نظر برداشته و به یک میکروتیوب منتقل شد و oligo dt به آن اضافه و پیست شد. میکروتیوب در دستگاه ترموسایکلر در دمای 65°C به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. ترکیبی از dNTP ، Reaction buffer (Deoxyribonucleotide triphosphates) (Ribolock) و (Revert Acid reverse transcriptase) و Revert Acid RT در یک میکروتیوب تهیه و پیست شد. میکروتیوب‌ها از دستگاه ترموسایکلر خارج شد و نمونه‌ها روی یخ گذاشته شد. از ترکیب تهیه شده، $1\ \mu\text{l}$ به هر نمونه اضافه و چند بار پیست شد. میکروتیوب‌ها به دستگاه ترموسایکلر منتقل و دستگاه برای اعمال دمای 42°C به مدت ۶۰ دقیقه و دمای 70°C به مدت ۵ دقیقه تنظیم شد. جهت انجام Real time RT-PCR، ترکیبی از $(1/5\ \mu\text{l})$ cDNA، $(1/5\ \mu\text{l})$ SYBR، $(10\ \mu\text{l})$ dH_2O ، $(7/9\ \mu\text{l})$ ، رشته‌ی پیشرو و رشته‌ی پیرو هر کدام به میزان $0/3\ \mu\text{l}$ برای هر ژن تهیه شد. لیست پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ آمده است.

تکنیک Real time RT-PCR: به منظور تعیین کمی بیان ژن‌های مورد نظر، از این تکنیک استفاده شد. برای جداسازی سلول‌های گروه شاهد از کف پلیت، از آنزیم تریپسین-EDTA استفاده شد. جهت استخراج سلول‌های انکپسوله شده، محیط کشت روی بیدها به یک فالکون منتقل شد. بیدها با بافر Tris شسته شد و به فالکون حاوی ۳ میلی‌لیتر سیترات سدیم منتقل شد. پس از حل شدن بیدها، محیط کشت روی بیدها به فالکون حاوی سیترات سدیم اضافه و ۵ دقیقه با دور $1600\ \text{rpm}$ سانتریفوژ شد. به رسوب سلولی گروه شاهد و سلول‌های استخراج شده از آلزایمات $1\ \text{ml}$ PBS اضافه و پس از پیست کردن به مدت ۵ دقیقه با دور $1600\ \text{rpm}$ سانتریفوژ شد. PBS روی سلول‌ها حذف شد و نمونه‌ها روی یخ قرار گرفت. استخراج RNA با استفاده از کیت RNeasymini و ست RNAase-DNAase free و پروتکل مربوط انجام شد. نمونه روی یخ قرار داده شد و در مرحله‌ی بعد، جهت سنتز cDNA (Complementary DNA) از آن استفاده شد. پس از استخراج mRNA (Messenger RNA) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، OD (Optical density) نمونه خوانده شد.

جدول ۱. لیست توالی پرایمرهای (پیشرو و پیرو) استفاده شده در تکنیک Real time RT-PCR (Real time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction)

Gene	Forward (top)	Reverse (bottom)
Nestin	5'-AACAGCGACGGAGGTCTCTA-3'	5'-TTCTCTTGTCGCCGAGACTT-3'
MAP2	5'-TCAGAGGCAATGACCTTACC-3'	5'-GTGGTAGGCTCTTGGICTTT-3'
GFAP	5'-CCTCTCCCTGGCTCGAATG-3'	5'-GGAAGCGAACCTTCTCGATGTA-3'
GAPDH	5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3'	5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'

MAP2: Microtubule-associated protein 2; GFAP: Glial fibrillary acidic protein; GAPDH: Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase



شکل ۲. تصاویر میکروسکوپ الکترونی از برش انجمادی بدهای آلزینات حاوی سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی القا شده، شبکه‌ای خزه‌ای شکل حاوی سلول‌های کروی را نشان داد.

در تصاویر میکروسکوپ الکترونی، هیدروژل آلزینات به صورت شبکه‌ای خزه مانند حاوی سلول‌های کروی شکل و بدون زائیده بود (شکل‌های ۲a و ۲b).
 بررسی زمان دو برابر شدن (*Doubling time*) جهت مقایسه‌ی مدت زمان دو برابر شدن سلول‌ها در محیط کشت DMEM/F12 و هیدروژل آلزینات، زمان دو برابر شدن سلول‌ها در روزهای ۱ (گروه ۱)، ۳ (گروه ۲) و ۷ (گروه ۳) برای سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی (گروه شاهد) و سلول‌های بنیادی انکپسوله در هیدروژل آلزینات، انجام شد.
 طبق نتایج به دست آمده، زمان دو برابر شدن سلول‌ها در روز هفتم بین دو گروه تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0/001$) که برای سلول‌های انکپسوله در هیدروژل آلزینات ($0/460 \pm 0/005$ روز) بیشتر از سلول‌های گروه شاهد ($0/380 \pm 0/004$ روز) بود.
 با گذشت زمان، میانگین زمان دو برابر شدن سلول‌های انکپسوله در هیدروژل آلزینات، افزایش بیشتری پیدا کرد؛ به طوری که در روز اول پس از کشت، $0/060 \pm 0/003$ روز و در روز هفتم،

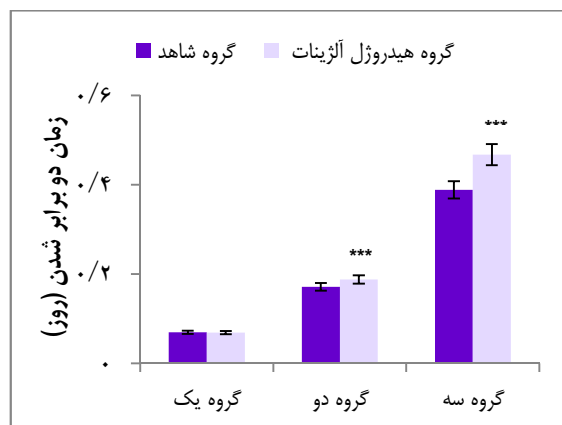
در تصاویر میکروسکوپ الکترونی، هیدروژل آلزینات به صورت شبکه‌ای خزه مانند حاوی سلول‌های کروی شکل و بدون زائیده بود (شکل‌های ۲a و ۲b).

بررسی زمان دو برابر شدن (*Doubling time*)

جهت مقایسه‌ی مدت زمان دو برابر شدن سلول‌ها در محیط کشت DMEM/F12 و هیدروژل آلزینات، زمان دو برابر شدن سلول‌ها در روزهای ۱ (گروه ۱)، ۳ (گروه ۲) و ۷ (گروه ۳) برای سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی (گروه شاهد) و سلول‌های بنیادی انکپسوله در هیدروژل آلزینات، انجام شد.

طبق نتایج به دست آمده، زمان دو برابر شدن سلول‌ها در روز هفتم بین دو گروه تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0/001$) که برای سلول‌های انکپسوله در هیدروژل آلزینات ($0/460 \pm 0/005$ روز) بیشتر از سلول‌های گروه شاهد ($0/380 \pm 0/004$ روز) بود.

با گذشت زمان، میانگین زمان دو برابر شدن سلول‌های انکپسوله در هیدروژل آلزینات، افزایش بیشتری پیدا کرد؛ به طوری که در روز اول پس از کشت، $0/060 \pm 0/003$ روز و در روز هفتم،



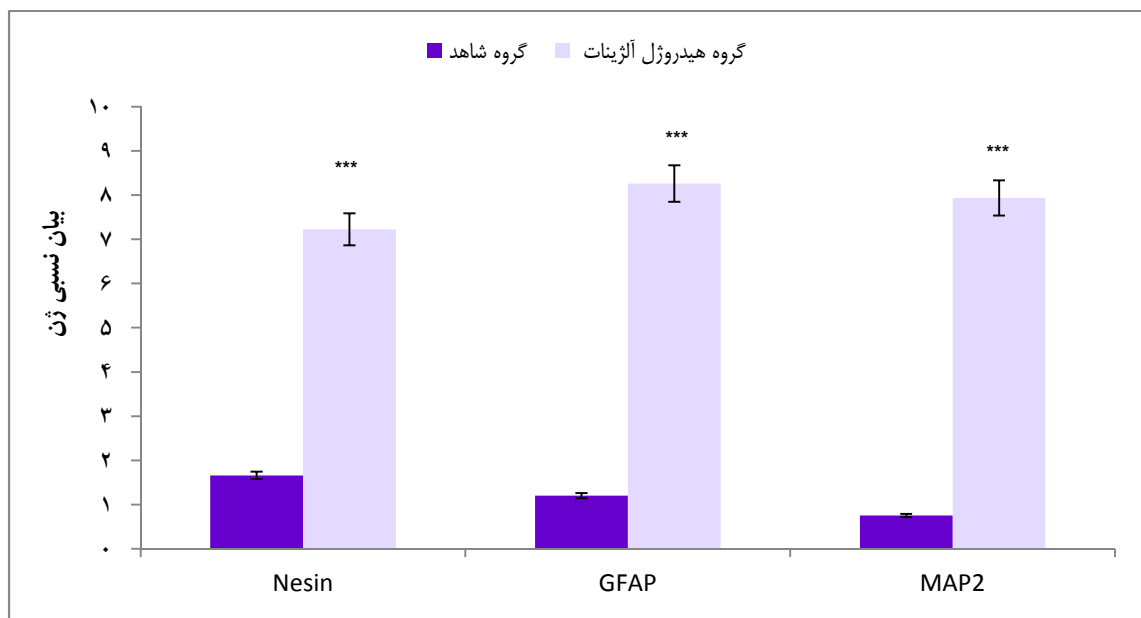
شکل ۳. میانگین زمان دو برابر شدن سلول‌های گروه شاهد و سلول‌های انکپسوله شده در هیدروژل آلزینات در روزهای ۱ (گروه ۱)، ۳ (گروه ۲) و ۷ (گروه ۳). میانگین زمان دو برابر شدن در گروه شاهد به طور معنی‌دار در مقایسه با سلول‌های انکپسوله در روز ۷ کاهش داشت. همچنین، میانگین زمان دو برابر شدن در سلول‌های انکپسوله در روز ۷ به طور معنی‌داری در مقایسه با روز ۱ افزایش یافت ($P < 0/001$ ، ***، میانگین \pm انحراف معیار)

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که هیدروژل آلزینات، داربست مناسبی را برای کشت و تمایز عصبی سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی فراهم می‌کند. اگر چه سرعت تکثیر سلولی در هیدروژل آلزینات کاهش پیدا کرد، اما میانگین بیان ژن‌های GFAP، Nestin و MAP2 در سلول‌های انکپسوله شده در هیدروژل آلزینات، در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی و هیدروژل آلزینات، دارای ویژگی‌های منحصر به فرد جهت استفاده در مهندسی بافت هستند. در این مطالعه، تأثیر هیدروژل آلزینات بر میزان تکثیر و تمایز نورون‌های سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی بررسی شد.

نتایج Real time RT-PCR

جهت بررسی میزان بیان ژن‌های Nestin، GFAP و MAP2 در دو گروه مورد بررسی در روز ۱۴ پس از تمایز، از این تکنیک استفاده شد. میانگین بیان هر سه ژن به طور معنی‌داری در سلول‌های انکپسوله در هیدروژل آلزینات در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ($P < 0/001$). میانگین بیان ژن Nestin در سلول‌های انکپسوله ($7/22 \pm 3/36$) نسبت به گروه شاهد ($1/60 \pm 0/35$) افزایش یافت. همچنین، میانگین بیان ژن GFAP در سلول‌های انکپسوله ($8/26 \pm 1/11$) در مقایسه با گروه شاهد ($1/20 \pm 0/19$) به طور معنی‌داری افزایش یافت. میانگین بیان ژن MAP2 در سلول‌های انکپسوله ($7/93 \pm 1/45$) نسبت به گروه شاهد ($0/75 \pm 0/17$) افزایش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۴).



شکل ۴. مقایسه‌ی میانگین بیان ژن‌های MAP2 (Microtubule-associated protein 2)، Nestin (Glial fibrillary acidic protein)

و GFAP در سلول‌های گروه شاهد و گروه آلزینات در روز ۱۴ پس از تمایز. میانگین بیان هر سه ژن در سلول‌های انکپسوله

در هیدروژل آلزینات، به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ($P < 0/001$ ، میانگین \pm انحراف معیار).

رشد را تنظیم می‌کند که منجر به تشکیل بافت در مهندسی بافت می‌شود (۵۴-۵۲).

مطالعه‌ای نشان داده است که سلول‌های بنیادی عصبی انکپسوله در هیدروژل آلزینات، قادر به ترشح عوامل نوروتروفیک از قبیل BDNF (Brain-derived neurotrophic factor)، NGF (Nerve growth factor) و GDNF (Glial cell-derived neurotrophic factor) هستند (۱). همچنین، سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی انسانی می‌توانند به سلول‌های عصبی تمایز داده شوند. این سلول‌ها به وسیله مورفولوژی عصبی، بیان نشانگرهای عصبی و پاسخ به دپلاریزه شدن غشای سلولی و ویژگی‌های الکتروفیزیولوژیکی مشابه با نورون‌های تکامل یافته شناسایی می‌شوند (۵۵). همچنین، سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی انسانی می‌توانند عوامل نوروتروفیک را بیان کنند (۵۶).

از آن جایی که سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی در محیط کشت دو بعدی BDNF ترشح می‌کنند، ممکن است با انکپسوله کردن این سلول‌ها در هیدروژل آلزینات مقادیر بیشتری از این عامل ترشح شده باشد که افزایش میزان تمایز عصبی سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی را نسبت به گروه شاهد توجیه می‌کند.

یک مطالعه‌ی پیشین نشان داده است که سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی کشت شده در آلزینات مولکول‌های ماتریکس غضروف شامل کلاژن نوع II، IV و کندروئیتین ۴- سولفات ترشح می‌کنند (۶). در مطالعه‌ای دیگر، سلول‌های بنیادی مزانشیمی در آلزینات COL2A1 (نشانگر

سلول‌های انکپسوله شده در هیدروژل آلزینات کروی شکل و بدون زائیده بودند، در حالی که سلول‌های گروه شاهد که به صورت تک لایه‌ای کشت شدند، مورفولوژی سلول‌های عصبی را نشان دادند و دارای زواید بلندی بودند. جهت بررسی سرعت تکثیر سلول‌های انکپسوله شده در هیدروژل آلزینات، از Doubling time استفاده شد. نتیجه‌ی این آزمایش نشان داد که سرعت تکثیر سلول‌های انکپسوله شده در هیدروژل آلزینات نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت.

طبیعت غیر چسبنده‌ی هیدروژل آلزینات، تداخل عمل سلول-سلول را حمایت می‌کند که جهت حفظ بقای سلول و تقویت ویژگی‌های عملکردی سلول‌ها دارای اهمیت است (۴۹). سلول‌های کشت شده در آلزینات، مورفولوژی کروی دارند و اگر چه میزان تکثیر این سلول‌ها کاهش می‌یابد، اما سلول‌ها در این هیدروژل زنده می‌مانند (۲۵).

در تحقیقات متعددی، کاهش تکثیر انواع سلول‌های انکپسوله شده در هیدروژل آلزینات گزارش شده است (۴۴، ۴۹-۵۰). کاهش تکثیر سلولی در هیدروژل آلزینات، ممکن است وابسته به درصد وزنی پایین آلزینات (۱ درصد) مورد استفاده باشد (۱). همچنین، تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی نیاز به لنگرگاه دارد، در حالی که هیدروژل آلزینات وضعیت معلق را برای سلول‌ها ایجاد می‌کند که می‌تواند سلول‌ها را در مرحله‌ی G0-G1 متوقف کند (۵۱).

با وجود کاهش تکثیر سلولی، مطالعات نشان می‌دهند که هیدروژل آلزینات، می‌تواند باعث تمایز انواع مختلف سلول‌ها شود. ویژگی‌های فیزیکی هیدروژل‌ها، تولید ماتریکس خارج سلولی و عوامل

هیدروژل آلزینات بررسی شد. نتایج مطالعه‌ی حاضر، نشان داد که تکثیر سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی انکپسوله در هیدروژل آلزینات، به طور معنی‌داری کاهش یافت؛ در حالی که تمایز عصبی این سلول‌ها افزایش یافت.

درصد وزنی پایین آلزینات مورد استفاده و متوقف شدن سلول‌ها در مرحله‌ی G0-G1 که توسط این هیدروژل برای سلول‌ها ایجاد می‌شود، ممکن است علتی برای کاهش تکثیر سلولی در هیدروژل آلزینات در تحقیق حاضر باشد. چرا که، آلزینات تداخل عمل سلولی ندارد، سلول‌ها قادر به چسبیدن به شبکه‌ی آلزینات نیستند. چسبندگی سلول برای بقا، تکثیر، تمایز و بیان ژن اغلب سلول‌ها ضروری است (۵۷).

طبیعت غیر چسبنده‌ی هیدروژل آلزینات، تداخل عمل سلول-سلول را حمایت می‌کند که جهت حفظ بقای سلول و تقویت ویژگی‌های عملکردی سلول‌ها دارای اهمیت است (۴۹). ممکن است سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی انکپسوله در هیدروژل آلزینات، عوامل نوروتروفیکی را برای پیشبرد تمایز عصبی ترشح کنند.

در مجموع، سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی در هیدروژل آلزینات تمایز عصبی مطلوبی داشتند. بنا بر این بررسی میزان تکثیر و تمایز عصبی این سلول در هیدروژل آلزینات به صورت *In vivo* پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد زهرا خسروی زاده به شماره‌ی ۳۹۱۱۴۵ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد.

کندروسیت‌ها) و COL10A1 (نشانگر هیپرتروفی کندروسیت‌ها) را بیان کردند (۵۰).

Purcell و همکاران، سلول‌های بنیادی عصبی کورتکس موش را در آلزینات ۱ درصد کشت دادند و مشاهده کردند که بقا و تکثیر این سلول‌ها از روز ۷ تا ۲۱ افزایش یافت؛ همچنین، توده‌های سلولی تکثیر یافته‌ی بزرگ‌تر، GFAP و Nestin را بیان کردند (۱). بر خلاف این نتایج، در بررسی‌های مطالعه‌ی حاضر، تکثیر سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی انکپسوله در هیدروژل آلزینات ۱/۲ درصد کاهش یافت. این سلول‌ها Nestin، GFAP و MAP2 را بیان کردند. احتمال می‌رود نوع متفاوت سلول‌ها و غلظت آلزینات مورد استفاده در دو تحقیق باعث کسب نتایج متفاوت شده باشد.

Matyash و همکاران، سلول‌های بنیادی عصبی انسان و رت را روی هیدروژل آلزینات ۱ درصد یا ۰/۲ درصد در محیط عصبی کشت دادند. این سلول‌ها نوریت‌های بلندتری نسبت به گروه شاهد نشان دادند. به طور تقریبی ۶۰-۷۰ درصد از سلول‌ها برای نشانگر MAP2 یا بتا توبولین III مثبت بودند. در حالی که هیچ سلول GFAP مثبتی دیده نشد (۱۹). نتایج تحقیق حاضر، نشان داد که سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی انکپسوله در هیدروژل آلزینات ۱/۲ درصد، بیان GFAP، Nestin و MAP2 را دارند. تفاوت در نوع سلول‌ها و غلظت آلزینات مورد استفاده در دو مطالعه ممکن است باعث وجود میزان متفاوت سلول‌های GFAP مثبت باشد.

روش‌های مختلفی برای تمایز سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی به سلول‌های عصبی به کار گرفته شده است. در این مطالعه، تمایز عصبی سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی در

References

- Purcell EK, Singh A, Kipke DR. Alginate composition effects on a neural stem cell-seeded scaffold. *Tissue Eng Part C Methods* 2009; 15(4): 541-50.
- Hunt NC, Smith AM, Gbureck U, Shelton RM, Grover LM. Encapsulation of fibroblasts causes accelerated alginate hydrogel degradation. *Acta Biomater* 2010; 6(9): 3649-56.
- Barrilleaux B, Phinney DG, Prockop DJ, O'Connor KC. Review: ex vivo engineering of living tissues with adult stem cells. *Tissue Eng* 2006; 12(11): 3007-19.
- Rodriguez AM, Elabd C, Amri EZ, Ailhaud G, Dani C. The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Biochimie* 2005; 87(1): 125-8.
- Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13(12): 4279-95.
- Razavi S, Mardani M, Kazemi M, Esfandiari E, Narimani M, Esmaeili A, et al. Effect of leukemia inhibitory factor on the myelinogenic ability of Schwann-like cells induced from human adipose-derived stem cells. *Cell Mol Neurobiol* 2013; 33(2): 283-9.
- Xu Y, Liu Z, Liu L, Zhao C, Xiong F, Zhou C, et al. Neurospheres from rat adipose-derived stem cells could be induced into functional Schwann cell-like cells in vitro. *BMC Neurosci* 2008; 9: 21.
- Xie X, Tang Z, Chen J, Yang J, Zeng W, Liu N, et al. Neurogenesis of adipose-derived stem cells in hydrogel. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2011; 31(2): 174-7.
- Kim MH, Hong HN, Hong JP, Park CJ, Kwon SW, Kim SH, et al. The effect of VEGF on the myogenic differentiation of adipose tissue derived stem cells within thermosensitive hydrogel matrices. *Biomaterials* 2010; 31(6): 1213-8.
- Jang S, Cho HH, Cho YB, Park JS, Jeong HS. Functional neural differentiation of human adipose tissue-derived stem cells using bFGF and forskolin. *BMC Cell Biol* 2010; 11: 25.
- Kalbermatten DF, Schaakxs D, Kingham PJ, Wiberg M. Neurotrophic activity of human adipose stem cells isolated from deep and superficial layers of abdominal fat. *Cell Tissue Res* 2011; 344(2): 251-60.
- Strem BM, Hedrick MH. The growing importance of fat in regenerative medicine. *Trends Biotechnol* 2005; 23(2): 64-6.
- Schipper BM, Marra KG, Zhang W, Donnenberg AD, Rubin JP. Regional anatomic and age effects on cell function of human adipose-derived stem cells. *Ann Plast Surg* 2008; 60(5): 538-44.
- Lopatina T, Kalinina N, Karagyaur M, Stambolsky D, Rubina K, Revischin A, et al. Adipose-derived stem cells stimulate regeneration of peripheral nerves: BDNF secreted by these cells promotes nerve healing and axon growth de novo. *PLoS One* 2011; 6(3): e17899.
- Razavi S, Razavi MR, Kheirollahi-Kouhestani M, Mardani M, Mostafavi FS. Co-culture with neurotrophic factor secreting cells induced from adipose-derived stem cells: promotes neurogenic differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 440(3): 381-7.
- Vermette M, Trottier V, Menard V, Saint-Pierre L, Roy A, Fradette J. Production of a new tissue-engineered adipose substitute from human adipose-derived stromal cells. *Biomaterials* 2007; 28(18): 2850-60.
- Boontheekul T, Kong HJ, Mooney DJ. Controlling alginate gel degradation utilizing partial oxidation and bimodal molecular weight distribution. *Biomaterials* 2005; 26(15): 2455-65.
- Gao C, Liu M, Chen J, Zhang X. Preparation and controlled degradation of oxidized sodium alginate hydrogel. *Polym Degrad Stab* 2009; 94(9): 1405-10.
- Matyash M, Despang F, Mandal R, Fiore D, Gelinsky M, Ikonomidou C. Novel soft alginate hydrogel strongly supports neurite growth and protects neurons against oxidative stress. *Tissue Eng Part A* 2012; 18(1-2): 55-66.
- West ER, Xu M, Woodruff TK, Shea LD. Physical properties of alginate hydrogels and their effects on in vitro follicle development. *Biomaterials* 2007; 28(30): 4439-48.
- Haug A, Larsen B, Smidsrod O, Eriksson G, Blinc R, Pausak S. Studies on the sequence of uronic acid residues in alginic acid. *Acta Chemica Scandinavica* 1967; 21(3): 691-704.
- Martinsen A, Skjak-Braek G, Smidsrod O. Alginate as immobilization material: I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads. *Biotechnol Bioeng* 1989; 33(1): 79-89.
- Draget KI, Skjak Braek G, Smidsrod O. Alginic acid gels: the effect of alginate chemical composition and molecular weight. *Carbohydrate Polymers* 1994; 25(1): 31-8.
- Smidsrod O, Haug A, Larsen B, Gronowitz S, Hoffman RA, Westerdahl A. The effect of divalent metals on the properties of alginate solutions. I. calcium ions. *Acta Chemica Scandinavica* 1965; 19(2): 329-40.
- Mulder L, Baaijens FPT, Bouten CVC, van Lieshout MI. Cell adhesion on alginate scaffolds for the tissue engineering of an aortic valve - a review. Eindhoven, Netherlands: Eindhoven University of Technology; 2002. p. 22-34.
- Rhiner C, Hengartner MO. Sugar antennae for guidance signals: syndecans and glypicans integrate directional cues for navigating neurons.

- ScientificWorldJournal 2006; 6: 1024-36.
27. Maeda N, Noda M. Involvement of receptor-like protein tyrosine phosphatase zeta/RPTPbeta and its ligand pleiotrophin/heparin-binding growth-associated molecule (HB-GAM) in neuronal migration. *J Cell Biol* 1998; 142(1): 203-16.
 28. Elfenbein A, Simons M. Auxiliary and autonomous proteoglycan signaling networks. *Methods Enzymol* 2010; 480: 3-31.
 29. Barker CF, Billingham RE. Immunologically privileged sites. *Adv Immunol* 1977; 25: 1-54.
 30. Li X, Liu T, Song K, Yao L, Ge D, Bao C, et al. Culture of neural stem cells in calcium alginate beads. *Biotechnol Prog* 2006; 22(6): 1683-9.
 31. Read TA, Stensvaag V, Vindenes H, Ulvestad E, Bjerkvig R, Thorsen F. Cells encapsulated in alginate: a potential system for delivery of recombinant proteins to malignant brain tumours. *Int J Dev Neurosci* 1999; 17(5-6): 653-63.
 32. Rowley JA, Madlambayan G, Mooney DJ. Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials. *Biomaterials* 1999; 20(1): 45-53.
 33. Augst AD, Kong HJ, Mooney DJ. Alginate hydrogels as biomaterials. *Macromol Biosci* 2006; 6(8): 623-33.
 34. Drury JL, Mooney DJ. Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. *Biomaterials* 2003; 24(24): 4337-51.
 35. Coviello T, Matricardi P, Marianecchi C, Alhaique F. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. *J Control Release* 2007; 119(1): 5-24.
 36. Simmons CA, Alsberg E, Hsiong S, Kim WJ, Mooney DJ. Dual growth factor delivery and controlled scaffold degradation enhance in vivo bone formation by transplanted bone marrow stromal cells. *Bone* 2004; 35(2): 562-9.
 37. Kong HJ, Mooney DJ. The effects of poly(ethyleneimine) (PEI) molecular weight on reinforcement of alginate hydrogels. *Cell Transplant* 2003; 12(7): 779-85.
 38. Alsberg E, Kong HJ, Hirano Y, Smith MK, Albeiruti A, Mooney DJ. Regulating bone formation via controlled scaffold degradation. *J Dent Res* 2003; 82(11): 903-8.
 39. Alsberg E, Anderson KW, Albeiruti A, Franceschi RT, Mooney DJ. Cell-interactive alginate hydrogels for bone tissue engineering. *J Dent Res* 2001; 80(11): 2025-9.
 40. Hsiong SX, Huebsch N, Fischbach C, Kong HJ, Mooney DJ. Integrin-adhesion ligand bond formation of preosteoblasts and stem cells in three-dimensional RGD presenting matrices. *Biomacromolecules* 2008; 9(7): 1843-51.
 41. Lee KY, Alsberg E, Mooney DJ. Degradable and injectable poly(aldehyde guluronate) hydrogels for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res* 2001; 56(2): 228-33.
 42. Petruzzo P, Cappai A, Ruiu G, Dessy E, Rescigno A, Brotzu G. Development of biocompatible barium alginate microcapsules. *Transplant Proc* 1997; 29(4): 2129-30.
 43. Schagemann JC, Mrosek EH, Landers R, Kurz H, Ergelet C. Morphology and function of ovine articular cartilage chondrocytes in 3-d hydrogel culture. *Cells Tissues Organs* 2006; 182(2): 89-97.
 44. Markusen JF, Mason C, Hull DA, Town MA, Tabor AB, Clements M, et al. Behavior of adult human mesenchymal stem cells entrapped in alginate-GRGDY beads. *Tissue Eng* 2006; 12(4): 821-30.
 45. Saha K, Keung AJ, Irwin EF, Li Y, Little L, Schaffer DV, et al. Substrate modulus directs neural stem cell behavior. *Biophys J* 2008; 95(9): 4426-38.
 46. Magyar JP, Nemir M, Ehler E, Suter N, Perriard JC, Eppenberger HM. Mass production of embryoid bodies in microbeads. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 944: 135-43.
 47. de Groot M, Schuurs TA, van Schilfgaarde R. Causes of limited survival of microencapsulated pancreatic islet grafts. *J Surg Res* 2004; 121(1): 141-50.
 48. Orive G, Tam SK, Pedraz JL, Halle JP. Biocompatibility of alginate-poly-L-lysine microcapsules for cell therapy. *Biomaterials* 2006; 27(20): 3691-700.
 49. Dar A, Shachar M, Leor J, Cohen S. Optimization of cardiac cell seeding and distribution in 3D porous alginate scaffolds. *Biotechnol Bioeng* 2002; 80(3): 305-12.
 50. Ma HL, Hung SC, Lin SY, Chen YL, Lo WH. Chondrogenesis of human mesenchymal stem cells encapsulated in alginate beads. *J Biomed Mater Res A* 2003; 64(2): 273-81.
 51. Reddy GP, Tiarks CY, Pang L, Wu J, Hsieh CC, Quesenberry PJ. Cell cycle analysis and synchronization of pluripotent hematopoietic progenitor stem cells. *Blood* 1997; 90(6): 2293-9.
 52. Bryant SJ, Chowdhury TT, Lee DA, Bader DL, Anseth KS. Crosslinking density influences chondrocyte metabolism in dynamically loaded photocrosslinked poly(ethylene glycol) hydrogels. *Ann Biomed Eng* 2004; 32(3): 407-17.
 53. Bryant SJ, Durand KL, Anseth KS. Manipulations in hydrogel chemistry control photoencapsulated chondrocyte behavior and their extracellular matrix production. *J Biomed Mater Res A* 2003; 67(4): 1430-6.
 54. Bryant SJ, Anseth KS. Hydrogel properties influence ECM production by chondrocytes photoencapsulated in poly(ethylene glycol) hydrogels. *J Biomed Mater Res* 2002; 59(1): 63-72.
 55. Bossio C, Mastrangelo R, Morini R, Tonna N, Coco S, Verderio C, et al. A simple method to generate adipose stem cell-derived neurons for screening purposes. *J Mol Neurosci* 2013; 51(2): 274-81.

56. Razavi S, Razavi MR, Zarkesh EH, Kazemi M, Mostafavi FS. Comparing brain-derived neurotrophic factor and ciliary neurotrophic factor secretion of induced neurotrophic factor secreting cells from human adipose and bone marrow-derived stem cells. *Dev Growth Differ* 2013; 55(6): 648-55.
57. Retta S, Ternullo M, Tarone G. Adhesion to matrix proteins. In: Dejana E, Corada M, editors. *Adhesion protein protocols*. 96th ed. Totowa, NJ: Humana Press; 1999. p. 125-30.

Cell Viability and Neural Markers Expression of Human Adipose-Derived Stem Cells after Neural Induction in Alginate Tridimensional Cell Culture

Zahra Khosravizadeh MSc¹, Shahnaz Razavi PhD², Hamid Bahramian PhD³,
Mohammad Kazemi MSc⁴

Original Article

Abstract

Background: Different studies have been done to obtain sufficient number of neuronal cells for treatment of central nervous system injuries. Adipose-derived stem cells have higher proliferation rate and more resistant to apoptosis. These cells can be induced to differentiate along several multilineage cells such as neuron-like cells. Alginate hydrogel is a polysaccharide polymer that has proper properties including biocompatibility with no immunogenicity. In this study, the effect of alginate hydrogel on the cell viability, proliferation rate and neurogenic differentiation of human adipose derived stem cells was evaluated at 14 days after induction.

Methods: Adipose-derived stem cells isolated from human, were cultured in neural induction media and seeded into alginate hydrogel. The cell viability and differentiation efficiency of encapsulated cells were evaluated via doubling time and real time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (real time RT-PCR) analysis, respectively. The collected data was analyzed using one-way ANOVA test.

Findings: The rate of proliferation of encapsulated cells significantly decreased as compared with control group ($P < 0.001$). The expression of nestin, glial fibrillary acidic protein (GFAP) and microtubule-associated protein 2 (MAP2) markers significantly increased as compared with control group ($P < 0.001$).

Conclusion: Altogether proliferation rate of encapsulated cells in alginate hydrogel significantly decreased as compared with control group, but alginate hydrogel can promote neural differentiation of adipose-derived stem cells.

Keywords: Alginate hydrogel, Adipose-derived stem cells, Neurogenic differentiation, Proliferation

Citation: Khosravizadeh Z, Razavi Sh, Bahramian H, Kazemi M. Cell Viability and Neural Markers Expression of Human Adipose-Derived Stem Cells after Neural Induction in Alginate Tridimensional Cell Culture. J Isfahan Med Sch 2015; 33(350): 1491-505

1- PhD Student, Department of Anatomical Sciences and Molecular Biology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

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

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

4- PhD Student, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Shahnaz Razavi PhD, Email: razavi@med.mui.ac.ir

ایریزین، نشان گر زیستی جدید در تشخیص تصلب شریان و سکته قلبی

آزیتا فتاحیان^۱، دکتر هاشم نیری^۲، دکتر معصومه صادقی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اندازه‌گیری نشان گر زیستی، یکی از اصلی‌ترین روش‌ها برای تشخیص بیماری‌های قلبی-عروقی محسوب می‌شود. به تازگی، ایریزین به عنوان یکی از نشان‌گرهای زیستی احتمالی برای تشخیص سکته قلبی (Myocardial infarction یا MI) مطرح شده است. این پروتئین، یک مایوکین است که در اثر ورزش از بافت ماهیچه‌ای ترشح می‌شود. در افرادی که در آن‌ها سکته قلبی رخ داده است، مقدار این پروتئین به صورت معنی‌داری کاهش می‌یابد. بنا بر این، هدف تحقیق حاضر بررسی غلظت ایریزین در مردان مبتلا به تصلب شریان (Atherosclerosis) و دچار سکته قلبی، در مقایسه با مردان گروه شاهد بود.

روش‌ها: این مطالعه‌ی مورد-شاهدی مقطعی بر روی ۷۵ مرد ۷۰-۳۰ ساله‌ی ساکن اصفهان در سه گروه ۲۵ نفری بیماران دچار سکته قلبی، بیماران دارای آنژیوگرافی مثبت (مبتلا به تصلب شریان) و افراد سالم با آنژیوگرافی منفی انجام شد. در ابتدا، شاخص‌های تن‌سنجی در کل بیماران اندازه‌گیری شد. از بیماران گروه سکته قلبی، در ظرف ۴۸ ساعت پس از شروع درد قفسه‌ی سینه خون‌گیری انجام و غلظت سرمی تریپونین، ایریزین، hsCRP (High-sensitivity C-reactive protein) و CK-MB (Creatine kinase-MB) در آنان اندازه‌گیری شد. از بیماران گروه شاهد و بیماران با آنژیوگرافی مثبت، به صورت ناشتا خون‌گیری به عمل آمد و غلظت سرمی پروفایل لیپیدی، ایریزین و hsCRP در آن‌ها اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: غلظت ایریزین در بیمارانی که در آن‌ها سکته قلبی رخ داده بود و همچنین، در افراد مبتلا به تصلب شریان به صورت معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. اما، میان غلظت ایریزین در گروه سکته قلبی و مبتلا به تصلب شریان تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: احتمال می‌رود کاهش ایریزین در افرادی که سکته قلبی در آن‌ها رخ داده است، یک مکانیسم محافظتی برای قلب باشد؛ چرا که به دلیل اثرات ایریزین در افزایش ترموژنز، اگر ایریزین کاهش نیابد، این احتمال وجود دارد که خسارت بافتی در اثر کمبود انرژی بیشتر باشد.

واژگان کلیدی: ایریزین، نشان گر زیستی، سکته قلبی، تصلب شریان

ارجاع: فتاحیان آزیتا، نیری هاشم، صادقی معصومه. نشان گر زیستی جدید در تشخیص تصلب شریان و سکته قلبی. مجله

دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۰): ۱۵۱۶-۱۵۰۶

مقدمه

ایریزین (Irisin) یک گلیکوپپتید جدید است که حین تمرینات ورزشی از ماهیچه ترشح می‌شود و در بافت‌ها و سلول‌های دیگر از قبیل سلول‌های

اندوتلیال سینوزودال کبدی، سلول‌های کوپفر (Kupffer cells) و سلول‌های ماهیچه‌ی قلبی توزیع شده است. بر طبق مطالعات انجام شده، ایریزین حاصل شکست پرتئولیتیک در پروتئین FNDC5

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه بیوشیمی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات بازتوانی قلبی، پژوهشکده‌ی قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

و بافت کلیه می‌گردد. احتمال می‌رود کاهش این پروتئین پس از سکته‌ی قلبی به دلایل زیر واقع شود: مشخصه‌ی سکته‌ی قلبی، کاهش اکسیژن است و ۳۰ دقیقه ایسکمی باعث کاهش ATP (Adenosine triphosphate) میوکارد تا ۵۰ درصد خواهد شد؛ در حالی که بازگشت به شرایط هواز، باعث افزایش ATP فقط تا ۶۰ درصد حالت کنترل می‌شود. غلظت بالای ایریزین، به دلیل خواص غیر جفت شونده‌اش، باعث از دست رفتن ATP می‌شود. کاهش تدریجی در سطوح سرمی و بافتی ایریزین، به منظور حفاظت از سلول‌های میوکارد و صرفه‌جویی در انرژی انجام می‌شود و باعث بالا رفتن ذخیره‌ی انرژی سلول‌های میوکارد ایسکمی شده خواهد شد؛ این وقایع با جلوگیری از هدر رفتن ATP رخ خواهند داد. هنگامی که ایریزین بیشتر باشد، خواص غیر جفت شونده‌اش باعث از دست رفتن ATP بیشتر و تولید گرمای بیشتری خواهد شد. احتمال می‌رود که اگر سطوح ایریزین در سکته‌ی قلبی کاهش نیابد، سلول‌های میوکارد و سایر سلول‌ها آسیب بیشتری متحمل می‌شوند و بافت قلبی که تشنه‌ی انرژی است، سریع‌تر به سمت نکروز پیش خواهد رفت.

بنابراین، احتمال می‌رود با مسدود کردن تولید ایریزین جدید، بافت‌های قلبی تا حدودی از آسیب در امان بمانند. کاهش ایریزین، به عنوان یک عامل غیر جفت شونده‌ی در گردش، مصرف ATP را مهار می‌کند و باعث حیات سلول و تا حدودی مهار نکروز خواهد شد. احتمال می‌رود بروز سکته‌ی قلبی با ایریزین در گردش که پس از تمرینات ورزشی افزایش می‌یابد، رابطه داشته باشد. همانند مدل‌های

(Fibronectin type III domain-containing) است. سطوح ایریزین در موش و انسان پس از تمرینات ورزشی افزایش می‌یابد.

ایریزین، اثرات قدرتمندی بر روی فرایند قهوه‌ای کردن بافت‌های چربی سفید، هم در بدن و هم در شرایط آزمایشگاهی دارد. سطوح در حد نانو مولار این پروتئین، UCP1 (Uncoupling protein 1) را در کشت اولیه‌ی سلول‌های چربی سفید تا حد ۵۰ برابر یا بالاتر افزایش می‌دهد که باعث افزایش تنفس می‌شود. مهم‌تر از همه این که، انتقال ایریزین توسط وکتور ویروسی که تنها باعث افزایش نسبی (۳ برابری) در سطح ایریزین در گردش می‌شود، باعث تحریک افزایش ۲۰-۱۰ برابری در UCP1، افزایش مصرف انرژی و بهبود تحمل گلوکز در موش‌های تحت تغذیه‌ی پر چربی خواهد شد.

از آن جایی که همین میزان افزایش در حین ورزش در موش و انسان نیز دیده می‌شود، احتمال می‌رود که ایریزین حداقل مسؤول برخی از اثرات سودمند ورزش بر روی فرایند قهوه‌ای شدن بافت چربی و افزایش مصرف انرژی باشد (۱-۳).

علاوه بر بررسی اثرات ورزش بر غلظت این پروتئین، میزان غلظت این پروتئین در شرایط بیماری نیز بررسی شده است. طی تحقیقاتی که به تازگی انجام گرفته است، سطوح در گردش ایریزین پس از رخ دادن سکته‌ی قلبی در موش و انسان بررسی شده است. در اولین مطالعاتی که بر روی موش‌های صحرائی صورت گرفته بود، مشخص شد که القای سکته‌ی قلبی از طریق تزریق زیرپوستی ایزوپروتونول، باعث کاهش سطوح بیان و رهاسازی ایریزین سرم در بافت‌های ماهیچه‌ی قلبی و اسکلتی

بودند که به تعداد مساوی در سه گروه افراد مبتلا به بیماری عروق کرونر، افرادی که یک سکته‌ی قلبی را در ۴۸ ساعت گذشته پشت سر گذاشته بودند و مردان سالم ساکن اصفهان جای گرفتند.

از بین افرادی که به دلیل درد قفسه‌ی سینه به اورژانس بیمارستان‌ها مراجعه کرده بودند، بیماران تریپتونین مثبت کسه دارای CK-MB (Creatine kinase-MB) بالاتر از سالم بودند و بیشتر از ۴۸ ساعت از شروع درد قفسه‌ی سینه‌ی آن‌ها نگذشته بود، در گروه بیماران سکته‌ی قلبی قرار گرفتند (۱۱-۱۲).

همچنین، افرادی که جهت انجام آنژیوگرافی قلبی به بیمارستان مراجعه کرده بودند، بر طبق معیارهای ورود به مطالعه، غربال شدند و از بین آن‌ها، دو گروه افراد مبتلا به بیماری عروق کرونر و افراد گروه شاهد برای ورود به مطالعه انتخاب شدند. به این صورت که افرادی که نتیجه‌ی آنژیوگرافی قلب آنان در حدود ۷۰ درصد گرفتگی عروق بود، جزء گروه بیماران عروق کرونر و افرادی که نتیجه‌ی آنژیوگرافی قلب آنان عدم گرفتگی را نشان می‌داد، جزء گروه شاهد قرار گرفتند.

معیارهای خروج از مطالعه شامل ابتلا به بیماری‌های دیابت، کلیوی و تیروئیدی، مصرف داروهای کورتیکو استروئید و کاهنده‌ی چربی خون، کاهش وزن (بیشتر از ۲ کیلوگرم) و پیروی از رژیم غذایی خاص در شش ماهه‌ی اخیر بودند. در این سه گروه، تعدادی از افراد دچار بیماری فشار خون بالا بودند و داروی فشار خون مصرف می‌کردند که طبق نظر متخصص آمار، در سه گروه هماهنگی ایجاد گردید و تعداد مشخصی از این افراد در هر گروه قرار

حیوانی، در انسان نیز غلظت ایریزین سرم و بزاق، با سکته‌ی قلبی مرتبط است. این یافته‌ها نشان می‌دهند که ایریزین می‌تواند نشان دهنده سکته‌ی قلبی و یک نشانگر بیولوژیکی برای سکته‌ی قلبی باشد.

این مطالعه، اولین مطالعه‌ای بود که ایریزین را به عنوان یک نشانگر زیستی احتمالی معرفی کرد (۴). طی مطالعات بعدی نیز که بر روی انسان‌ها صورت گرفت، همین نتایج به دست آمد (۵). همچنین، بر طبق نتایج مطالعه‌ای که بر روی افراد با خطر بالای بیماری‌های قلبی - عروقی انجام گرفت، مشخص شد که سطوح ایریزین در این افراد نیز کاهش یافته است (۶-۷).

سکته‌ی قلبی در ایران علت مهم مرگ و میر است و در این زمینه، عوامل مربوط از جمله سن، جنس، پروفایل لیپیدی، نوع سکنه و سوابق بالینی ابتلا به دیابت، فشار خون بالا و نارسایی قلب به عنوان عوامل خطر معرفی شده است (۸-۱۰)؛ از این رو، پرداختن به این موضوع یک ضرورت محسوب می‌شود که «آیا کاهش ایریزین در بیماران قلبی - عروقی، می‌تواند نشانه‌ای از وقوع یک سکته‌ی قلبی در آینده باشد؟». هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی سطح ایریزین در افراد مبتلا به تصلب شریانی و همچنین پس از رخ دادن سکته‌ی قلبی بود.

روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه‌ی مورد-شاهدی بود که با همکاری دانشگاه آزاد فلاورجان و دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گردید. جامعه‌ی پژوهش، ۷۵ مرد ۳۰-۷۰ ساله با نمایه‌ی توده‌ی بدنی (BMI یا Body mass index) ۲۰-۳۰ کیلوگرم بر متر مربع،

گرفتند. پس از توضیح اهداف مطالعه، از تمام افراد شرکت کننده، رضایت کتبی گرفته شد.

اندازه‌گیری‌های تن‌سنجی (شامل قد، وزن، نمایه‌ی توده‌ی بدنی، دور کمر، دور باسن، دور کمر به دور باسن) با توجه به اثر مهم آن بر روی بیماری‌های قلبی و افزایش فشار خون (۷-۱۲)، بر روی تمامی افراد شرکت کننده صورت گرفت. نمونه‌گیری خون در گروه شاهد و مبتلا به بیماری عروق کرونر به صورت ناشتا و در گروه سکته‌ی قلبی ظرف ۴۸ ساعت پس از وقوع سکته‌ی قلبی به عمل آمد. سرم افراد پس از جداسازی، برای انجام آزمایش‌ها در دمای °C ۲۵- نگهداری شد. از سرم بیماران سکته‌ی قلبی آزمایش‌های تریپونین، CK-MB، hs-CRP (High-sensitivity C-reactive protein) و ایریزین به عمل آمد. از سرم بیماران عروق کرونر و گروه شاهد، اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی لیپیدهای سرم شامل کلسترول تام، تری‌گلسرید، HDL-C (High density lipoprotein-Cholestrol) و LDL-C (Low density lipoprotein-Cholestrol) با توجه به نقش مؤثر آن در بیماری‌های قلبی-عروقی و فشار خون اندازه‌گیری شد (۱۳-۱۶). همچنین، سطح hs-CRP، CK-MB و ایریزین نیز اندازه‌گیری گردید. عوامل آنتروپومتریک شامل وزن و قد با استفاده از وسایل کالیبره با دقت به ترتیب ۰/۱ کیلوگرم و ۰/۱ سانتی‌متر بدون کفش اندازه‌گیری شدند. نمایه‌ی توده‌ی بدنی با تقسیم وزن (کیلوگرم) به مجذور قد (متر) محاسبه شد. دور کمر (WC) یا Wrist circumference) و دور باسن (HC) یا Hip circumference) با استفاده از متر غیر قابل انعطاف و با دقت ۰/۱ سانتی‌متر و بر طبق روش‌های

سازمان جهانی بهداشت اندازه‌گیری شد. دور کمر در باریک‌ترین نقطه‌ی دور کمر، در فاصله‌ی بین آخرین دنده و برجستگی فوقانی استخوان ایلیاک اندازه‌گیری شد. فشار خون از دست راست بیمار در حالت نشسته اندازه‌گیری شد.

سطوح سرمی ناشتای کلسترول تام، تری‌گلسرید و HDL-C به روش آنزیمی و نیز LDL-C با استفاده از فرمول فریدوالد و CK-MB به صورت کمی، با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون) و دستگاه اتوآنالایزر (Bio-Technicon BT3000، ایتالیا) اندازه‌گیری شد. سطح سرمی تریپونین به صورت کیفی توسط کیت هموسیس انجام گرفت. اندازه‌گیری ایریزین به روش الایزا (ELISA) یا Enzyme-linked immunosorbent assay) رقابتی، با استفاده از کیت الایزا از شرکت Biovendor چک، بر طبق دستورالعمل انجام گرفت.

پس از ورود اطلاعات در نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL)، آنالیز داده‌ها توسط متخصص آمار انجام گرفت. برای بررسی همسان بودن از نظر سن و همچنین عوامل آنتروپومتریک، از آزمون One-way ANOVA استفاده شد. برای بررسی پراکندگی فشار خون بین سه گروه از آزمون χ^2 استفاده شد. برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در پارامترهای بیوشیمیایی میان سه گروه، از آزمون Independent t استفاده شد و در صورت معنی‌دار بودن اختلاف، از آزمون تعقیبی LSD (Least significant difference) به منظور مشخص کردن گروه دارای اختلاف معنی‌دار استفاده شد. همچنین، از آزمون همبستگی Pearson به منظور بررسی همبستگی میان پارامترهای مورد مطالعه استفاده گردید.

یافته‌ها

مشخصات عمومی افراد مورد مطالعه

از ۷۵ نفر افراد مورد مطالعه، ۲۵ نفر در گروه شاهد، ۲۵ نفر در گروه دارای آنژیوگرافی مثبت و ۲۵ نفر در گروه سکتہی قلبی بررسی شدند. جدول ۱، نشان دهنده مشخصات عمومی افراد مورد مطالعه می‌باشد. میانگین سن ($P = ۰/۶۳۹$)، طول قد ($P = ۰/۵۳۰$)، وزن ($P = ۰/۴۵۰$)، BMI ($P = ۰/۴۱۰$)، دور کمر ($P = ۰/۵۲۰$)، دور باسن ($P = ۰/۲۳۰$)، دور میچ ($P = ۰/۸۶۰$) و نسبت دور کمر به دور باسن ($P = ۰/۷۴۰$) میان سه گروه مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار نداشت (جدول ۱). همچنین، فراوانی ابتلا به فشار خون بالا، بین سه گروه اختلاف معنی‌دار نداشت ($P = ۰/۷۶۰$).

بررسی پارامترهای بیوشیمیایی

میانگین TG (Triglyceride) و VLDL (Very low density lipoprotein) در گروه دارای آنژیوگرافی مثبت به طور معنی‌دار بیشتر از گروه شاهد بود ($P = ۰/۰۴۰$)، اما میانگین سایر عوامل

پروفایل لیپیدی، بین دو گروه شاهد و دارای آنژیوگرافی مثبت اختلاف معنی‌دار نداشت (جدول ۲).

آنالیز آماری نشان داد میانگین hs-CRP در سه گروه یکسان نبود ($P < ۰/۰۰۱$). همچنین، آزمون تعقیبی LSD نشان داد که میانگین hs-CRP در گروه سکتہی قلبی به طور معنی‌دار بیشتر از گروه شاهد و گروه دارای آنژیوگرافی مثبت بود ($P < ۰/۰۰۱$)، اما دو گروه شاهد و دارای آنژیوگرافی مثبت با هم تفاوت معنی‌دار نداشتند ($P = ۰/۶۴۰$) (جدول ۳).

میان میانگین ایریزین سرمی در سه گروه، تفاوت‌های معنی‌دار موجود بود ($P = ۰/۰۳۰$). آزمون تعقیبی LSD نشان داد که میانگین ایریزین در دو گروه دارای آنژیوگرافی مثبت ($P = ۰/۰۴۰$) و دچار سکتہی قلبی ($P = ۰/۰۱۰$) به طور معنی‌دار کمتر از گروه شاهد بود. دو گروه دارای آنژیوگرافی مثبت و دچار سکتہی قلبی، با هم تفاوت معنی‌دار نداشتند ($P = ۰/۶۲۰$) (جدول ۳).

جدول ۱. مقایسه میانگین عوامل آنروپومتریک در گروه‌های شاهد و دارای آنژیوگرافی مثبت

متغیر	گروه شاهد (میانگین ± انحراف معیار)	گروه دارای آنژیوگرافی مثبت (میانگین ± انحراف معیار)	گروه سکتہی قلبی (میانگین ± انحراف معیار)	مقدار P*
سن (سال)	۵۵/۱۰ ± ۸/۸۰	۵۷/۱۰ ± ۸/۴۰	۵۶/۸۰ ± ۷/۳۰	۰/۶۳۹
قد (cm)	۱۷۳/۵۰ ± ۶/۸۰	۱۷۲/۶۰ ± ۶/۳۰	۱۷۱/۴۰ ± ۷/۱۰	۰/۵۳۰
وزن (Kg)	۷۳/۶۰ ± ۹/۵۰	۷۵/۸۰ ± ۷/۹۰	۷۲/۸۰ ± ۸/۹۰	۰/۴۵۰
BMI (Kg/m ^۲)	۲۴/۵۰ ± ۲/۹۰	۲۵/۵۰ ± ۲/۷۰	۲۴/۰۰ ± ۲/۸۰	۰/۴۱۰
دور کمر (cm)	۹۵/۲۰ ± ۷/۱۰	۹۷/۰۰ ± ۵/۶۰	۹۵/۰۴ ± ۷/۲۰	۰/۵۲۰
دور باسن (cm)	۱۰۰/۴۰ ± ۶/۰۳	۱۰۳/۲۰ ± ۵/۵۰	۱۰۱/۲۰ ± ۶/۴۰	۰/۲۳۰
دور میچ (cm)	۱۸/۶۰ ± ۰/۹۰	۱۸/۷۰ ± ۰/۸۰	۱۸/۵۰ ± ۰/۹۰	۰/۸۶۰
WHR	۰/۹۵ ± ۰/۰۵	۰/۹۴ ± ۰/۰۳	۰/۹۴ ± ۰/۰۵	۰/۷۴۰

* $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شده است.

BMI: Body mass index; WHR: Waist to hip ratio

جدول ۲. مقایسه‌ی میانگین پروفایل لیپیدی در گروه‌های شاهد و دارای آنژیوگرافی مثبت

متغیر	گروه شاهد (میانگین ± انحراف معیار)	گروه دارای آنژیوگرافی مثبت (میانگین ± انحراف معیار)	مقدار *P
TC	۱۷۹/۵۰ ± ۴۱/۵۰	۱۶۸/۸۰ ± ۲۷/۳۰	۰/۲۹۰
TG	۱۴۸/۵۰ ± ۶۳/۵۰	۱۸۰/۹۰ ± ۷۱/۴۰	۰/۰۴۰
HDL	۴۳/۷۰ ± ۷/۸۰	۴۲/۶۰ ± ۵/۴۰	۰/۵۷۰
LDL	۱۰۶/۵۰ ± ۳۰/۹۰	۹۷/۶۰ ± ۲۸/۴۰	۰/۱۰۰
HDL/LDL	۰/۴۴ ± ۰/۱۲	۰/۴۹ ± ۰/۱۱	۰/۱۱۰
VLDL	۲۹/۷۰ ± ۱۲/۷۰	۳۶/۲۰ ± ۱۴/۳۰	۰/۰۴۰

*P < ۰/۰۵۰ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شده است.

TC: Total cholesterol; TG: Triglyceride; HDL: High density lipoprotein; LDL: Low density lipoprotein; VLDL: Very low density lipoprotein

جدول ۳. میانگین hs-CRP (High-sensitivity C-reactive protein) و ایریزین در گروه‌های شاهد، دارای آنژیوگرافی مثبت و دچار

سکته‌ی قلبی

متغیر	گروه شاهد (میانگین ± انحراف معیار)	گروه دارای آنژیوگرافی (میانگین ± انحراف معیار)	گروه سکته‌ی قلبی (میانگین ± انحراف معیار)	مقدار *P
hs-CRP	۲/۲۴ ± ۱/۷۵	۳/۵۵ ± ۲/۵۷	۱۴/۷۴ ± ۹/۰۳	< ۰/۰۰۱
غلظت سرمی ایریزین (ng/ml)	۰/۳۳ ± ۰/۱۲	۰/۲۷ ± ۰/۰۹	۰/۲۶ ± ۰/۱۰	۰/۰۳۰

*P < ۰/۰۵۰ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شده است.

hs-CRP: High-sensitivity C-reactive protein

و ۲۵ نفر در گروه سکته‌ی قلبی) ساکن اصفهان شرکت داشتند. بر اساس جستجوهای انجام شده، مطالعات کمی بر روی غلظت ایریزین در بیماران قلبی-عروقی انجام شده و این مطالعه، اولین مطالعه‌ای است که غلظت این پروتئین را در افراد مبتلا به تصلب شریان بررسی می‌کند.

بر اساس آنالیزهای آماری، میان افراد شرکت کننده در مطالعه از نظر مشخصات عمومی هیچ تفاوت معنی‌داری موجود نبود. نتایج حاصل از مطالعه نشان دادند که میانگین ایریزین سرمی در افرادی که یک سکته‌ی قلبی را پشت سر گذاشته بودند، به صورت معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود (P = ۰/۰۱۰). این نتایج با نتایج مطالعات Kuloglu و همکاران (۴) و

نتایج به دست آمده از بررسی همبستگی میان پارامترهای مورد بررسی نشان داد که میان غلظت سرمی (نانوگرم بر میلی‌لیتر) ایریزین و غلظت سرمی تری‌گلیسرید، ارتباط معکوس و معنی‌داری (P < ۰/۰۵۰) موجود است.

بحث

هدف پژوهش حاضر، بررسی غلظت ایریزین در افراد مبتلا به گرفتگی عروق (آنژیوگرافی مثبت) در مقایسه با افراد بدون گرفتگی عروق (آنژیوگرافی منفی) و همچنین، بررسی تغییرات ایریزین پس از وقوع سکته‌ی قلبی بود. در این مطالعه ۷۵ مرد (۲۵ نفر در گروه شاهد، ۲۵ نفر در گروه دارای آنژیوگرافی مثبت

همچنین Aydin و همکاران (۵) مطابقت دارد.

همچنین، طی این مطالعه نشان داده شد که سطوح ایریزین سرمی در بیماران مبتلا به تصلب شریان نیز به صورت معنی‌داری پایین‌تر از گروه شاهد بود ($P = 0/040$)، اما میان دو گروه با مشکلات قلبی - عروقی تفاوت معنی‌داری موجود نبود.

همان‌طور که گفته شد، مطالعات انجام شده در زمینه‌ی سکته‌ی قلبی، نشان می‌دهند که ایریزین پس از آسیب بافت قلبی، کاهش می‌یابد. احتمال می‌رود این کاهش غلظت، نوعی مکانیسم حفاظتی برای جلوگیری از آسیب بیشتر باشد (۴-۵)، اما کاهش ایریزین در افرادی که مبتلا به تصلب شریان هستند، چگونه توجیه خواهد شد؟

جالب این‌که در مطالعاتی که آسیب بافت ماهیچه‌ای به عنوان یک پدیده‌ی ثانویه ظهور می‌کند (مثل مصرف استاتین و هایپرتیروئیدسم)، نیز غلظت ایریزین افزایش یافته است (۱۷-۱۸). از آن جایی که بافت عضله‌ی اسکلتی، از مهم‌ترین منابع تولید کننده‌ی ایریزین به شمار می‌رود، محققان احتمال می‌دهند که این افزایش غلظت ایریزین، در اثر آسیب سلول‌های ماهیچه‌ای باشد.

به صورت تئوری، آسیب بافت میوکارد باید باعث آزادسازی ایریزین موجود در سلول‌های ماهیچه‌ی قلبی به درون گردش خون شود، اما نتایج حاصل از دو مطالعه‌ی پیشین (۴-۵) و همچنین مطالعه‌ی حاضر، این احتمال را نقض می‌کند. طبق نتایج مطالعه‌ی حاضر، احتمال می‌رود سکته‌ی قلبی و تصلب شریان باعث کاهش غلظت ایریزین خواهند شد. از آن جایی که غلظت ایریزین در گروه مبتلا به تصلب شریان (دارای آنژیوگرافی مثبت) نیز کمتر از گروه شاهد بود، آیا می‌

توان این احتمال را داد که بدن با توجه به شرایط پیش رو (تصلب شریانی که شاید منجر به گرفتگی عروق و وقوع یک سکته‌ی قلبی می‌شود)، غلظت ایریزین را به منظور جلوگیری از آسیب‌های احتمالی بیشتر پایین می‌آورد؟ آیا می‌توان کاهش ایریزین را به عنوان یک نشانگر زیستی پیش‌بینی کننده در احتمال وقوع سکته‌ی قلبی معرفی کرد؟

پدیده‌ی «مهیا شدن سلول برای یک شرایط ایسکمیک» (Ischemic preconditioning) به عنوان یک هورمزیز (Hormesis) تلقی می‌شود. هورمزیز، اصطلاحی است که توسط سم‌شناسان استفاده می‌شود و به پاسخ دوز دو مرحله‌ای به عامل محیطی اشاره دارد. خصوصیت این عامل محیطی، تحریک با دوز پایین یا اثر مفید و مهار با دوز بالا یا اثر سمی است. در حیطه‌ی بیولوژی و پزشکی، هورمزیز به عنوان پاسخ سازشی سلول‌ها و ارگانیزم‌ها به یک استرس سطح متوسط و اغلب غیر معمول تعریف می‌شود. شرایط ایسکمیک نیز یکی از این شرایط استرس محسوب می‌شود و پدیده‌ی «مهیا شدن سلول برای یک شرایط ایسکمیک»، به عنوان یکی از قوی‌ترین مکانیسم‌هایی شناخته می‌شود که در مقابل جراحی ایسکمیک میوکارد، از بدن محافظت می‌کند.

در مدل‌های حیوانی و همچنین آزمایش‌های انسانی، یک ایسکمی کوتاه مدت باعث محافظت از قلب در برابر ایسکمی‌های بلند مدت، کاهش ابعاد سکته‌ی قلبی، کاهش وقوع و شدت آریتمی‌های ایجاد شده ناشی از بازگشت خون و جلوگیری از اختلال عملکرد سلول‌های اندوتلیال می‌گردد. اگر چه، مکانیسم دقیق این پدیده مبهم است، مطالعات

بسیاری نشان می‌دهند که این پدیده، نوعی محافظت قلبی با واسطه‌ی گیرنده است و مسیرهای هدایت سیگنال درون سلولی آن درگیر فعال‌سازی تعدادی پروتئین کیناز، شامل پروتئین کیناز C و کانال‌های میتوکندریایی K_{ATP} است.

آپوپتوز، که فرمی از مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی است، با از دست رفتن کاردیومیوسیت‌ها در انواع مختلفی از بیماری‌های قلبی، از قبیل نارسایی قلبی و جراحات مربوط به ایسکمی و بازگشت دوباره‌ی خون، مرتبط است. در حالی که پدیده‌ی مهیا شدن سلول برای ایسکمی، به صورت معنی‌داری از تکه تکه شدن DNA و مرگ آپوپتوزی مرتبط با ایسکمی و بازگشت خون مایوسیت‌ها جلوگیری می‌کند، مکانیسم‌های بالقوه‌ی این اثرات، به خوبی شناخته نشده‌اند (۲۰-۱۹).

به نظر می‌رسد که نتایج مطالعه‌ی حاضر، با یافته‌های مطالعات قبلی همخوانی نداشته باشد؛ چرا که اگر فرض کاهش یافتن ایریزین به منظور کاهش آسیب بافتی صحیح باشد، تا قبل از نکرز میوکارد، کاهش ایریزین نباید قابل ملاحظه باشد؛ یعنی در گروه دارای آنژیوگرافی مثبت بدون سکته‌ی قلبی، باید سطح ایریزین بالاتر از افرادی باشد که مبتلا به سکته‌ی قلبی شده‌اند. بنا بر این، احتمال این که ایریزین به دنبال سکته‌ی قلبی کاهش می‌یابد تا جنبه‌ی محافظتی برای میوکارد داشته باشد، قابل قبول به نظر نمی‌رسد. با این حال، نویسندگان احتمال می‌دهند که در هنگام تصلب شریان (گروه دارای آنژیوگرافی مثبت)، مکانیسم دفاعی «مهیا شدن سلول برای شرایط ایسکمیک» به کار می‌افتد و بدن خود را برای یک سکته‌ی قلبی و آسیب احتمالی آماده می‌کند.

از طرف دیگر، ماهیچه‌ی قلبی، یکی از مهم‌ترین منابع تولید کننده‌ی ایریزین محسوب می‌شود و احتمال آن می‌رود که با کاهش خون‌رسانی به این بافت، حین تصلب شریان، حجم ایریزین تولید شده و یا آزاد شده به درون خون کاهش یابد. اما آیا به راستی بدن با کاهش غلظت ایریزین، قصد دارد از هدر رفتن انرژی و آسیب‌های وارده‌ی بیشتر جلوگیری کند؟ آیا کاهش ایریزین یکی از پاسخ‌های بدن محسوب می‌شود و از بدن در مقابل جراحی ایسکمیک میوکارد محافظت می‌کند؟ آیا می‌توان احتمال داد که کاهش ایریزین در بیماران با انفارکتوس میوکارد درگیر پدیده‌ی «مهیا شدن سلول برای یک شرایط ایسکمیک»، یک پدیده‌ی میتوهورمیز، باشد؟ آیا می‌توان این احتمال را داد که کاهش غلظت ایریزین در خون، نشانه‌ای از انفارکتوس میوکارد است؟

غلظت ایریزین با غلظت سرمی تری‌گلیسیرید به صورت معکوس و معنی‌داری مرتبط بود و میان ایریزین و سایر پارامترهای آنروپومتریک و بیوشیمیایی، هیچ همبستگی معنی‌داری موجود نبود. احتمال می‌رود این عدم معنی‌داری به دلیل حجم پایین نمونه‌ها باشد. از زمان کشف ایریزین، مشخص شده است که سطوح آن با کلسترول HDL و هورمون‌های استروئیدی مانند استرادیول، مرتبط است. احتمال می‌رود این موضوع مشخص کند که ایریزین در فرایند استروئیدوز درگیر است. شناخت مکانیسمی که ایریزین از طریق آن قادر به تأثیرگذاری بر سنتز لیپیدها است، به تحقیقات آزمایشگاهی و مطالعات مداخله‌ای نیاز دارد (۶).

از محدودیت‌های این مطالعه، می‌توان به تعداد کم نمونه اشاره کرد. همچنین، از آن جایی که محل بررسی نمونه‌ها در مرکز شهر واقع نشده بود، افراد با

تشکر و قدردانی

این مطالعه، حاصل بخشی از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد خانم آزیتا فتاحیان دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی بیوشیمی می‌باشد. بدین وسیله از مسؤولین و کارکنان محترم مرکز تحقیقات قلب و عروق، بیمارستان نور و حضرت علی اصغر (ع)، بیمارستان چمران و بهداری صنعت نفت اصفهان به دلیل همکاری در این پروژه قدردانی می‌شود.

فواصل مختلف زمانی از گذشت سکته‌ی قلبی، به بیمارستان مراجعه کردند و غلظت متغیرهای مورد مطالعه در یک زمان خاص بررسی نشد؛ هر چند حداکثر زمان نمونه‌گیری تا ۴۸ ساعت بعد از شروع درد قفسه‌ی سینه بود.

در پایان با توجه با این که سطح خونی ایریزین در بیماری‌های کلیوی و قلبی و همچنین دیابت تغییر می‌کند (۲۱، ۱۳)، مطالعات بیشتری بر روی سطح ایریزین در این بیماری‌ها پیشنهاد می‌شود.

References

- Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481(7382): 463-8.
- Kelly DP. *Medicine*. Irisin, light my fire. *Science* 2012; 336(6077): 42-3.
- Villarroya F. Irisin, turning up the heat. *Cell Metab* 2012; 15(3): 277-8.
- Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Yilmaz M, Sahin I, Kalayci M, et al. Irisin: a potentially candidate marker for myocardial infarction. *Peptides* 2014; 55: 85-91.
- Aydin S, Aydin S, Kobat MA, Kalayci M, Eren MN, Yilmaz M, et al. Decreased saliva/serum irisin concentrations in the acute myocardial infarction promising for being a new candidate biomarker for diagnosis of this pathology. *Peptides* 2014; 56: 141-5.
- Panagiotou G, Mu L, Na B, Mukamal KJ, Mantzoros CS. Circulating irisin, omentin-1, and lipoprotein subparticles in adults at higher cardiovascular risk. *Metabolism* 2014; 63(10): 1265-71.
- Ahmadi A, Soori H, Mehrabi Y, Etemad K, Samavat T, Khaledifar A. Incidence of acute myocardial infarction in Islamic Republic of Iran: a study using national registry data in 2012. *East Mediterr Health J* 2015; 21(1): 5-12.
- Baradaran A, Nasri H. Serum cholesterol as a marker of nutrition in end-stage renal failure patients on renal replacement therapy. *International Journal of Pharmacology* 2006; 2(2): 184-7.
- Ahmadi A, Soori H, Mehrabi Y, Etemad K, Khaledifar A. Epidemiological pattern of myocardial infarction and modelling risk factors relevant to in-hospital mortality: the first results from the Iranian Myocardial Infarction Registry. *Kardiol Pol* 2015; 73(6): 451-7.
- Nasri H, Baradaran A. Lipids in association with leptin in maintenance hemodialysis patients. *J Med Sci* 2006; 6(2): 173-9.
- Ahmadi A, Hasanzadeh J, Rajaeifard A. Metabolic control and care assessment in patients with type 2 diabetes In Chaharmahal and Bakhtiyari Province 2008. *Iran J Endocrinol Metab* 2009; 11(1): 33-9. [In Persian].
- Nasri H, Behradmanesh S, Ahmadi A, Rafieian-Kopaei M. Impact of oral vitamin D (cholecalciferol) replacement therapy on blood pressure in type 2 diabetes patients; a randomized, double-blind, placebo controlled clinical trial. *J Nephropathol* 2014; 3(1): 29-33.
- Beladi-Mousavi SS, Bashardoust B, Nasri H, Ahmadi A, Tolou-Ghamari Z, Hajian S, et al. The theme of the world diabetes day 2014; healthy living and diabetes; a nephrology view point. *J Nephropharmacol* 2014; 3(2): 43-5.
- Nasri H, Yazdani M. The relationship between serum LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and systolic blood pressure in patients with type 2 diabetes. *Kardiol Pol* 2006; 64(12): 1364-8.
- Nasri H, Baradaran A. Association of serum lipoprotein(a) with ultrasonographically determined early atherosclerotic changes in the carotid and femoral arteries in kidney transplanted patients. *Transplant Proc* 2004; 36(9): 2683-6.
- Ahmadi A, Soori H, Sajjadi H, Nasri H, Mehrabi Y, Etemad K. Current status of the clinical epidemiology of myocardial infarction

- in men and women: a national cross-sectional study in iran. *Int J Prev Med* 2015; 6: 14.
17. Nasri H. Serum C-reactive protein (CRP) in association with various nutritional parameters in maintenance hemodialysis patients. *Bratisl Lek Listy* 2005; 106(12): 390-5.
 18. Nasri H, Ahmadi A, Baradaran A, Momeni A, Nasri P, Mardani S, et al. Clinicopathological correlations in lupus nephritis; a single center experience. *J Nephropathol* 2014; 3(3): 115-20.
 19. Ghaderian SB, Beladi-Mousavi SS. The role of diabetes mellitus and hypertension in chronic kidney disease. *J Renal Inj Prev* 2014; 3(4): 109-10.
 20. Beladi-Mousavi SS, Bashardoust B, Nasri H, Ahmadi A, Tolou-Ghamari Z, Hajian Sh. Serum uric acid level and its association with cardio-metabolic risk factors in prediabetics. *J Parathy Dis* 2014; 2(1): 51-2.
 21. Gouni-Berthold I, Berthold HK, Huh JY, Berman R, Spenrath N, Krone W, et al. Effects of lipid-lowering drugs on irisin in human subjects in vivo and in human skeletal muscle cells ex vivo. *PLoS One* 2013; 8(9): e72858.

Irisin, a New Biomarker in Diagnosis of Atherosclerosis and Myocardial Infarction

Azita Fatahian¹, Hashem Nayeri PhD², Masoumeh Sadeghi MD³

Original Article

Abstract

Background: Measuring biomarkers has become of the most useful methods for diagnosis cardiovascular diseases (CVD), due to the simplicity and accessibility. Irisin, a newly discovered myokine, has been recently introduced as a potential biomarker for diagnosis of myocardial infarction (MI). Recent studies showed that irisin decreases significantly in patients with myocardial infarction. The present study aimed to explore the irisin concentration in men with atherosclerosis or myocardial infarction, compared to control group.

Methods: This cross-sectional controlled trial study conducted on 75 Iranian men in three groups of myocardial infarction, angiography test-positive and control. Anthropometric parameters (height, weight, waist and hip circumference) were measured at the first step. Blood collection was done within 48 hours after chest pain initiation in patients with myocardial infarction (for determination of serum troponin, creatine kinase-MB (CK-MB), high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) and irisin concentration); and after a 10-12 hours fasting in angiography-positive and control groups (for determination of serum lipid profile, hsCRP and irisin concentration).

Findings: Irisin concentration was significantly lower in myocardial infarction and in angiography-positive groups compared to the control group. There was not significant difference in irisin concentration between the myocardial infarction angiography-positive groups.

Conclusion: Decreasing of irisin concentration in patient with myocardial infarction might be a protective response. There is a possibility that if irisin would not be decreased, there would be a bigger tissue damaging due to the energy depletion.

Keywords: Irisin, Biomarker, Myocardial infarction, Atherosclerosis

Citation: Fatahian A, Nayeri H, Sadeghi M. **Irisin, as a Newly Biomarker in Diagnosis of Atherosclerosis and Myocardial Infarction.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(350): 1506-16

1- MSC Student, Department of Biochemistry, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biochemistry, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Cardiac Rehabilitation Research Center, Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Hashem Nayeri PhD, Email: hnaieri@gmail.com

مقایسه‌ی تأثیر دو روش درمانی فیزیوتراپی - رفلکسولوژی پا و فیزیوتراپی بر علایم استئوآرتروز زانو در سالمندان

احمد رضا کاظمی^۱، دکتر بهنام قاسمی^۲، دکتر محمد رضا مرادی^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: استئوآرتروز شایع‌ترین بیماری مفاصل سینوویال و یکی از علل اصلی ناتوانی در سنین سالمندی است. علایم بیماری استئوآرتروز زانو به صورت درد، خشکی صبحگاهی و محدودیت حرکات مفصلی می‌باشد. با توجه به وجود درمان‌های مختلف، برتری هیچ کدام از درمان‌ها بر دیگری مشخص نشده است. هدف از انجام این تحقیق، مقایسه‌ی تأثیر دو روش درمانی فیزیوتراپی - رفلکسولوژی پا و فیزیوتراپی بر علایم بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو بود.

روش‌ها: در یک پژوهش نیمه‌تجربی، ۲۴ بیمار سالمند مبتلا به استئوآرتروز زانو مراجعه کننده به فیزیوتراپی توحید شهر اصفهان، با آگاهی کامل از مراحل اجرای کار، انتخاب و به طور تصادفی به دو گروه فیزیوتراپی - رفلکسولوژی و فیزیوتراپی تقسیم شدند. در گروه فیزیوتراپی، درمان‌های معمول شامل اولتراسوند، مادون قرمز و تحریک الکتریکی عصب از راه پوست انجام شد؛ در گروه فیزیوتراپی - رفلکسولوژی نیز، علاوه بر درمان فیزیوتراپی، از رفلکسولوژی کف پا به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. در هر دو گروه، برنامه‌ی درمانی به مدت ۲۴ جلسه (۶ هفته و هر هفته، ۴ جلسه) انجام گردید. در پیش‌آزمون و پس‌آزمون هر دو گروه، برای ارزیابی علایم بیماران از فرم پرسش‌نامه‌ی (Knee injury and osteoarthritis outcome score) KOOS استاندارد شده، استفاده گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون ANCOVA، تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: علایم بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو (درد و خشکی مفصل و میزان فعالیت‌های روزانه، ورزش و تفریح) در گروه درمانی فیزیوتراپی - رفلکسولوژی نسبت به گروه فیزیوتراپی، بهبود بیشتری داشت ($P < 0/05$). اما، بین اثر دو روش درمانی مورد بررسی بر کیفیت زندگی مبتلایان به استئوآرتروز زانو، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P = 0/111$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که ترکیب دو روش درمانی فیزیوتراپی و رفلکسولوژی اثربخشی بیشتری نسبت به فیزیوتراپی دارد. پیشنهاد می‌شود، از این روش در برنامه‌های توانبخشی جهت کاهش برخی علایم در بیماران مبتلا استئوآرتروز زانو استفاده شود.

واژگان کلیدی: استئوآرتروز زانو، رفلکسولوژی، فیزیوتراپی

ارجاع: کاظمی احمد رضا، قاسمی بهنام، مرادی محمد رضا. مقایسه‌ی تأثیر دو روش درمانی فیزیوتراپی - رفلکسولوژی پا و فیزیوتراپی

بر علایم استئوآرتروز زانو در سالمندان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۰): ۱۵۲۹-۱۵۱۷

همراه با استخوان‌سازی جدید در سطح و حاشیه‌ی مفاصل درگیر بروز می‌کند و عامل ناتوانی در جمعیت زیادی از بالغین می‌باشد. این بیماری،

مقدمه

استئوآرتروز یک بیماری غیر التهابی مفصلی است که در مفاصل متحرک در اثر تخریب غضروف مفصلی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده‌ی ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده‌ی ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

Email: a.kazemi597@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤول: احمد رضا کاظمی

استئوآرتروز زانو انجام شده است (۷-۸). فیزیوتراپی، یکی از روش‌های پذیرفته شده برای درمان استئوآرتروز می‌باشد که از شیوه‌های مرسوم آن می‌توان به کاربرد روش‌هایی نظیر گرما، سرما، جریان‌های تحریکی ضد درد نظیر تحریک الکتریکی عصب از راه پوست، دیاترمی، اولتراسوند و تمرین درمانی اشاره نمود (۹-۱۰). مدارک زیادی در مورد تأثیر تحریک الکتریکی عصب از راه پوست و تمرین‌های ایزومتریک و تقویتی روی بهبود عملکرد و کاهش درد در بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو وجود دارد (۱۱-۱۲، ۷).

Gaines و همکاران، به تأثیر تحریک الکتریکی بر توانایی عضله‌ی چهار سر ران در بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو پرداختند و نشان دادند که تحریک الکتریکی، باعث افزایش قدرت و توان این عضله می‌شود (۱۳). مرتضوی و همکاران با بررسی اثر لیزر کم‌توان مادون قرمز در درمان بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو، ۶۰ بیمار را در دو گروه لیزر و لیزرنا قرار دادند و افزایش معنی‌دار عملکرد روزانه و کاهش معنی‌دار درد در زمان استراحت و فعالیت را در گروه لیزر نسبت به گروه لیزرنا، گزارش کردند (۱۴). رفلکسولوژی پا (ماساژ بازتابی) از دیگر روش‌های غیر دارویی است. رفلکسولوژی یا ماساژ بازتابی کف پا، به عنوان یک درمان طبیعی و قدیمی است. متخصصان طب رفلکسولوژی معتقدند که همه‌ی اندام‌ها و غدد بدن با نقاط رفلکسی موجود در پاها، دست‌ها و گوش‌ها مرتبط هستند (۱۵). اساس تئوری رفلکسولوژی بر این اصل استوار است که «بخش کوچکی از بدن می‌تواند با کل بدن مرتبط باشد». از این رو، درمان در نواحی دیستال صورت

می‌تواند با کاهش عملکرد فیزیکی و در نتیجه محدود نمودن استقلال فردی بر کیفیت زندگی افراد تأثیر بگذارد (۱). زانو، شایع‌ترین محل استئوآرتروز پس از انگشتان و مهره‌ها می‌باشد؛ به طوری که یک سوم از جمعیت بالای ۶۵ سال دنیا، دچار تغییرات رادیولوژیکی استئوآرتروز زانو هستند (۲).

طی سال‌های اخیر، افزایش جمعیت مسن به طور نسبی با افزایش مبتلایان به استئوآرتروز همراه بوده است (۳)؛ به طوری که Fransen و همکاران، شیوع این عارضه در قاره‌ی آسیا و افزایش آن با بالا رفتن سن و چاقی را گزارش می‌کنند (۴). از آن جا که بیماری استئوآرتروز منجر به محدودیت حرکتی و ناتوانی شدید و از دست رفتن کارایی و ضعف عضلانی می‌گردد، به طور معمول هدف از درمان استئوآرتروز، کاهش درد، بهبود عملکرد جسمانی و حفظ تحرک مفصلی برای مشارکت مطلوب در مشاغل اجتماعی، خانگی، شغلی و تفریحی است که بسته به شرایط بیمار و روند بیماری، درمان‌های مختلفی چون درمان‌های دارویی (استامینوفن و داروهای موضعی)، غیر دارویی (برنامه‌های تمرین درمانی و اصلاح شیوه‌ی زندگی)، جراحی (لاواژ و آرتروپلاستی) و همچنین، مدالیت‌های فیزیکی (Hot pack, Ultrasound, Hydrotherapy, TENS یا Transcutaneous electrical nerve stimulation) برای این افراد به کار می‌رود (۵-۶).

در دهه‌ی اخیر، مطالعات زیادی در مورد درمان‌های غیر دارویی و فیزیوتراپی روی بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو صورت گرفته است و مدارک قوی در مورد تأثیر کاهش وزن و ورزش روی کاهش درد و بهبود عملکرد بیماران مبتلا به

رسیدند که علائم کمردرد بیماران به طور معنی‌داری کاهش و بهبود یافته است (۲۱).

Deyle و همکاران با مقایسه‌ی اثر درمانی برنامه‌ی تمرینی بالینی و برنامه‌ی تمرینات خانگی به مدت ۴ هفته در بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو دریافتند که گروه تمرین کلینیکی، نسبت به گروه تمرینات خانگی، بهبودی بیشتری داشتند و میانگین امتیاز آزمون قدم زدن هر دو گروه، ۱۰ درصد بهبود یافت (۲۲).

همچنین، نتایج مطالعه‌ی Bjordal و همکاران در مورد تأثیر مدالیت‌های فیزیکی و طب سوزنی بر روی بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو نشان داد که بهبود درد پس از ۴ هفته درمان در گروه طب سوزنی بیشتر از گروه تحریک الکتریکی عصب از راه پوست بوده است (۲۳). در داخل کشور نیز ناظم‌زاده و همکاران (۲۴) و نیز رضوانی امین و همکاران (۲۵) به بررسی اثرات رفلکسولوژی کف پا بر درد و ناتوانی بیماران مبتلا به کمردرد مزمن پرداختند. در پایان محققان گزارش کردند که رفلکسولوژی، تأثیر معنی‌داری بر درد و ناتوانی بیماران داشته است.

در مطالعه‌ی دیگری درباره‌ی تأثیر ماساژ سونادی بر استئوآرتروز زانو، مشخص گردید که ماساژ درمانی جهت کاهش درد در بیماران مبتلا به استئوآرتروز مؤثر می‌باشد (۲۶). همچنین، در پانلی که با هدف بررسی مقالات معتبر موجود درباره‌ی روش‌های مختلف فیزیوتراپی جهت درمان استئوآرتروز زانو برگزار گردیده بود، ۲۶ مقاله‌ی معتبر بررسی و بر اساس آن، رهنمودهایی جهت درمان این بیماری ارائه گردید. بر اساس توصیه‌های ارائه شده در این پانل، تمرین درمانی به خصوص تمرینات تقویتی و فعالیت فیزیکی عمومی، سبب

می‌گیرد. تغییرات در پاها، دست‌ها، صورت، زبان، گوش و یا حتی چشم‌ها، وقوع تغییرات فیزیولوژیک را انعکاس می‌دهد (۱۶).

طبق نظر رفلکسولوژیست‌ها، علت اختلال در ارگان‌ها و سیستم‌های بدن، تجمع اسید اوریک و کلسیم در مسیرهای انرژی است که می‌تواند در مسیر اعصاب انتهایی موجود در کف پا اختلال ایجاد کند و جریان لنف را مسدود کند. ماساژ این نقاط، سبب شکسته شدن این مواد و در نهایت جذب یا حذف آن‌ها می‌شود. نقاط رفلکسی، در واقع گیرنده‌های عصبی هستند که تحریک آن‌ها استرس‌های فیزیولوژیک و عضلانی را کاهش می‌دهد و سبب آرام‌سازی عمیق می‌شود (۱۷).

Poole و همکاران، در تحقیقی به بررسی تأثیر رفلکسولوژی پا بر کنترل کمردرد پرداختند. نتایج نشان داد که رفلکسولوژی می‌تواند سبب کاهش ناتوانی در بیماران مبتلا به کمردرد مزمن شود (۱۸). در مطالعه‌ی Kim و همکاران، تأثیر رفلکسولوژی پا بر درد و خشکی مفاصل، افسردگی و خواب در زنان میانسال مبتلا به استئوآرتروز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که رفلکسولوژی پا، به صورت معنی‌داری بر کاهش درد و خشکی مفاصل، افسردگی و در بهبود کیفیت خواب زنان مبتلا به استئوآرتروز تأثیر داشته است (۱۹).

در تحقیقی با هدف بررسی اثر ماساژ بازتابی پا، بر درد و افسردگی زنان میانسال مبتلا به استئوآرتروز زانو در کشور کره، محققین به این نتیجه رسیدند که ماساژ بازتابی پا، بر درد و افسردگی این بیماران مؤثر بوده است (۲۰). Quinn و همکاران در بررسی اثرات رفلکسولوژی در درمان کمردرد مزمن به این نتیجه

تعیین شده توسط کالج روماتولوژی آمریکا برای استئوآرتروز زانو) شامل سن بیش از ۴۰ سال، درد زانو در بیشتر روزهای ماه گذشته (میانگین شدت درد ≤ 4 ، به عبارت دیگر درجات ۳ و ۴ استئوآرتروز زانو) و استئوفیت در رادیوگرافی بود (۳۱).

معیارهای خروج از مطالعه شامل عدم مراجعه‌ی منظم بیمار، عدم تمایل بیمار به ادامه‌ی درمان، تزریقات استروئیدی درون مفصلی (طی ۶ ماه گذشته)، تشدید علائم و هر گونه زخم و کوفتگی در کف پا بود. با توجه به این معیارها، ۸ نفر از بیماران از مطالعه کنار گذاشته شدند و در نهایت، ۲۴ نفر (۱۲ مرد و ۱۲ زن) وارد پژوهش شدند. بیماران به طور تصادفی در دو گروه فیزیوتراپی - رفلکسولوژی و فیزیوتراپی تقسیم شدند. تمام بیماران به مدت ۲۴ جلسه (۶ هفته و هر هفته ۴ جلسه) تحت درمان معمول فیزیوتراپی که شامل الکتروتراپی و حرکت درمانی بود، قرار گرفتند. الکتروتراپی شامل تحریک الکتریکی عصب از راه پوست (TENS یا Transcutaneous electrical nerve stimulation) ۱۵ دقیقه با فرکانس ۱۰۰-۵۰ هرتز، اولتراسوند پیوسته با فرکانس یک مگاهرتز به مدت ۵ دقیقه با شدت متوسط ۱/۵ وات بر سانتی‌متر مربع، مادون قرمز به مدت ۱۵ دقیقه با فاصله‌ی ۴۵ سانتی‌متر از عضو (۳۲) و تمرین درمانی شامل حرکات تقویتی ایزومتریک و ایزوتونیک روی عضلات چهار سر و همسترینگ بود (۳۳).

در گروه فیزیوتراپی - رفلکسولوژی بعد از انجام روش‌های فیزیوتراپی پیش‌گفته، بیمار در وضعیت بسیار راحتی قرار گرفت و رفلکسولوژی به صورت ماساژ ملایم تمام کف پا (تکنیک‌های آرام‌سازی که

تسکین درد و پیشرفت عملکرد می‌شود. همچنین، کاربرد تمرین درمانی به تنهایی و توأم با درمان‌های دستی نظیر ماساژ توصیه گردید (۲۷). همچنین، نشان داده شده است که تمرین درمانی و درمان‌های دستی، سبب کاهش درد و بهبود عملکرد می‌شوند و این اثرات تا حدود ۱۲ ماه بعد از مداخله نیز تداوم دارند (۲۸).

با توجه به یافته‌های سایر مطالعات مبنی بر عدم استفاده از ماساژ جهت درمان استئوآرتروز زانو و همچنین محدود بودن مطالعات بالینی در زمینه‌ی تأثیر ماساژ بر استئوآرتروز زانو (۲۹-۳۰)، و با توجه به شیوع بالای استئوآرتروز زانو در افراد جامعه و لزوم انجام تحقیقات گسترده‌تر در این زمینه و همچنین محدود بودن مطالعات در زمینه‌ی کارایی درمان‌هایی همچون رفلکسولوژی و ترکیب آن با درمان‌های معمول استئوآرتروز، در میزان درد و علائم بیماری و نیز نیافتن مطالعه‌ی مبنی بر مقایسه‌ی این دو روش، پژوهش حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ی دو روش درمانی فیزیوتراپی و ترکیب فیزیوتراپی - رفلکسولوژی بر میزان درد و علائم بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو انجام شد.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع نیمه‌تجربی بود که به روش پیش‌آزمون و پس‌آزمون، بر روی دو گروه فیزیوتراپی و فیزیوتراپی - رفلکسولوژی انجام شد که در کلینیک فیزیوتراپی توحید در شهر اصفهان انجام شد. تعداد ۳۲ بیمار (۱۴ مرد و ۱۸ زن) که استئوآرتروز زانو در آن‌ها توسط پزشک تأیید شده بود، به صورت داوطلبانه وارد مطالعه شدند. معیارهای ورود به مطالعه (بر اساس شاخص‌های بالینی و رادیولوژیک

شد. در سطح توصیفی، از جدول و نمودار فراوانی و درصد فراوانی، محاسبه‌ی میانگین و انحراف معیار همراه با واریانس و در سطح استنباطی نیز در راستای فرضیه‌های پژوهش که مبتنی بر مقایسه‌ی بین دو گروه فیزیوتراپی و فیزیوتراپی - رفلکسولوژی بوده است، از تحلیل کوواریانس استفاده شد.

یافته‌ها

با استفاده از آمار توصیفی، ابتدا داده‌های جمعیت شناختی پرسش‌نامه و سپس داده‌های مربوط به سؤالات پرسش‌نامه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در این مطالعه، در مجموع ۲۴ بیمار مبتلا به استئوآرتریت زانو مورد بررسی قرار گرفتند. ۱۲ بیمار در گروه فیزیوتراپی (۷ مرد و ۵ زن) و ۱۲ بیمار در گروه فیزیوتراپی - رفلکسولوژی پا (۵ مرد و ۷ زن) قرار گرفتند. در گروه فیزیوتراپی میانگین متغیرهای سن $61/67 \pm 7/95$ سال، وزن $75/83 \pm 10/81$ کیلوگرم و قد $172/75 \pm 6/25$ سانتی‌متر بود. همچنین، در گروه فیزیوتراپی - رفلکسولوژی پا، میانگین سن $60/08 \pm 10/36$ سال، وزن $78/08 \pm 12/16$ کیلوگرم و قد $175/75 \pm 5/36$ سانتی‌متر بود. نمرات پیش‌آزمون و پس‌آزمون علایم بیماری در دو گروه درمانی، در جدول ۱ آمده است.

بر اساس جدول ۲، میانگین میزان درد، علایم خشکی، فعالیت‌های روزانه، ورزش و تفریح، کیفیت زندگی در مرحله‌ی پس‌آزمون در گروه فیزیوتراپی - رفلکسولوژی نسبت به گروه فیزیوتراپی بالاتر بود.

بر اساس جدول ۳، بین گروه‌های درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی - رفلکسولوژی در میزان درد بیماران مبتلا

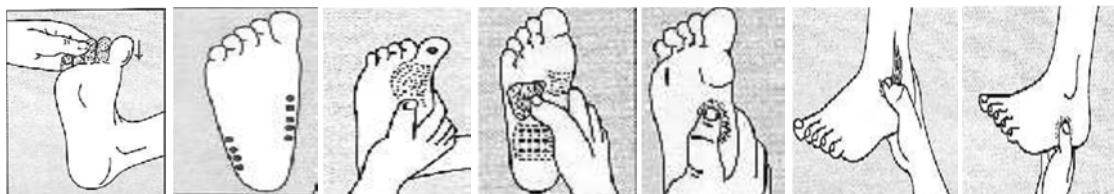
باعث شل شدن و آمادگی پا برای انجام تکنیک‌های اختصاصی رفلکسولوژی می‌گردند) و سپس اعمال فشار ثابت یا دورانی نقاط مربوط به درد و التهاب زانو (شکل ۱) به مدت ۳۰ دقیقه (۱۵ دقیقه در هر پا) انجام گردید (۲۰-۱۹).

به منظور ارزیابی از فرم پرسش‌نامه‌ی KOOS (Knee injury and osteoarthritis outcome score) استاندارد شده استفاده گردید. پرسش‌نامه‌ی KOOS، یک پرسش‌نامه‌ی بین‌المللی و استاندارد است که به منظور اندازه‌گیری درد زانو، میزان علایم، مشکلات عملکرد حرکتی در فعالیت‌های روزانه، ورزشی، تفریحی و کیفیت زندگی در مفصل زانو طراحی شده است. پرسش‌نامه‌ی KOOS دارای ۴۲ سؤال بیمار محور است که ۵ بعد مربوط به درد (۹ سؤال)، سایر علایم (تورم، خشکی، سفتی و غیره) مربوط به بیماری (۷ سؤال)، فعالیت‌های زندگی روزمره (۱۷ سؤال)، فعالیت‌های ورزشی و تفریحی (۵ سؤال) و کیفیت زندگی در رابطه با مشکل زانو (۴ سؤال) را مورد بررسی قرار می‌دهد. برای پاسخ‌دهی به سؤالات، از مقیاس ۵ گزینه‌ای لیکرت استفاده شد. هر خرده‌مقیاس به صورت جداگانه و بین ۱۰۰-۰ محاسبه می‌شود؛ عدد ۱۰۰ نشان‌گر فقدان مشکل و عدد صفر به عنوان وخیم‌ترین وضعیت در نظر گرفته می‌شود. این پرسش‌نامه در ایران به زبان فارسی ترجمه و بومی‌سازی شده است و نسخه‌ی فارسی آن از نظر تکرار پذیری در مطالعات مختلف تأیید شده است (۳۴). این پرسش‌نامه توسط آزمون‌گر به صورت مصاحبه‌ی حضوری تکمیل شد.

برای تحلیل داده‌های حاصل از پرسش‌نامه‌های پژوهش، از دو سطح آمار توصیفی و استنباطی استفاده

معنی‌دار بود. به عبارت دیگر، فیزیوتراپی-رفلکسولوژی نسبت به فیزیوتراپی، در کاهش میزان درد بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو مؤثر بوده است.

به استئوآرتریت زانو در سطح $P < 0/010$ تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P = 0/020$)؛ یعنی تفاوت بین درد بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو در دو گروه درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی-رفلکسولوژی



شکل ۱. نقاط رفلکسولوژی مربوط به درد و التهاب زانو

جدول ۱. مقایسه‌ی میانگین میزان علائم (درد، علائم خشکی، فعالیت روزانه، ورزش و تفریح و کیفیت زندگی) بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو

متغیر	گروه	فیزیوتراپی میانگین \pm انحراف معیار	فیزیوتراپی-رفلکسولوژی میانگین \pm انحراف معیار
درد	پیش‌آزمون	۴۱/۶۶ \pm ۱۱/۵۴	۳۷/۵۰ \pm ۱۷/۱۰
	پس‌آزمون	۵۷/۱۷ \pm ۱۶/۶۰	۶۱/۸۰ \pm ۹/۰۳
علائم خشکی	پیش‌آزمون	۲۵/۰۰ \pm ۱۴/۸۴	۱۹/۶۴ \pm ۲۱/۹۸
	پس‌آزمون	۴۴/۹۴ \pm ۲۱/۳۴	۵۰/۸۹ \pm ۱۱/۶۱
فعالیت‌های روزانه	پیش‌آزمون	۳۹/۸۲ \pm ۱۱/۰۳	۳۴/۴۳ \pm ۱۶/۹۲
	پس‌آزمون	۶۰/۶۶ \pm ۱۲/۲۷	۶۹/۲۴ \pm ۱۳/۳۶
ورزش و تفریح	پیش‌آزمون	۲۰/۴۱ \pm ۱۴/۹۹	۱۷/۰۸ \pm ۱۸/۰۲
	پس‌آزمون	۴۴/۱۶ \pm ۱۶/۸۹	۵۲/۹۱ \pm ۱۲/۶۹
کیفیت زندگی	پیش‌آزمون	۶۸/۵۱ \pm ۴/۹۳	۶۷/۸۲ \pm ۵/۷۳
	پس‌آزمون	۷۲/۹۱ \pm ۹/۴۱	۷۶/۱۵ \pm ۷/۲۴

جدول ۲. مقایسه‌ی میانگین میزان علائم (درد، علائم خشکی، فعالیت روزانه، ورزش و تفریح و کیفیت زندگی) بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو

پس‌آزمون تعدیل شده

متغیر	فیزیوتراپی میانگین \pm انحراف معیار	فیزیوتراپی-رفلکسولوژی میانگین \pm انحراف معیار
درد	۵۶/۵۴ \pm ۲/۱۱	۶۲/۴۳ \pm ۲/۵۶
علائم خشکی	۴۴/۱۲ \pm ۲/۷۲	۵۱/۷۰ \pm ۲/۷۳
فعالیت‌های روزانه	۵۹/۰۸ \pm ۱/۲۹	۷۰/۸۱ \pm ۱/۳۵
ورزش و تفریح	۴۳/۱۴ \pm ۱/۵۴	۵۳/۹۴ \pm ۱/۵۵
کیفیت زندگی	۷۲/۷۶ \pm ۱/۲۴	۷۶/۳۰ \pm ۱/۲۰

جدول ۳. مقایسه‌ی اثر روش درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی- رفلکسولوژی بر میزان درد بیماران بر اساس پرسش‌نامه‌ی KOOS

(Knee injury and osteoarthritis outcome score)

منبع	مجموع مجذورات	درجه‌ی آزادی	مجدور میانگین	F	مقدار P	مقدار اتا	توان آماری
پیش‌آزمون	۲۷۴۲/۶۹۶	۱	۲۷۴۲/۶۹۶	۴۸/۵۶۱	۰/۰۰۱	۰/۶۹۸	۱/۰۰۰
گروه	۳۵۸/۷۵۹	۱	۳۵۸/۷۵۹	۶/۳۵۲	۰/۰۲۰	۰/۲۳۲	۰/۶۷۱
خطا	۸۸۶/۲۶۸	۱۸	۴۹/۲۳۷				

جدول ۴. مقایسه‌ی اثر روش درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی- رفلکسولوژی، بر علایم خشکی بیماران بر اساس پرسش‌نامه‌ی KOOS

(Knee injury and osteoarthritis outcome score)

منبع	مجموع مجذورات	درجه‌ی آزادی	مجدور میانگین	F	مقدار P	مقدار اتا	توان آماری
پیش‌آزمون	۴۵۳۳/۸۴۵	۱	۴۵۳۳/۸۴۵	۴۸/۵۶۱	۰/۰۰۱	۰/۶۹۸	۱/۰۰۰
گروه	۵۹۳/۰۵۱	۱	۵۹۳/۰۵۱	۶/۳۵۲	۰/۰۲۰	۰/۲۳۲	۰/۶۷۱
خطا	۱۴۶۵/۰۵۵	۱۸	۸۱/۳۹۲				

جدول ۵. مقایسه‌ی اثر روش درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی- رفلکسولوژی، بر فعالیت‌های روزانه‌ی بیماران بر اساس پرسش‌نامه‌ی KOOS

(Knee injury and osteoarthritis outcome score)

منبع	مجموع مجذورات	درجه‌ی آزادی	مجدور میانگین	F	مقدار P	مقدار اتا	توان آماری
پیش‌آزمون	۳۱۳۰/۰۶۹	۱	۳۱۳۰/۰۶۹	۱۳۳/۴۱۲	۰/۰۰۱	۰/۸۶۴	۱/۰۰۰
گروه	۹۸۸/۲۵۸	۱	۹۸۸/۲۵۸	۴۲/۱۲۲	۰/۰۰۱	۰/۶۶۷	۱/۰۰۰
خطا	۳۳۰/۷۲۴	۱۸	۱۸/۳۷۴				

استئوآرتروز زانو در سطح $P < 0/010$ تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P = 0/001$)؛ یعنی تفاوت بین فعالیت‌های روزانه‌ی بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو در گروه درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی- رفلکسولوژی معنی‌دار بود. به عبارت دیگر، فیزیوتراپی- رفلکسولوژی نسبت به فیزیوتراپی، فعالیت‌های روزانه‌ی بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو را بیشتر کاهش داده است.

بر اساس جدول ۶، بین دو گروه درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی- رفلکسولوژی، در میزان ورزش و تفریح بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو در سطح $P < 0/010$ تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P = 0/020$)؛ یعنی تفاوت بین ورزش و تفریح

بر اساس جدول ۴، بین دو گروه درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی- رفلکسولوژی، در میزان علایم خشکی بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو در سطح $P < 0/010$ تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P = 0/020$)؛ یعنی تفاوت بین علایم خشکی بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو در گروه درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی- رفلکسولوژی معنی‌دار بود. به عبارت دیگر، فیزیوتراپی- رفلکسولوژی نسبت به فیزیوتراپی، علایم خشکی بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو را بیشتر کاهش داده است.

همان‌طور که نتایج جدول ۵ نشان می‌دهد، بین دو گروه درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی- رفلکسولوژی، در میزان فعالیت‌های روزانه‌ی بیماران مبتلا به

گروهی که درمان فیزیوتراپی به تنهایی انجام شد، نتایج از بهبود علائم به صورت معنی‌داری خبر داد که با نتایج تحقیق Gaines و همکاران (۱۳) و مرتضوی و همکاران (۱۴) همخوانی داشت. در مطالعه‌ی Cheing و همکاران که به منظور مقایسه‌ی اثربخشی TENS و ورزش و درمان ترکیبی این دو، روی بیماران مبتلا به استئوآرتريت زانو انجام شد، مشخص گردید که TENS و ورزش به تنهایی باعث بهبود درد، دامنه‌ی حرکتی و عملکرد فیزیکی بیماران می‌شوند؛ اما درمان ترکیبی این دو، بیشترین بهبودی را در عملکرد بیماران به دنبال داشت (۳۵). این یافته‌ها با نتایج مطالعه‌ی Cheing و همکاران (۳۵) در مورد گروه فیزیوتراپی همخوانی داشت. احتمال می‌رود دلیل اثربخشی درمان فیزیوتراپی، خاصیت ضد درد TENS، ضد التهاب اولتراسوند و افزایش قدرت عضله و دامنه‌ی حرکتی مفاصل در تمرینات ایزومتریک بوده باشد.

بیماران مبتلا به استئوآرتريت زانو در گروه درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی - رفلکسولوژی معنی‌دار بود. به بیان دیگر، فیزیوتراپی - رفلکسولوژی نسبت به فیزیوتراپی، ورزش و تفریح بیماران مبتلا به استئوآرتريت زانو را بیشتر افزایش داده است.

بنا بر اطلاعات جدول ۷، بین دو گروه درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی - رفلکسولوژی در میزان کیفیت زندگی بیماران مبتلا به استئوآرتريت زانو در سطح $P < 0/05$ تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($P = 0/111$). به عبارت دیگر، تفاوت بین کیفیت زندگی بیماران مبتلا به استئوآرتريت زانو در دو گروه درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی - رفلکسولوژی معنی‌دار نبود.

بحث

هدف از این پژوهش، مقایسه‌ی تأثیر دو روش درمانی فیزیوتراپی - رفلکسولوژی پا و فیزیوتراپی بر علائم بیماران مبتلا به استئوآرتريت زانو بود. در

جدول ۶. مقایسه‌ی اثر روش درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی - رفلکسولوژی، بر ورزش و تفریح بیماران بر اساس پرسش‌نامه‌ی KOOS

(Knee injury and osteoarthritis outcome score)

منبع	مجموع مجدورات	درجه‌ی آزادی	مجدور میانگین	F	مقدار P	مقدار آتا	توان آماری
پیش‌آزمون	۴۳۹۷/۵۶۰	۱	۴۳۹۷/۵۶۰	۱۷۸/۶۱۶	۰/۰۰۱	۰/۸۹۵	۱/۰۰۰
گروه	۷۹۷/۵۷۳	۱	۷۹۷/۵۷۳	۳۲/۳۹۵	۰/۰۲۰	۰/۶۰۷	۱/۰۰۰
خطا	۴۶۹/۹۰۷	۱۸	۲۶/۱۰۶				

جدول ۷. مقایسه‌ی اثر روش درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی - رفلکسولوژی، بر کیفیت زندگی بیماران بر اساس پرسش‌نامه‌ی KOOS

(Knee injury and osteoarthritis outcome score)

منبع	مجموع مجدورات	درجه‌ی آزادی	مجدور میانگین	F	مقدار P	مقدار آتا	توان آماری
پیش‌آزمون	۸۱۶/۵۴۶	۱	۸۱۶/۵۴۶	۲۳/۳۰۹	۰/۰۰۱	۰/۵۲۶	۰/۹۹۶
گروه	۹۷/۰۷۹	۱	۹۷/۰۷۹	۲/۷۷۱	۰/۱۱۱	۰/۱۱۷	۰/۳۵۵
خطا	۳۰۶/۲۰۴	۱۸	۱۷/۰۱۱				

رفلکسولوژی، به مقدار متوسط کاهش می‌یابد (۲۱). Poole و همکاران نیز در تحقیقی به بررسی تأثیر رفلکسولوژی پا بر کنترل کمردرد پرداختند. نتایج نشان داد که رفلکسولوژی می‌تواند سبب کاهش ناتوانی در بیماران مبتلا به کمردرد مزمن شود (۱۸). نتایج این مطالعات با مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد.

Wang و همکاران طی یک مطالعه‌ی مروری، به این نتیجه رسیدند که ماساژ بازتابی پا بر درمان مولتیپل اسکلروزیس، بهبود اختلالات حسی، علائم دردناک قاعدگی، بهبود آسم، درد شکمی و دردهای استخوانی و مفصلی تأثیر دارد (۳۶).

ابتدایی‌ترین تصاویر رفلکسولوژی در آرامگاه Ankmahor طبیب در مصر کشف شده است که به حدود ۲۵۰۰-۲۳۳۰ سال قبل از میلاد بر می‌گردد. همچنین، کتاب‌های قدیمی و تصاویر نشان می‌دهند که مصری‌ها، چینی‌ها، ژاپنی‌ها و هندی‌ها برای مقابله با بیماری، بر روی پاهایشان کار می‌کردند. در سال ۱۹۳۰، Eunice Ingham پرستار و متخصص فیزیوتراپی نقاط رفلکسی روی پا را طراحی کرد. رفلکسولوژی به شکلی که امروزه انجام می‌شود، توسط دکتر Fitzgerald آغاز شد. تئوری وی بر این اساس بود که انرژی از طریق مناطق عمودی در سراسر بدن از سمت پا به سمت سر جریان می‌یابد. او طی این روش با دست بخش‌های معینی از بدن را با فشار بهبود می‌داد و بدن را به ۱۰ ناحیه یا کانال تقسیم کرد. این نواحی از انگشت پا تا سر و از پشت تا دست‌ها ادامه می‌یافت (۳۶). کاربران معتقدند یک انرژی حیاتی، در امتداد کانال‌هایی از پاها به تمام ارگان‌های بدن جریان می‌یابد و هر گونه سدی در این جریان، در نهایت منجر به بیماری خواهد شد.

در گروهی که روش درمانی فیزیوتراپی - رفلکسولوژی پا انجام شد، نتایج نشان داد که رفلکسولوژی به همراه درمان معمول فیزیوتراپی می‌تواند باعث بهبود بیشتر علائم (درد، علائم خشکی، فعالیت‌های روزانه، ورزش و تفریح) در مقایسه با درمان فیزیوتراپی به تنهایی در بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو شود. اما بین اثر دو روش درمانی فیزیوتراپی و فیزیوتراپی - رفلکسولوژی بر کیفیت زندگی مبتلایان به استئوآرتریت زانو، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. با وجود تحقیقات فراوان در استفاده از رفلکسولوژی به عنوان طب مکمل در بیماری‌های مختلف، تعداد مقالات منتشره در مورد ترکیب رفلکسولوژی با درمان معمول فیزیوتراپی بسیار کم می‌باشد و همین موضوع، مقایسه‌ی یافته‌های تحقیق حاضر با سایر تحقیقات را مشکل می‌نماید.

در مطالعه‌ی Kim و همکاران درباره‌ی تأثیر رفلکسولوژی پا بر درد مفاصل، خشکی مفصل، افسردگی و خواب بر روی ۴۷ زن میانسال مبتلا به استئوآرتریت زانو، رفلکسولوژی پا به صورت معنی‌داری بر کاهش درد مفاصل، خشکی مفاصل، افسردگی و نیز بهبود کیفیت خواب شرکت‌کنندگان تأثیر داشت (۱۹)؛ این یافته با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. همچنین، مطالعه‌ی Perlman و همکاران درباره‌ی تأثیر ماساژ سوئدی بر بهبود علائم در بیماری استئوآرتریت زانو، نشان داد که ماساژ در بهبود بیماران مؤثر بوده است (۲۶).

در مطالعه‌ی Quinn و همکاران در زمینه‌ی تأثیر رفلکسولوژی در درمان کمر درد، مشاهده شد که رفلکسولوژی اثر مثبتی بر درمان کمردرد دارد. آن‌ها دریافتند که نمره‌ی شدت درد در گروه درمان با

پرسش‌نامه در مورد کیفیت زندگی باشد. محدودیت‌های این پژوهش، شامل پایین بودن تعداد نمونه‌ها به دلیل عدم همکاری بسیاری از مراجعه‌کنندگان به کلینیک‌های فیزیوتراپی جهت شرکت در طرح پژوهشی و همچنین عدم در نظر گرفتن دوره‌ی پی‌گیری با هدف بررسی اثرات طولانی مدت و ماندگار پروتکل‌های درمانی به کار رفته به دلیل مدت زمان محدود انجام پژوهش بود.

نتیجه‌گیری نهایی این که رفلکسولوژی پا به همراه درمان معمول فیزیوتراپی، می‌تواند سبب بهبود علائم (درد، علائم خشکی، فعالیت‌های روزانه و نیز ورزش و تفریح) در بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو گردد. از حیث بالینی، پیشنهاد می‌شود روش ترکیبی فیزیوتراپی-رفلکسولوژی پا به عنوان یک روش ایمن و مؤثر برای بیماران استئوآرتریت زانو در برنامه‌ی توان‌بخشی معمول این گروه از بیماران گنجانده شود. از حیث پژوهشی، پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری درباره‌ی تأثیر رفلکسولوژی به همراه درمان معمول فیزیوتراپی بر سایر اختلالات عضلانی-اسکلتی انجام گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان از کارکنان مرکز فیزیوتراپی توحید و کلیه‌ی بیماران که با وجود مشکلات متعدد برای رفت و آمد، در این مطالعه همکاری نمودند کمال تشکر را دارند.

تحریک نقاط رفلکسی در پا می‌تواند این سدها را در مسیر جریان در امتداد کانال بشکند و هدف ماساژ از بین بردن این گرفتگی‌ها و آزاد کردن جریان انرژی در این کانال‌ها است که در نتیجه باعث بهبودی بیمار می‌گردد (۳۷).

نظریه‌ی دیگری که در این روش وجود دارد، این است که به دلیل این که تنش‌ها و فشارهای روانی مسؤل ۷۵ درصد مشکلات سلامتی انسان‌ها هستند و با توجه به این که در هر دو پا، بیش از ۷۰۰ عصب وجود دارد، از این رو، ماساژ پاها و تحریک سلول‌های عصبی، باعث آرامش و کاهش تنش می‌شود (۳۴).

عمل رفلکسولوژی، همچنین ممکن است آزاد شدن اندورفین و انکفالین-تسکین دهنده‌های طبیعی درد و افزایش دهنده‌های خلق-را تحریک کند (۳۸). انگشتان دست و پا نسبت به لمس و فشار حساس می‌باشند؛ چرا که دارای تعداد بسیار زیادی گیرنده‌های عصبی هستند که ایمپالس‌های لمس را به مغز منتقل می‌نمایند. سپس پیام در بازگشت از طریق گانگلیا، طناب عصبی و نرون‌های حرکتی، به گروه‌های ماهیچه‌ای منتقل می‌شود و رفلکسولوژی بر این اساس بر بدن و ماهیچه‌ها تأثیر می‌گذارد و باعث شلی و راحتی آن‌ها می‌گردد (۳۹).

در این تحقیق، کیفیت زندگی در هر دو گروه پس از درمان به یک میزان بهبود داشته و تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است که احتمال می‌رود به دلیل کم بودن حجم نمونه و محتوای سؤالات

References

1. van Gool CH, Penninx BW, Kempen GI, Rejeski WJ, Miller GD, van Eijk JT, et al. Effects of exercise adherence on physical function among overweight older adults with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 53(1): 24-32.
2. Erfani M, Mehrabian H, Shojaedin SS, Sadeghi H. Effects of pilates exercise on knee

- osteoarthritis in elderly male athletes. *J Res Rehabil Sci* 2011; 7(4): 571-9. [In Persian].
3. Wollheim F. Osteoarthritis. *Current Opinion in Rheumatology* 2002; 14(5): 571-2.
 4. Fransen M, Bridgett L, March L, Hoy D, Penserga E, Brooks P. The epidemiology of osteoarthritis in Asia. *Int J Rheum Dis* 2011; 14(2): 113-21.
 5. Fransen M, Crosbie J, Edmonds J. Physical therapy is effective for patients with osteoarthritis of the knee: a randomized controlled clinical trial. *J Rheumatol* 2001; 28(1): 156-64.
 6. Felson DT, Nevitt MC. Epidemiologic studies for osteoarthritis: new versus conventional study design approaches. *Rheum Dis Clin North Am* 2004; 30(4): 783-97.
 7. Itoh K, Hirota S, Katsumi Y, Ochi H, Kitakoji H. Trigger point acupuncture for treatment of knee osteoarthritis--a preliminary RCT for a pragmatic trial. *Acupunct Med* 2008; 26(1): 17-26.
 8. Cheing GL, Hui-Chan CW. The motor dysfunction of patients with knee osteoarthritis in a Chinese population. *Arthritis Rheum* 2001; 45(1): 62-8.
 9. Hertling D. Management of common musculoskeletal disorders: Physical therapy principles and methods. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2005.
 10. Jamtvedt G, Dahm KT, Holm I, Odegaard-Jensen J, Flottorp S. Choice of treatment modalities was not influenced by pain, severity or co-morbidity in patients with knee osteoarthritis. *Physiother Res Int* 2010; 15(1): 16-23.
 11. Newman B, Wallis GA. Is osteoarthritis a genetic disease? *Clin Invest Med* 2002; 25(4): 139-49.
 12. Topp R, Woolley S, Hornyak J, III, Khuder S, Kahaleh B. The effect of dynamic versus isometric resistance training on pain and functioning among adults with osteoarthritis of the knee. *Arch Phys Med Rehabil* 2002; 83(9): 1187-95.
 13. Gaines JM, Metter EJ, Talbot LA. The effect of neuromuscular electrical stimulation on arthritis knee pain in older adults with osteoarthritis of the knee. *Appl Nurs Res* 2004; 17(3): 201-6.
 14. Mortazavi MJ, Sadeghipour Roudsari Gh, Basirmia A. Effect of infrared laser therapy in patients with osteoarthritis of the knee. *Laser in Medicine* 2006; 4(1): 23-6. [In Persian].
 15. Mirzaee F, Kaviani M, Jafari P. Effect of reflexology on anxiety level in nuliparous women. *Hayat* 2010; 16(1): 65-71. [In Persian].
 16. Tiran D, Chummun H. The physiological basis of reflexology and its use as a potential diagnostic tool. *Complement Ther Clin Pract* 2005; 11(1): 58-64.
 17. Ernst E. Is reflexology an effective intervention? A systematic review of randomised controlled trials. *Med J Aust* 2009; 191(5): 263-6.
 18. Poole H, Glenn S, Murphy P. A randomised controlled study of reflexology for the management of chronic low back pain. *Eur J Pain* 2007; 11(8): 878-87.
 19. Kim CS, Yoo KS, Hong SH. The effects of foot reflexology on arthralgia, ankylosis, depression, and sleep in community-dwelling elderly women with osteoarthritis. *J Korean Acad Community Health Nurs* 2014; 25(3): 207-16.
 20. Oh HS, Ahn SA. The effects of foot reflexology on pain and depression of middle-aged women with osteoarthritis. *Korean J Rehabil Nurs* 2006; 9(1): 25-33. [In Korean].
 21. Quinn F, Hughes CM, Baxter GD. Reflexology in the management of low back pain: a pilot randomised controlled trial. *Complement Ther Med* 2008; 16(1): 3-8.
 22. Deyle GD, Allison SC, Matekel RL, Ryder MG, Stang JM, Gohdes DD, et al. Physical therapy treatment effectiveness for osteoarthritis of the knee: a randomized comparison of supervised clinical exercise and manual therapy procedures versus a home exercise program. *Phys Ther* 2005; 85(12): 1301-17.
 23. Bjordal JM, Johnson MI, Lopes-Martins RA, Bogen B, Chow R, Ljunggren AE. Short-term efficacy of physical interventions in osteoarthritic knee pain. A systematic review and meta-analysis of randomised placebo-controlled trials. *BMC Musculoskelet Disord* 2007; 8: 51.
 24. Nazemzadeh M, Rezvani M, Jalalodini A, Navidian A, Yosefian N, Ghalje M, et al. The effect of reflexology massage on physiological parameters in patients with chronic low back pain. *Pejouhandeh* 2013; 17(6): 286-90. [In Persian].
 25. Rezvani Amin M, Jalalodini A, Yosefian N, Nazemzadeh M, Pournamdar Z. The effect of reflexology massage on disability in patients with chronic low back pain returnee to physical therapy unit in Baghiathallah Hospital. *Iran J Nurs Res* 2013; 8(29): 73-9. [In Persian].
 26. Perlman AI, Sabina A, Williams AL, Njike VY, Katz DL. Massage therapy for osteoarthritis of the knee: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2006; 166(22): 2533-8.
 27. Ottawa panel evidence-based clinical practice guidelines for therapeutic exercises and manual therapy in the management of osteoarthritis. *Phys Ther* 2005; 85(9): 907-71.

28. Abbott JH, Robertson MC, McKenzie JE, Baxter GD, Theis JC, Campbell AJ. Exercise therapy, manual therapy, or both, for osteoarthritis of the hip or knee: a factorial randomised controlled trial protocol. *Trials* 2009; 10: 11.
29. Jamtvedt G, Dahm KT, Christie A, Moe RH, Haavardsholm E, Holm I, et al. Physical therapy interventions for patients with osteoarthritis of the knee: an overview of systematic reviews. *Phys Ther* 2008; 88(1): 123-36.
30. Bronfort G, Haas M, Evans R, Leininger B, Triano J. Effectiveness of manual therapies: the UK evidence report. *Chiropr Osteopat* 2010; 18: 3.
31. Vilalta C, Nunez M, Segur JM, Domingo A, Carbonell JA, Macule F. Knee osteoarthritis: interpretation variability of radiological signs. *Clin Rheumatol* 2004; 23(6): 501-4.
32. Cameron MH. Physical agents in rehabilitation: From research to practice. 2nd ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2003. p. 149-51, 282-9, 307-405.
33. Kisner C, Colby LA. Therapeutic exercise: Foundations and techniques. 5th ed. Philadelphia, PA: F.A. Davis Company; 2007. p. 691-2.
34. Salavati M, Mazaheri M, Negahban H, Sohani SM, Ebrahimian MR, Ebrahimi I, et al. Validation of a Persian-version of Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) in Iranians with knee injuries. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16(10): 1178-82.
35. Cheing GL, Hui-Chan CW. Would the addition of TENS to exercise training produce better physical performance outcomes in people with knee osteoarthritis than either intervention alone? *Clin Rehabil* 2004; 18(5): 487-97.
36. Wang MY, Tsai PS, Lee PH, Chang WY, Yang CM. The efficacy of reflexology: systematic review. *J Adv Nurs* 2008; 62(5): 512-20.
37. Byers DC. Better health with foot reflexology. 11th ed. Petersburg, FL: Ingham Publishing INC; 2001. p. 130-46.
38. Westland G. Massage as a Therapeutic Tool, Part 1. *The British Journal of Occupational Therapy* 1993; 56(4): 129-34.
39. Mackereth PA, Tiran D. Clinical reflexology: A guide for health professionals. Edinburgh, Scotland: Churchill Livingstone; 2002.

Comparison of Two Methods of Physiotherapy-Reflexology of foot and Physiotherapy on Symptoms of Senile Patients with Knee Osteoarthritis

Ahmad Reza Kazemi¹, Behnam Ghasemi PhD², Mohammad Reza Moradi PhD²

Original Article

Abstract

Background: Osteoarthritis is the most frequent illness of synovial joints and is one of the main reasons of disability in old age. The symptoms of knee osteoarthritis are as pain, morning stiffness and limited joint movements. Among different treatments, none of them is superior to the others. The goal of this study was comparing the effect of 2 physiotherapeutic treatments, feet reflexology and physiotherapy, on knee osteoarthritis in senile patients.

Methods: In a semi-experimental study, 24 patients with knee osteoarthritis who came to Tohid Physiotherapy Center in Isfahan, Iran, were completely informed of the steps of the investigation, and randomly divided in to two physiotherapeutic groups of reflexology-physiotherapy and physiotherapy. In physiotherapy group, typical treatments like ultrasound, infrared and transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) were used; and in reflexology group, besides the physiotherapeutic treatments, foot reflexology was applied for 30 minutes. In both groups, a program of 24 sessions (6 weeks and 4 sessions every week) was planned. In pre- and post-test, the standard form of knee injury and osteoarthritis outcome score (KOOS) was used to check the symptoms of patients of both groups. The data was analyzed using the covariance of variances test via SPSS software.

Findings: The symptoms of the patients (pain, stiffness, daily activities, working out and leisure activities) had more improvement in physiotherapy-reflexology group compared to physiotherapy group ($P < 0.050$). There was no significant difference between the two types of applied treatment in improving the quality of life in the patients ($P = 0.111$).

Conclusion: This study shows that combination of physiotherapeutic and reflexology treatments is more effective than physiotherapeutic treatments alone, in senile patients with knee osteoarthritis. Thus, it is suggested that this program can be used to reduce the symptoms in these patients.

Keywords: Osteoarthritis, Reflexology, Physiotherapy

Citation: Kazemi AR, Ghasemi B, Moradi MR. Comparison of Two Methods of Physiotherapy-Reflexology of foot and Physiotherapy on Symptoms of Senile Patients with Knee Osteoarthritis. J Isfahan Med Sch 2015; 33(350): 1517-29

1- MSc Student, Department of Physical Education and Sports Sciences, School of Letters and Humanities, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

2- Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, School of Letters and Humanities, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Corresponding Author: Ahmad Reza Kazemi, Email: a.kazemi597@gmail.com

بررسی ارتباط پلی مورفیسم FokI ژن گیرنده ویتامین D (VDR) با چاقی

دکتر مریم استاد شریف^۱، فرزاد رشیدی خوراسگانی^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: چاقی، بزرگ‌ترین چالش بهداشت عمومی در قرن حاضر است. مطالعات ژنتیک نشان می‌دهد که برخی پروتئین‌های مرتبط با عملکرد ویتامین D، مانند گیرنده ویتامین D (Vitamin D receptor یا VDR) در پاتوژنز چاقی مؤثر است. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی ارتباط پلی مورفیسم FokI در ژن VDR با نمایه توده‌ی بدنی (BMI یا Body mass index) به عنوان شاخص چاقی و سایر عوامل مؤثر در چاقی بود.

روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۹۱ فرد مبتلا به چاقی ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$) و ۱۰۰ فرد سالم ($BMI: 18.5-24.9 \text{ kg/m}^2$) شرکت نمودند. میزان قند خون ناشتا، کلسترول تام و تری‌گلیسرید اندازه‌گیری و نمایه توده‌ی بدنی مشخص شد. از نمونه‌های خون کامل افراد شرکت‌کننده، استخراج DNA صورت گرفت. ژن VDR با روش PCR (Polymerase chain reaction) تکثیر و سپس، پلی مورفیسم FokI با روش RFLP (Restriction fragment lengths polymorphism) بررسی گردید. از نسبت شانس، برای بررسی ارتباط بین عوامل مورد نظر و بیماری استفاده شد و برای این محاسبات، بازه‌ی اطمینان ۹۵ درصد در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: فراوانی آلل F در گروه شاهد ۹۵/۰۰ و در گروه چاق ۸۸/۴۶ درصد بود. فراوانی آلل f نیز در گروه شاهد ۵/۰۰ و در گروه چاق ۱۱/۵۳ درصد بود. بین آلل‌های F و f در دو گروه شاهد و چاق، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P = 0.005$). در گروه چاق، بین میزان قند خون ناشتا، کلسترول تام و تری‌گلیسرید با ژنوتیپ‌ها ارتباط معنی‌داری وجود نداشت. در گروه شاهد، بین قند خون ناشتا و ژنوتیپ ارتباط معنی‌داری دیده شد ($P = 0.010$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که در جمعیت مورد مطالعه ما، آلل F به طور معنی‌داری نقش محافظتی در بروز چاقی دارد. به همین دلیل، افراد واجد ژنوتیپ FF در گروه شاهد، نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها میزان قند خون ناشتای پایین‌تری داشتند.

واژگان کلیدی: چاقی، گیرنده ویتامین D، پلی مورفیسم

ارجاع: استاد شریف مریم، رشیدی خوراسگانی فرزاد. بررسی ارتباط پلی مورفیسم FokI ژن گیرنده ویتامین D (VDR) با چاقی.

مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۰): ۱۵۳۰-۱۵۳۷

مقدمه

امروزه در جوامع صنعتی و پیشرفته، چاقی یکی از مشکلات مهم به شمار می‌رود و تداوم آن در بروز مشکلاتی همچون دیابت و بیماری‌های قلبی-عروقی مؤثر می‌باشد (۱). مطالعاتی که بر روی دو قلوهای همسان و خانواده‌ها صورت پذیرفته است، نشان

می‌دهد که چاقی یک فنوتیپ چند عاملی محسوب می‌گردد (۲). چاقی به عنوان یک صفت هتروژن، از افزایش بافت چربی به وجود می‌آید. رایج‌ترین شاخص جهت اندازه‌گیری وزن، شاخص توده‌ی بدنی (BMI یا Body mass index) می‌باشد. BMI از تقسیم وزن بر حسب کیلوگرم بر مجذور قد بر حسب مترمربع به

۱- استادیار، گروه علوم پایه پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۲- کارشناس ارشد، باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۸ و TaqI RFLP در آگزون ۹ می‌باشد (۸). پلی مورفیسم FokI یک جابه‌جایی T به C (ATG) به (ACG) در اولین محل از دو محل احتمالی ترجمه می‌باشد که سبب ایجاد فرم جدیدی از VDR می‌شود (۹). با توجه به تأثیر پروتئین VDR بر بیان سایر ژن‌ها و نقش [1,25(OH)₂D₃] در آدیپوژنز، در مطالعه‌ی حاضر به بررسی نوع FokI و ارتباط آن با چاقی و عوامل سرمی پرداخته شد.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی، ۹۱ فرد چاق ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$) مراجعه کننده به کلینیک خصوصی تغذیه واقع در درمانگاه خیریه‌ی ابوالعباس خوراسگان (اصفهان) به عنوان گروه مورد و ۱۰۰ فرد سالم ($BMI: 18.5-24.9 \text{ kg/m}^2$) به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. از تمامی شرکت کنندگان پس از توضیحات لازم در خصوص مطالعه، رضایت‌نامه‌ی کتبی اخذ گردید. نمونه‌های مورد مطالعه از نظر سن و جنس همسان‌سازی شدند و همه‌ی نمونه‌ها از نظر نژادی بررسی و ایرانی بودن آنها تأیید گردید. با اندازه‌گیری قد و وزن، BMI افراد محاسبه گردید. از افراد مورد مطالعه، دو نمونه خون محیطی سرم و حاوی ضد انعقاد EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) گرفته شد و میزان کلسترول تام، تری‌گلیسرید و قند ناشتا با استفاده از کیت‌های بیوشیمیایی اندازه‌گیری گردید. استخراج DNA ژنومی از خون محیطی افراد با روش استاندارد فنل-کلروفرم انجام شد و پس از بررسی کمی DNA استخراجی با اسپکتروفتومتر، در 20°C - نگهداری گردید.

دست می‌آید. مطابق با توصیه‌های سازمان بهداشت جهانی، افراد بالغ با $BMI < 18.5 \text{ kg/m}^2$ کم وزن، $BMI: 18.5-24.9 \text{ kg/m}^2$ دارای وزن طبیعی و $BMI: 25.0-29.9 \text{ kg/m}^2$ دارای اضافه وزن و $BMI > 30 \text{ kg/m}^2$ چاق هستند (۳).

از این رو، شناخت عوامل ژنتیکی مؤثر در بروز چاقی، یکی از تلاش‌های پژوهشگران می‌باشد. از طرفی، وجود اختلال در سیستم درون‌ریز ویتامین D در افراد چاق به اثبات رسیده است (۴). از جمله این اختلالات، می‌توان به افزایش میزان سرمی هورمون پاراتیروئید (PTH یا Parathyroid hormone) و کاهش سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D₃ (25-OHD) اشاره کرد (۵). کمبود ویتامین D به عنوان یک عامل خطر غیر وابسته در چاقی شکمی زنان، تأثیرگذار است (۶). از طرف دیگر، در مطالعه‌ی صبوری و همکاران بر روی زنان چاق، مشاهده شد که هیچ ارتباط معنی‌داری بین سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D با شاخص‌های تن‌سنجی (به استثنای وزن بدن)، گلوکز، اجزای لیپیدی، انسولین سرمی و شاخص مقاومت انسولینی وجود ندارد (۷).

ویتامین D یک هورمون استروئیدی است که فرم فعال آن یعنی ۱ و ۲۵-دی‌هیدروکسی ویتامین D₃ [1,25(OH)₂D₃] با اتصال به گیرنده‌ی ویتامین D (VDR یا Vitamin D receptor)، کارایی بیولوژیکی آن اعمال می‌گردد. ژن گیرنده‌ی ویتامین D (MIM 601769) روی بازوی بلند کروموزوم ۱۲ (q13.11۱۲) قرار گرفته و دارای ۹ آگزون با پلی مورفیسم‌های متعدد است که مشتمل بر FokI RFLP در آگزون ۲، BsmI و ApaI در اینترون

Hardy-Weinberg در جمعیت مورد مطالعه استفاده شد. توزیع آلیلی با استفاده از تعادل Hardy-Weinberg در افراد مورد و شاهد به طور مجزا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تحلیل‌ها نشان داد که در هر دو گروه، فراوانی آلل‌ها با تعادل Hardy-Weinberg مطابقت داشت.

اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون t آنالیز شد. $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد. از Odd ratio (OR) برای بررسی ارتباط بین عوامل مورد نظر و بیماری استفاده شد. برای این محاسبات، بازه‌ی اطمینان ۹۵ درصد (CI: %۹۵) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۰۰ نمونه از گروه شاهد و ۹۱ نمونه از گروه مورد، تحت بررسی قرار گرفتند. در گروه مورد (چاق) فراوانی ژنوتیپ FF ۷۹/۱۲ درصد، فراوانی ژنوتیپ ff ۱۸/۶۸ درصد، فراوانی ژنوتیپ f ۲/۱۹ درصد؛ فراوانی آلل F ۸۸/۴۶ درصد و آلل f ۱۱/۵۳ درصد بود. در گروه شاهد (دارای وزن طبیعی)، فراوانی ژنوتیپ FF ۹۱ درصد، فراوانی ژنوتیپ Ff ۸ درصد و فراوانی ژنوتیپ ff ۱ درصد بود. همچنین، فراوانی آلل F ۹۵ درصد و آلل f ۵ درصد گزارش گردید (جدول ۱). البته تنها ارتباط معنی‌دار در فراوانی آلیلی، مربوط به آلل F در گروه شاهد و گروه مورد بود که $OR = 0/320$ گزارش گردید ($P = 0/005$). به دلیل فراوانی کم ژنوتیپ ff در نمونه‌های شاهد و مورد، در هر دو گروه این ژنوتیپ به صورت تلفیق با Ff مقایسه گردید.

PCR-RFLP واکنش Polymerase chain reaction (PCR) برای جایگاه FokI (rs2228570/rs10735810) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام پذیرفت. توالی پرایمر برای جایگاه FokI عبارت از 5'- GCACTGACTCTGGCTCTGAC-3' و R: 5'-ACCCTCCTGCTCCTGTGGCT-3' بودند. پس از انجام PCR محصولی به طول ۳۴۱ جفت باز حاصل شد. دمای Annealing در $71/5^{\circ}C$ بود. تکثیر DNA ۱۰۰ ng ژنومی در حجم نهایی ۲۵ μl و با ۲/۵ μl بافر حاوی ۱/۵ mM $MgCl_2$ و ۰/۵ μl از مخلوط حاوی ۰/۲ mM از هر dNTP (Deoxynucleoside triphosphates) (Kapa Biosystems, USA)، ۵ pmol از هر پرایمر (Kapa Biosystems, Hong Kong) و ۲/۵ واحد آنزیم Tag پلیمراز (Kapa Biosystems, USA) استفاده شد. محصولات PCR توسط آنزیم محدودالثر FokI (Thermo scientific, Netherlands) در دمای $37^{\circ}C$ به مدت ۴ ساعت تحت هضم آنزیمی قرار گرفتند و سپس بر روی ژل آگارز جدا شدند. در ژنوتیپ هموزیگوت FF، یک بانده ۳۴۱ جفت بازی (فقدان جایگاه برش در هر دو آلل)، در ژنوتیپ هموزیگوت ff، دو بانده ۲۸۲ و ۵۹ جفت بازی (وجود جایگاه برش در هر دو آلل) و در ژنوتیپ Ff، سه بانده ۳۴۱، ۲۸۲ و ۵۹ جفت بازی (هتروزیگوت) وجود داشت.

اطلاعات ژنتیک و کلینیک افراد بیمار و نمونه‌های شاهد، توسط سیستم اینترنتی (SISA: <http://www.quantitativeskills.com/sisa>) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون‌های χ^2 و Pearson برای بررسی وجود و یا عدم وجود تعادل

BMI بالاتری داشتند؛ البته اختلافات عددی در گروه چاق معنی‌دار نبود.

در گروه شاهد، بین قند خون ناشتا با ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت؛ بدین صورت که قند خون ناشتا در افراد با ژنوتیپ Ff نسبت به افراد دارای ژنوتیپ FF بیشتر بود ($P = 0/010$). میزان کلسترول تام، تری‌گلیسرید و BMI در افراد دارای ژنوتیپ FF بیشتر از افراد دارای ژنوتیپ Ff بود، اما این اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۳).

در جدول‌های ۲ و ۳، متوسط متغیرهای بالینی و تن‌سنجی شامل کلسترول تام، قند ناشتا، تری‌گلیسرید و نمایه‌ی توده‌ی بدن (BMI) در دو گروه مورد و شاهد آمده است. در گروه مورد، بین قند خون ناشتا، تری‌گلیسرید، کلسترول تام و BMI با ژنوتیپ‌ها، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌گردد، در گروه مورد، افراد واجد ژنوتیپ‌های Ff و ff دارای سطح تری‌گلیسرید و کلسترول بالاتری نسبت به افراد FF بودند. در حالی که افراد گروه مورد با ژنوتیپ FF، میزان قند خون ناشتا و

جدول ۱. ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و فراوانی آللی پلی مورفیسم FokI بین دو گروه مورد و شاهد

مقدار P	نسبت شانس (فاصله‌ی اطمینان ۹۵٪)	گروه شاهد	گروه مورد	ژنوتیپ‌ها
		تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
-	۱ (مرجع)	۱ (۱/۰۰)	۲ (۲/۱۹)	ff
۰/۹۹۰	۰/۴۹ (۰/۷۳-۰/۴۵)	۸ (۸/۰۰)	۱۷ (۱۸/۶۸)	Ff
۰/۴۳۰	۰/۳۹ (۰/۰۲-۰/۸۹)	۹۱ (۹۱/۰۰)	۷۲ (۷۹/۱۲)	FF
-	۱ (مرجع)	۱۰ (۵/۰۰)	۲۱ (۱۱/۵۳)	فراوانی آللی فراوانی آلل f
۰/۰۰۵	۰/۳۲ (۰/۲۵-۰/۳۳)	۱۹۰ (۹۵/۰۰)	۱۶۱ (۸۸/۴۶)	فراوانی آلل F

جدول ۲. مقایسه‌ی عوامل سرمی و BMI (Body mass index) در گروه مورد (۹۱ نفر) به تفکیک ژنوتیپ‌ها

مقدار P	فاصله‌ی اطمینان ۹۵٪	ژنوتیپ‌ها		متغیرها
		Ff,ff	FF	
۰/۴۱۰	۱۷/۳۰-۲۴/۵۶	۱۱۶/۷۷ ± ۳۷/۸۵	۱۲۰/۴۰ ± ۳۶/۰۶	قند خون ناشتا (mg/dl)
۰/۵۱۰	۱۰/۴۴-۳۲/۵۰	۲۰۲/۲۵ ± ۳۴/۴۵	۱۹۱/۲۱ ± ۴۵/۷۳	کلسترول تام (mg/dl)
۰/۲۲۰	۸/۱۱-۲۶/۴۶	۱۹۸/۳۷ ± ۹۰/۸۳	۱۷۱/۵۵ ± ۸۵/۵۸	تری‌گلیسرید (mg/dl)
۰/۱۶۰	۰/۲۲-۳/۹۲	۳۴/۰۳ ± ۳/۶۴	۳۵/۸۹ ± ۴/۵۱	BMI (kg/m ²)

BMI: Body mass index

جدول ۳. مقایسه‌ی عوامل سرمی و BMI (Body mass index) در گروه شاهد (۱۰۰ نفر) به تفکیک ژنوتیپ‌ها

مقدار P	فاصله‌ی اطمینان ۹۵٪	ژنوتیپ‌ها		متغیرها
		Ff,ff	FF	
۰/۰۱۰	۰/۱۲-۱۹/۲۴	۱۰۴/۲۵ ± ۱۹/۸۷	۹۴/۵۶ ± ۱۲/۱۰	قند خون ناشتا (mg/dl)
۰/۵۴۰	۱۵/۷۶-۴۸/۶	۱۶۳/۲۵ ± ۳۵/۳۷	۱۷۹/۶۷ ± ۴۴/۱۷	کلسترول تام (mg/dl)
۰/۷۶۰	۳۶/۴۹-۷۵/۱۲	۱۱۲/۶۲ ± ۶۱/۵۵	۱۳۱/۹۴ ± ۷۰/۵۰	تری‌گلیسرید (mg/dl)
۰/۰۹۰	۱/۳۰-۱/۶۰	۲۳/۲۱ ± ۱/۶۰	۲۳/۳۶ ± ۲/۶۱	BMI (kg/m ²)

BMI: Body mass index

بحث

چاقی یکی از دلایل ابتلا به بیماری‌های دیابت نوع دوم، قلبی-عروقی، هیپرلیپیدمی و فشار خون بالا می‌باشد. از آن جایی که چاقی به عنوان یک فنوتیپ چند عاملی در نظر گرفته می‌شود، در بروز آن عوامل ژنتیکی، محیطی و نیز رفتاری نقش مهمی دارند (۱۱-۱۰، ۲). بررسی حاضر برای اولین بار در ایران ارتباط پلی مورفیسم FokI ژن گیرنده‌ی ویتامین D (VDR) با نمایه‌ی توده‌ی بدنی، قند خون ناشتا، کلسترول تام و تری‌گلیسرید در افراد چاق را نشان داده است.

نتایج نشان می‌دهد که در گروه شاهد، بین نمایه‌ی توده‌ی بدنی، میزان قند خون ناشتا، کلسترول تام و تری‌گلیسرید با ژنوتیپ‌های مختلف ارتباط معنی‌داری وجود ندارد و تنها اختلاف معنی‌داری که مشاهده شد، افراد واجد ژنوتیپ FF دارای میانگین قند خون ناشتای پایین‌تری نسبت به افراد واجد ژنوتیپ‌های Ff و ff بودند ($P = 0/010$). در گروه مورد، هیچ ارتباط معنی‌داری بین عوامل سرمی قند خون ناشتا، کلسترول تام، تری‌گلیسرید و نمایه‌ی توده‌ی بدنی با ژنوتیپ‌های مختلف وجود نداشت.

تا کنون مطالعات اپیدمیولوژیک کمی در مورد ارتباط تنوع‌های VDR و چاقی انجام پذیرفته است. پژوهش‌های اخیر نیز بر روی کمتر از ۴۰۰ شرکت کننده انجام شده‌اند. تحقیقات Grundberg و همکاران نشان داد که زنان سوئدی با ژنوتیپ‌های کمیاب در جایگاه تکرار Poly(A) ($rs17878969$) و BsmI ($rs1544410$) دارای توده‌ی چربی بیشتری هستند (۱۲). نتیجه‌ی پژوهش دیگری نشان داد که مردان لهستانی با ژنوتیپ BB در محل BsmI، دارای

BMI و دور کمر بیشتری هستند، اما این ارتباط با FokI SNP به دست نیامد (۱۳). مطالعه‌ی دیگر بر روی زنان لهستانی عدم ارتباط بین FokI و BsmI با BMI و دور کمر را نشان داد (۱۴).

نتایج مطالعه‌ی Ochs-Balcom و همکاران نشان داد که هیچ ارتباط معنی‌داری بین FokI و فنوتیپ چاقی وجود ندارد. در حالی که جایگاه BsmI دارای ارتباط معنی‌داری با فنوتیپ چاقی است (۱۵).

پلی مورفیسم FokI ژن گیرنده‌ی ویتامین D یک جابه‌جایی T به C در اولین کدون است که باعث از بین رفتن اولین مکان آغاز ترجمه و در نهایت، تولید پپتیدی با کمبود سه اسید آمینه‌ی انتهایی می‌شود (آلل F) و به دنبال آن، فعالیت نسخه‌برداری VDR را افزایش می‌دهد (۱۶). با توجه به معنی‌دار بودن فراوانی آلل F نسبت به آلل f ($P = 0/005$) از یک طرف و از طرف دیگر، نسبت شانسی $0/32$ ($OR = 0/320$)، مشخص می‌شود که آلل F نقش محافظتی در مقابل چاقی دارد. از آن جایی که آلل F دارای فعالیت بیشتری نسبت به آلل f است، در فرایند رونویسی، ظرفیت بالایی به عنوان عامل رونویسی دارد (۸). شاید بتوان گفت که فعال‌تر بودن یا کاهش فعالیت گیرنده‌ی ویتامین D، بر اتصال ویتامین D تأثیرگذار است. تنوع در اتصال ویتامین D با گیرنده‌اش، بر مکانیسم‌هایی همچون هومئوستازی کلسیم و متابولیسم لیپیدها مؤثر است (۱۷).

همچنین، معنی‌دار بودن ارتباط افراد شاهد واجد ژنوتیپ‌های FF/Ff,ff با قند خون ناشتا، بیانگر این موضوع است که این افراد به دلیل داشتن دو آلل F، دارای میزان قند خون پایین‌تری هستند؛ چرا که این آلل، دارای فعالیت بیشتری است. در مطالعه‌ای در

پلی مورفیسم‌های مرتبط این عارضه را از بدو تولد و حتی قبل از آن تشخیص داد و برای پیش‌گیری از بروز بیماری، اقدام نمود.

یافته‌های حاصل از این مطالعه، یکی از دلایل احتمالی ژنتیک در بروز بیماری چاقی در جمعیت ایرانی را بررسی نمود. در ضمن، مطالعه با حجم نمونه‌ی بیشتر و در سایر جمعیت‌ها می‌تواند به تأیید یافته‌های مطالعه‌ی حاضر کمک کند. در تفسیر یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، باید به برخی محدودیت‌ها توجه نمود. محدودیت اصلی این مطالعه، حجم پایین جمعیت مورد بررسی بود. از این رو، با توجه به دخیل بودن عوامل ژنتیکی متعدد در چاقی، نیاز به مطالعه و بررسی سایر ژن‌های مؤثر در چاقی، در کنار این پلی مورفیسم در افراد ایرانی احساس می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی شماره‌ی ۵۲۶ است که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) تصویب شد. همچنین، از همکاری استادان و کارکنان محترم مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) و نیز آزمایشگاه مهدیه‌ی اصفهان قدردانی می‌شود.

اصفهان بر روی بیماران مبتلا به پارکینسون، ارتباط این بیماری با پلی مورفیسم FokI ژن VDR بررسی و مشخص شده است که آلل F دارای نقش محافظتی در مقابل بیماری پارکینسون است (۱۸).

نتایج مطالعه‌ی شریفی و همکاران بر روی ارتباط پلی مورفیسم ژن (Tumor necrosis factor- alpha) TNF- α و نمایه‌ی توده‌ی بدنی و عوامل مؤثر بر چاقی، نشان می‌دهد که بین پلی مورفیسم G-308A TNF- α با افزایش نمایه‌ی توده‌ی بدنی ارتباطی وجود ندارد (۱۹).

این نتایج پیشنهاد می‌کنند که آلل F نسبت به آلل f در جمعیت مورد مطالعه‌ی حاضر، دارای فراوانی بیشتری است و آلل F در گروه شاهد نسبت به گروه مورد، دارای اختلاف معنی‌دار است. در مطالعه‌ی حاضر، بین قند خون ناشتا و ژنوتیپ‌ها در گروه شاهد، ارتباط معنی‌داری وجود داشت؛ به طوری که افراد واجد ژنوتیپ FF میزان قند خون ناشتای کمتری داشتند.

بیماری چاقی، به طور معمول همراه با اختلالات گسترده و بیماری‌های مختلف است. به طور حتم، این اختلالات بر عملکرد افراد جامعه اثرات سوء دارند. با بررسی‌های ژنتیکی و تعیین ارتباط آلل‌ها با بروز بیماری، می‌توان از طریق تشخیص

References

- Hart CL, Hole DJ, Lawlor DA, Smith GD. Obesity and use of acute hospital services in participants of the Renfrew/Paisley study. *J Public Health (Oxf)* 2007; 29(1): 53-6.
- Maes HH, Neale MC, Eaves LJ. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav Genet* 1997; 27(4): 325-51.
- World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity. Geneva, Switzerland: WHO; 1998.
- Bell NH, Epstein S, Greene A, Shary J, Oexmann MJ, Shaw S. Evidence for alteration of the vitamin D-endocrine system in obese subjects. *J Clin Invest* 1985; 76(1): 370-3.
- Fung GJ, Steffen LM, Zhou X, Harnack L, Tang W, Lutsey PL, et al. Vitamin D intake is inversely related to risk of developing metabolic syndrome in African American and white men and women over 20 y: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults study. *Am J Clin*

- Nutr 2012; 96(1): 24-9.
6. Tamer G, Mesci B, Tamer I, Kilic D, Arik S. Is vitamin D deficiency an independent risk factor for obesity and abdominal obesity in women? *Endokrynol Pol* 2012; 63(3): 196-201.
 7. Saboori S, Hosseinzadeh MJ, Hoseini M, Yousefi Rad E. The relationship between serum level of 25- hydroxy vitamin D with anthropometric indices and some biochemical parameters in obese women. *Yafteh* 2012; 14(4): 71-7. [In Persian].
 8. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004; 338(2): 143-56.
 9. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, van Leeuwen H, Pols HA. Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to Vitamin D related disease states. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89-90(1-5): 187-93.
 10. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, et al. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14(4): 529-644.
 11. Yang W, Kelly T, He J. Genetic epidemiology of obesity. *Epidemiol Rev* 2007; 29: 49-61.
 12. Grundberg E, Brandstrom H, Ribom EL, Ljunggren O, Mallmin H, Kindmark A. Genetic variation in the human vitamin D receptor is associated with muscle strength, fat mass and body weight in Swedish women. *Eur J Endocrinol* 2004; 150(3): 323-8.
 13. Filus A, Trzmiel A, Kuliczowska-Plaksej J, Tworowska U, Jedrzejuk D, Milewicz A, et al. Relationship between vitamin D receptor BsmI and FokI polymorphisms and anthropometric and biochemical parameters describing metabolic syndrome. *Aging Male* 2008; 11(3): 134-9.
 14. Tworowska-Bardzinska U, Lwow F, Kubicka E, Laczmanski L, Jedrzejuk D, Dunajska K, et al. The vitamin D receptor gene BsmI polymorphism is not associated with anthropometric and biochemical parameters describing metabolic syndrome in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol* 2008; 24(9): 514-8.
 15. Ochs-Balcom HM, Chennamaneni R, Millen AE, Shields PG, Marian C, Trevisan M, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with adiposity phenotypes. *Am J Clin Nutr* 2011; 93(1): 5-10.
 16. Arai H, Miyamoto K, Taketani Y, Yamamoto H, Iemori Y, Morita K, et al. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *J Bone Miner Res* 1997; 12(6): 915-21.
 17. Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(6): 2017-29.
 18. Ostadsharif M, Meamar R, Asadian M, Izadi M. Association of vitamin D receptor genotypes in sporadic and familial Parkinson's disease. *J Isfahan Med Sch* 2014; 32(305): 1718-27. [In Persian].
 19. Sharifi K, Rostami F, Faam B, Daneshpour M, Azizi F, Hedayati M. Association of TNF- α promoter G-308A polymorphism and body mass index and other obesity effective factors in Tehran Lipid and Glucose Study. *Razi j Med Sci* 2011; 18(86): 39-48. [In Persian].

The Relationship of FokI Polymorphism in Vitamin D Receptor (VDR) Gene and Obesity

Maryam Ostadsharif PhD¹, Farzad Rashidi-Khorasgani MSc²

Original Article

Abstract

Background: Obesity is one of the biggest public health challenges of the century. Genetic studies show that proteins associated with vitamin D, such as vitamin D receptor (VDR) are effective in the pathogenesis of obesity. This study aimed to investigate the relationship of FokI polymorphism in VDR gene and the body mass index (BMI), as an indicator of obesity, and other risk factors.

Methods: In this case-control study, 91 patients with obesity (BMI > 30 kg/m²) and 100 healthy controls (BMI: 18.5-24.9 kg/m²) participated. The levels of fasting blood sugar (FBS), total cholesterol and triglyceride were measured and the BMI was determined. The genomic DNA was extracted from the peripheral blood of participants. VDR gene amplified using polymerase chain reaction (PCR) technique and FokI polymorphism was investigated via the restriction fragment lengths polymorphism (RFLP) method. The odds ratio was used to examine the relationship between the risk factors and the disease; 95% of confidence interval was used for these calculations.

Findings: The frequency of F allele of FokI polymorphism was 95.00% and 88.46%, while the frequency of f allele was 5.00% and 11.53% in control and obese groups, respectively. The difference between F and f alleles in the control and obese groups was significant (P = 0.005). In the obese group, there was no significant relationship between the levels of fasting blood sugar, total cholesterol, and triglyceride and the genotypes. In the control group, significant relationship was observed between the level of fasting blood sugar and genotypes (P = 0.010).

Conclusion: Our findings showed that protection against the obesity was conferred significantly when F allele existed. For this reason, the individuals with FF genotype in the control group had lower fasting blood sugar levels compared to the other genotypes.

Keywords: Obesity, Vitamin D receptor, Polymorphism

Citation: Ostadsharif M, Rashidi-Khorasgani F. **The Relationship of FokI Polymorphism in Vitamin D Receptor (VDR) Gene and Obesity.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(350): 1530-7

1- Assistant Professor, Department of Medical Basic Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2- Young Researchers and Elite Club, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Maryam Ostadsharif PhD, Email: m.ostadsharif@khuisf.ac.ir

مرور نظام‌مند بر تأثیر مقدار کلسیم مصرف شده توسط مادر در زمان بارداری بر فشار خون فرزندان*

فهیمه جمشیدی^۱، دکتر رویا کلیشادی^۲

مقاله مروری

چکیده

مقدمه: شواهد نشان می‌دهد که مقدار کلسیم دریافت شده توسط مادران باردار در زمان بارداری، با فشار خون کودکان و نوزادان در ارتباط است. کاهش وقوع فشار خون بالا در مادران به تأیید رسیده است، اما این تأثیر در کودکان و نوجوانان هنوز مورد بحث است. مطالعاتی وجود دارد که نشان می‌دهد هر چه مقدار کلسیم مصرفی در مادران باردار بیشتر باشد، فشار خون نوزادان و کودکان پایین‌تر است. این مطالعه‌ی مروری نظام‌مند با هدف بررسی مقالات مرتبط با این موضوع انجام شد.

روش‌ها: مقالات پایگاه‌های علمی PubMed و Scopus مورد جستجو قرار گرفتند و مطالعات مربوط طی سه مرحله انتخاب شدند. اطلاعات مورد نیاز در زمینه‌ی تأثیر مقدار کلسیم مصرفی توسط مادر در زمان بارداری، بر فشار خون نوزادان و کودکان از مقالات استخراج و بررسی گردید.

یافته‌ها: ۴ مقاله‌ی کارآزمایی بالینی و ۳ مقاله‌ی مشاهده‌ای وارد مطالعه شدند. مطالعات نشان داد که هر چه مقدار کلسیم مصرف شده توسط مادران باردار در زمان بارداری بیشتر باشد، فشار خون سیستولی در نوزادان و کودکان پایین‌تر است. این تأثیر به ویژه در کودکان ۹-۱ سال وجود دارد. در یک مطالعه‌ی بزرگ، کاهش قابل توجهی هم از لحاظ کلینیکی و هم از نظر آماری در فشار خون کودکان ۷ ساله وجود داشت (۹۵٪ CI: ۰/۳۹-۰/۹۰). (RR = ۰/۵۹).

نتیجه‌گیری: شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد مقدار کلسیم دریافت شده توسط مادران باردار روی فشار خون کودکان تأثیرگذار است. در صورتی که این موضوع تأیید شود، تأثیر بسیاری در سلامت عمومی جامعه دارد. مصرف مکمل‌های کلسیم در دوران بارداری، بسیار ساده و ارزان قیمت است و می‌تواند تأثیر به‌سزایی بر کاهش فشار خون و عوارض آن در آینده داشته باشد.

واژگان کلیدی: فشار خون، کلسیم، بارداری، کودکان، نوزادان، مرور نظام‌مند

ارجاع: جمشیدی فهیمه، کلیشادی رویا. مرور نظام‌مند بر تأثیر مقدار کلسیم مصرف شده توسط مادر در زمان بارداری بر فشار خون

فرزندان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۰): ۱۵۴۶-۱۵۳۸

مقدمه

بهداشت، اعلام کرده است که در سال ۲۰۲۰ سه چهارم مرگ و میر، ناشی از بیماری‌های غیر واگیر در کشورهای در حال پیشرفت می‌باشد (۱). چاقی، یک

شیوع بیماری‌های غیر واگیر و مزمن در کشورهای در حال پیشرفت رو به گسترش است. سازمان جهانی

*نسخه‌ی انگلیسی این مقاله در مجله‌ی Journal of Research in Medical Sciences پذیرش شده است و در نوبت چاپ می‌باشد.

۱- دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات رشد و نمو کودکان، پژوهشکده‌ی پیش‌گیری اولیه از بیماری‌های غیر واگیر و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استاد، گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات رشد و نمو کودکان، پژوهشکده‌ی پیش‌گیری اولیه از بیماری‌های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
Email: kelishadi@med.mui.ac.ir نویسنده‌ی مسؤول: دکتر رویا کلیشادی

مقدار کلسیم دریافتی مادران باردار در میزان فشار خون نوزادان و کودکان انجام شد.

روش‌ها

راهدرد جستجو: منابع علمی PubMed و Scopus به عنوان منابع اصلی بین‌المللی جستجو شدند. برای این که جستجو کامل باشد، از نرم‌افزار Mesh در PubMed و از Emtree در Scopus استفاده شد. راهبرد جستجو در این پایگاه‌های اطلاعاتی، در ادامه آمده است:

Pubmed: ((("Mothers" [Mesh] OR ("mothers" [MeSH Terms] OR "mothers" [All Fields] OR "maternal" [All Fields])) AND "Blood Pressure" [Mesh]) AND ("Dietary Supplements" [Mesh] OR ("calcium" [MeSH Terms] OR "calcium" [All Fields]))

Scopus: (TITLE-ABS-KEY (maternal OR mother)) AND (TITLE-ABS-KEY (calcium)) AND (TITLE-ABS-KEY (blood pressure))

روش انتخاب مطالعات: مقالات تکراری حذف شدند و مقالات باقی‌مانده، طی سه مرحله انتخاب شدند. ابتدا عنوان مقالات خوانده شد، سپس چکیده‌ی مقالاتی که از نظر عنوان به این مطالعه مربوط بودند، مطالعه و مقالات نامربوط حذف گردید. در نهایت، متن کامل مقالاتی که باقی ماندند، خوانده شد و مطالعاتی که به طور کامل مربوط به موضوع بودند، انتخاب شدند. منابع مقالات مربوط نیز بررسی شد و هر چه مقاله مربوط به موضوع یافت شد، در این مطالعه وارد گردید.

استخراج نتایج مطالعات: مقالاتی که وارد مطالعه شدند، یک به یک خوانده شد. اطلاعات مورد نیاز از جمله مشخصات کلی مثل نام نویسنده‌ی اول، سال چاپ، سال انجام مطالعه، طراحی مطالعه، جمعیت مورد مطالعه، مقدار مکمل یا رژیم مصرفی کلسیم، سن

عامل خطر اصلی در بیماری‌های مزمن است و نقش اصلی را در سندروم متابولیک دارد که شامل هایپر انسولینمی، فشار خون بالا، هایپر لیپیدمی و دیابت نوع دو می‌شود و همچنین، خطر بیماری‌های قلبی-عروقی را بالا می‌برد (۲).

شواهد نشان می‌دهد که عواملی در ابتدای زندگی، موجب بیماری‌های مزمن در آینده می‌شود (۲). در مطالعه‌ای مشاهده شده است که تغذیه با شیر مادر، موجب محافظت از بروز فشار خون بالا و چاقی در آینده می‌شود (۳-۲). حتی تاریخچه‌ی فامیلی مثبت در مورد چاقی و فشار خون بالا در والدین، احتمال سندروم متابولیک را در کودکان بالا می‌برد (۴). همچنین مطالعات زیادی در مورد تأثیر تغذیه‌ی ناصحیح در دوران بارداری و عوارض آینده‌ی قلبی-عروقی آن بر کودکان وجود دارد (۵). به ویژه، رژیم دریافتی کلسیم در مادران باردار، با فشار خون کودکانشان در ارتباط است (۶) و مقدار دریافت کلسیم رابطه‌ی معکوس با فشار خون سیستولی در کودکان دارد (۷).

بعضی از مطالعات تجربی و مشاهده‌ای در حیوانات و انسان‌ها، رابطه‌ی بین مقدار کلسیم دریافتی در مادران باردار و فشار خون کودکان را نشان داده‌اند (۸-۹)، اما بعضی از مطالعات دیگر، به چنین رابطه‌ی نرسیده‌اند (۱۰-۱۱). دریافت بالای کلسیم توسط مادر و فشار خون پایین مادر در زمان بارداری، موجب می‌شود رویارویی جنین با هورمون‌های مادری و موادی که در اثر فشار خون بالا ترشح می‌شوند (Parathyroid hypertensive factor یا PHF)، کاهش یابد و این امر، کودک را در مقابل فشار خون بالا در آینده محافظت می‌کند (۱۲). از این رو، مطالعه‌ی مروری حاضر با هدف بررسی تأثیر

کودکان و نوزادان و نیز نتایج مطالعه استخراج گردید.

یافته‌ها

طبق راهبرد جستجو، ۶۳۶ مقاله یافت شد. بعد از حذف مقالات تکراری، طی سه مرحله به ترتیب عنوان، چکیده و سپس متن کامل مقالات، بررسی و در نهایت ۷ مقاله انتخاب شد (شکل ۱). اطلاعات مقاله‌های انتخابی در جدول ۱ آمده است.

در این مقاله‌ی مروری، ۴ مقاله‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی و ۳ مقاله‌ی مشاهده‌ای وجود دارد. ۳ مقاله نوزادان زیر یک سال را در بر گرفته (۶-۷، ۱۳) و ۷ مقاله کودکان ۹-۱ سال را بررسی کرده بود. ۴ مقاله‌ای که کارآزمایی تصادفی بودند، در واقع تأثیر مقدار کلسیم دریافتی بر جلوگیری از وقوع پره‌اکلامپسی را مورد بررسی قرار داده بودند؛ این مطالعات، سال‌ها ادامه یافته و تأثیر مقدار کلسیم دریافتی مادران باردار بر کودکان را نیز مورد مطالعه قرار داده بودند (۱۵-۱۲).

در مطالعه‌ی Belizan و همکاران که مطالعه‌ای با کیفیت بالا بود، ۱۱۹۴ مادر باردار به صورت تصادفی تحت درمان با ۲۰۰۰ گرم مکمل کلسیم و دارونما قرار گرفتند. ۶۱۴ مادر از بیمارستان خصوصی پیگیری شدند (حدود ۵۰ درصد از کل جمعیت نمونه). در این مطالعه، کاهش قابل توجهی در وقوع فشار خون بالا در کودکان ۷ ساله وجود داشت (۱۲). در این مطالعه، همچنین نشان داده شد که این تأثیر در کودکان با اضافه وزن، بیشتر بود. برای نوزادان زیر یک سال، اطلاعات به این صورت نبود.

در مطالعه‌ی Hatton و همکاران، ۴۵۸۹ مادر باردار به صورت تصادفی تحت درمان با ۲۰۰۰ گرم مکمل کلسیم و دارونما قرار گرفتند. یک مرکز از پنج

مرکز مورد مطالعه پیگیری شد. جمعیتی که پیگیری شد، ۵۵۹ نفر بود. ۵۳ درصد در طی ۳ ماه و ۹۰ درصد در طی ۲ سال قابل پیگیری نبودند. نویسندگی مقاله این موضوع را محدودیت اصلی مقاله خواند. در این مطالعه، شواهدی وجود داشت که نشان می‌داد مقدار مکمل کلسیمی که مادر دریافت کرده بود، با فشار خون سیستولی پایین در کودکان ۲ ساله در ارتباط بود. فشار خون سیستولی نوزادان در گروهی که مادرانشان مکمل کلسیم دریافت کرده بودند، ۲/۲ میلی‌متر جیوه از فشار خون سیستولی در گروه شاهد (دریافت کنندگان دارونما) کمتر بود ($P > 0.05$). در کودکان ۲ ساله، در گروهی که مکمل کلسیم مصرف کرده بودند، فشار خون سیستولی ۴/۸ میلی‌متر جیوه و فشار خون دیاستولی ۳ میلی‌متر جیوه کمتر از بقیه بود ($P < 0.05$) (۱۳). مطالعه‌ی McGarvey و همکاران رابطه‌ی بین کلسیم، پتاسیم و منیزیم رژیم غذایی مادر با فشار خون نوزادان را مورد ارزیابی قرار داده است. اطلاعات از طریق پرسش‌نامه‌ی کمی تغذیه (FFQ یا Food Frequency Questionnaire) جمع‌آوری شده است. فشار خون نوزادان در سن ۴-۲ روزگی در بیمارستان و در سن ۱، ۶ و ۱۲ ماهگی در منزل اندازه‌گیری شد. رابطه‌ی قابل توجهی بین دریافت این کاتیون‌ها توسط مادران در طی بارداری و فشار خون نوزادان تازه متولد شده وجود نداشت. اما رابطه‌ی معنی‌داری بین مقدار کلسیم مصرفی توسط مادر و کاهش فشار خون سیستولی در نوزادان ۱ ماهه وجود داشت. در ۶ ماهگی، مقدار مصرف هر سه کاتیون توسط مادر به صورت قابل توجهی با فشار خون دیاستولی رابطه‌ی عکس داشت. در ۱۲ ماهگی مقدار

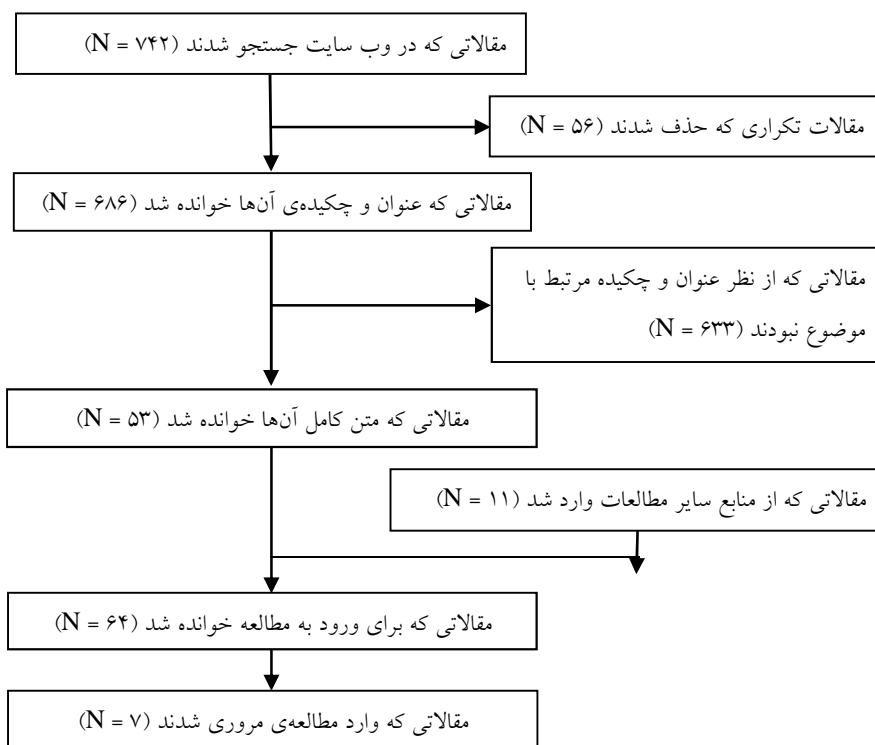
(Tasmania)، سندروم مرگ ناگهانی در نوزادان را مورد مطالعه قرار داده است. اطلاعات در مورد تغذیه در زمان بارداری در مادران کودکان دوقلو جمع‌آوری شد. فشار خون کودکان در سن ۹ سالگی بررسی و ثبت شد. در این مطالعه، رابطه‌ی قابل توجهی بین مقدار کلسیم دریافتی توسط مادران و فشار خون کودکان وجود نداشت (۱۶).

در مطالعه‌ی Hawkesworth و همکاران، ۳۸۹ کودک از منطقه‌ی غیر شهری گامبیا (Gambia) در غرب افریقا مورد مطالعه قرار گرفتند. مادران باردار به صورت تصادفی ۱۵۰۰ میلی‌گرم در روز کلسیم یا دارونما دریافت کردند. در این مطالعه، رابطه‌ی قابل توجهی بین این مقدار کلسیم دریافت شده توسط مادران باردار و فشار خون کودکان ۱۰-۵ سال مشاهده نشد (۱۵).

دریافت پتاسیم و کلسیم توسط مادران باردار، با فشار خون دیاستولی رابطه‌ی عکس داشت (۶).

Gillman و همکاران، اطلاعات مطالعه‌ی هم‌گروهی در مورد مادران باردار در امریکا را مورد بررسی قرار داده‌اند. این مطالعه، در واقع تأثیر رژیم غذایی مادران باردار را بر سلامتی خود مادران و کودکانشان سنجیده است. در این مطالعه، مقدار کلسیم دریافت شده توسط مادران باردار در سه ماهه‌ی اول و دوم بارداری از طریق پرسش‌نامه‌ی FFQ جمع‌آوری و فشار خون نوزادان در ۶ ماهگی اندازه‌گیری شده است. در نهایت مشاهده شده است که به ازای هر ۵۰۰ میلی‌گرم کلسیم دریافتی مادر، فشار خون سیستولی نوزادان ۶ ماهه، ۳ میلی‌متر جیوه کاهش یافته است (۷).

مطالعه‌ی Morley و همکاران در تازمانیا



شکل ۱. فلوجارت انتخاب مقالات

جدول ۱. اطلاعات مطالعات وارد شده در مطالعه‌ی مروری

پژوهشگران	Hatton و همکاران (۱۳)	Belizan و همکاران (۱۲)	Hiller و همکاران (۱۰)	Hawkesworth و همکاران (۱۵)	McGarvey و همکاران (۶)	Gillman و همکاران (۷)	Morley و همکاران (۱۶)
کشور	امریکا	آرژانتین	استرالیا	افریقا- گامبیا	امریکا (Rhode Island)	امریکا	استرالیا
سال انجام مطالعه	ذکر نشده	۱۹۹۵-۱۹۹۶	۲۰۰۰-۲۰۰۲	۲۰۰۵-۲۰۰۶	۱۹۸۵-۱۹۸۷	۱۹۹۹-۲۰۰۲	۱۹۸۸-۱۹۹۵
نوع	کارآزمایی بالینی	کارآزمایی بالینی	کارآزمایی بالینی	کارآزمایی بالینی	مشاهده‌ای	مشاهده‌ای	مشاهده‌ای
شرکت کنندگان	مادران باردار نخستین بارداری در ۵ مرکز پزشکی، هفته‌ی ۲۰-۱۳ بارداری	مادران باردار نخستین بارداری در ۳ مرکز پزشکی، در هفته‌ی ۲۰ بارداری	مادران باردار نخستین بارداری در ۵ مرکز پزشکی، در کمتر از ۲۴ هفته‌ی بارداری	مادران باردار نخستین بارداری در ۲۶ منطقه‌ی غیر شهری، در کمتر از ۲۰ هفته‌ی بارداری	مادرانی که نوزادانشان در مرکز اصلی پزشکی به دنیا آمدند.	مادران تک‌زا و چندزا در منطقه‌ی شهری در شرق ماساچوست، در کمتر از ۲۲ هفته‌ی بارداری	مادران دوقلوهایی که در تازمانیا زنده به دنیا آمدند.
جمعیت نمونه	۵۵۹	۶۱۴	۴۵۶	۳۸۹	۵۸۰	۹۳۶	۲۹۴
مکمل	۲ گرم روزانه	۲ گرم روزانه	۱/۸ گرم روزانه	۱/۵ گرم روزانه	۱۷۱۲ میلی‌گرم روزانه	۱۴۹۴ میلی‌گرم در سه ماهه‌ی اول و ۱۳۳۰ میلی‌گرم در سه ماهه‌ی دوم	از شرکت کنندگان پرسیده شد که آیا مکمل کلسیم مصرف کرده‌اند؟
سن کودکان	۳ ماه و ۲ سال	۵-۹ سال	۴-۷ سال	۵-۱۰ سال	بدو تولد، ۱، ۶ و ۱۲ ماه	۶ ماه	۹ سال
یافته‌ها	کاهش فشار خون سیستولی در نوزادان و کودکان ۲ ساله	کاهش قابل توجه در وقوع فشار خون بالا در کودکان ۷ ساله	کاهش فشار خون نوزادان	رابطه‌ی قابل توجهی وجود نداشت.	کاهش قابل توجه فشار خون سیستولی در نوزادان ۱ ماهه و کاهش قابل توجه فشار خون دیاستولی در ۶ و ۱۲ ماهگی	کاهش فشار خون سیستولی نوزادان ۶ ماهه	رابطه‌ی قابل توجهی وجود نداشت.

و فشار خون کودکان وجود نداشت (۱۵).
عدم تجانس بین مطالعات، توضیحات در مورد نتایج مطالعات را سخت می‌کند. منبع و مقدار مصرف کلسیم و همچنین، روش جمع‌آوری اطلاعات در میان مطالعات مشاهده‌ای، با یکدیگر متفاوت می‌باشد. تعریف فشار خون با توجه به سن، متفاوت است و همچنین، عوامل محیطی که روی نوزادان تأثیر می‌گذارد، بعد از نوجوانی قابل مشاهده می‌باشد (۱۷). این مشکل، به علت عدم توانایی در اندازه‌گیری دقیق فشار خون در کودکان با سن پایین‌تر است (۱۸).

در کل، هر ۷ مطالعه به نظر خوب انجام شده است. محدودیت اصلی در تمامی مطالعات مشاهده‌ای، عدم توانایی در پی‌گیری تمامی جمعیت نمونه است. در تمامی مطالعات، هر چه مقدار کلسیم دریافت شده توسط مادران باردار بیشتر بود، فشار خون سیستمی در نوزادان و کودکان کمتر بود، اما تنها در ۳ مطالعه، این تأثیر از نظر آماری چشمگیر است (۱۳، ۷-۶).

در مطالعه‌ای که در آرژانتین توسط Belizan و همکاران انجام شد، رابطه‌ای بین این مداخله و BMI (Body mass index) کودکان وجود داشت. در کودکانی که BMI بالاتری داشتند (بیشتر از حد میانگین که ۱۵/۷ می‌باشد)، مقدار کلسیم دریافت شده توسط مادران باردار تأثیر بیشتری بر کاهش فشار خون سیستمی در کودکان داشته است (۱۲). بر خلاف چنین نتیجه‌ای، در مطالعه‌ای که در گامبیا انجام شده است، چنین تأثیری یافت نشده است (۱۵).

دریافت بالای کلسیم توسط مادر و فشار خون پایین مادر در زمان بارداری، موجب می‌شود

مطالعه‌ی Hiller و همکاران ۴۱۴ نوزاد در شمال استرالیا را مورد بررسی قرار داده است. مادران و نوزادانشان جهت جمع‌آوری اطلاعات به بیمارستان دعوت شدند. اطلاعات در مورد نحوه‌ی زندگی، با استفاده از پرسش‌نامه جمع‌آوری شد. مقدار کلسیم دریافتی، تأثیر چندانی در کاهش وقوع پره‌اکلامپسی در مادران نداشت، اما کاهش فشار خون در نوزادان را در پی‌گیری‌های بعدی نشان می‌داد (۱۴).

بحث

شواهد نشان می‌دهد که رابطه‌ی معنی‌داری بین کلسیم دریافت شده توسط مادر در زمان بارداری و فشار خون در کودکان وجود دارد. در مطالعه‌ای با کیفیت خوب و جمعیت نمونه‌ی بالا، کاهش قابل توجهی در فشار خون بالا در کودکان ۷ ساله گزارش شده است (۱۲). در نوزادان زیر ۱ سال، گزارش‌ها بسیار متناقض هستند و قابل توصیف نمی‌باشند.

در میان ۷ مطالعه‌ای که بررسی شد، ۴ مطالعه، کارآزمایی تصادفی بودند. اعتبار مطالعات مشاهده‌ای برای سنجش این مداخله کمی بحث برانگیز است. ۶ مقاله از این ۷ مقاله در کشورهای پیشرفته که مقدار کلسیم دریافتی مادران باردار در حد مناسب و یا حتی بیش از حد مورد نیاز بوده است، انجام شده است. این حالت برای سنجیدن تأثیر تغذیه مناسب نمی‌باشد. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد تأثیر مقدار کلسیم زمانی مشخص می‌شود که کمبود آن وجود داشته باشد (۸).

در مطالعه‌ی Hawkesworth و همکاران که در منطقه‌ای انجام شده بود که مقدار کلسیم دریافتی بسیار کم بوده است، رابطه‌ای بین مقدار کلسیم دریافت شده

باردار، روی فشار خون کودکان و نوزادان تأثیرگذار است. به هر حال، به علت جمعیت کم و مشکلات در روش اجرای مطالعات انجام شده، به مطالعات بیشتری نیاز است. همچنین، مطالعات بیشتری لازم است تا در حالتی که کمبود کلسیم وجود دارد، این مداخله صورت بگیرد. در صورتی که این موضوع تأیید شود، تأثیر بسیاری در سلامت عمومی جامعه دارد. مصرف مکمل‌های کلسیم در دوران بارداری، بسیار ساده و ارزان قیمت است و ممکن است تأثیر به‌سزایی بر کاهش فشار خون و عوارض بعدی آن در آینده داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ی فهیمة جمشیدی به شماره‌ی ۳۹۳۵۹۹ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد که به تصویب شورای پژوهشی این دانشگاه رسید.

رویاری جنین با هورمون‌های مادری و موادی که در اثر فشار خون بالا ترشح می‌شوند (PHF یا Parathyroid hypertensive factor)، کاهش یابد. کودکانی که مادرانشان در زمان بارداری توکسمی و فشار خون بالا دارند، در آینده بیشتر در معرض فشار خون بالا هستند (۱۹). غده‌ی پاراتیروئید و عوامل مربوط به فشار خون بالا که از این غده ترشح می‌شوند (PHF)، می‌توانند در این واقعه تأثیرگذار باشند. هر چه مقدار این عوامل کمتر باشد، موجب کاهش مقاومت عروق محیطی می‌شود و در برابر فشار خون بالا در آینده محافظت می‌کند. همچنین، مقدار بالای کلسیم دریافت شده توسط مادر، موجب می‌شود کلسیم در خون جنین نیز بالا برود و به طور مستقیم روی دستگاه تنظیم فشار خون همانند آن چه در مورد بزرگسالان توضیح داده شد، تأثیر بگذارد (۲۰-۲۱).

نتیجه‌گیری نهایی این که شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد مقدار کلسیم دریافت شده توسط مادران

References

1. Kelishadi R. Childhood overweight, obesity, and the metabolic syndrome in developing countries. *Epidemiol Rev* 2007; 29: 62-76.
2. Kelishadi R, Ardalan G, Gheiratmand R, Gouya MM, Razaghi EM, Delavari A, et al. Association of physical activity and dietary behaviours in relation to the body mass index in a national sample of Iranian children and adolescents: CASPIAN Study. *Bull World Health Organ* 2007; 85(1): 19-26.
3. Kelishadi R, Ardalan G, Gheiratmand R, Adeli K, Delavari A, Majdzadeh R. Paediatric metabolic syndrome and associated anthropometric indices: the CASPIAN Study. *Acta Paediatr* 2006; 95(12): 1625-34.
4. Kelishadi R, Mirghaffari N, Poursafa P, Gidding SS. Lifestyle and environmental factors associated with inflammation, oxidative stress and insulin resistance in children. *Atherosclerosis* 2009; 203(1): 311-9.
5. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med* 2008; 359(1): 61-73.
6. McGarvey ST, Zinner SH, Willett WC, Rosner B. Maternal prenatal dietary potassium, calcium, magnesium, and infant blood pressure. *Hypertension* 1991; 17(2): 218-24.
7. Gillman MW, Rifas-Shiman SL, Kleinman KP, Rich-Edwards JW, Lipshultz SE. Maternal calcium intake and offspring blood pressure. *Circulation* 2004; 110(14): 1990-5.
8. Atallah AN, Hofmeyr GJ, Duley L. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; (1): CD001059.
9. Dwyer JH, Dwyer KM, Scribner RA, Sun P, Li L, Nicholson LM, et al. Dietary calcium, calcium supplementation, and blood pressure in

- African American adolescents. *Am J Clin Nutr* 1998; 68(3): 648-55.
10. van Mierlo LA, Arends LR, Streppel MT, Zeegers MP, Kok FJ, Grobbee DE, et al. Blood pressure response to calcium supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hum Hypertens* 2006; 20(8): 571-80.
 11. Strydom HC. Lipid and macrophage accumulations in arteries of children and the development of atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(5 Suppl): 1297S-306S.
 12. Belizan JM, Villar J, Bergel E, del PA, Di FS, Galliano SV, et al. Long-term effect of calcium supplementation during pregnancy on the blood pressure of offspring: follow up of a randomised controlled trial. *BMJ* 1997; 315(7103): 281-5.
 13. Hatton DC, Harrison-Hohner J, Coste S, Reller M, McCarron D. Gestational calcium supplementation and blood pressure in the offspring. *Am J Hypertens* 2003; 16(10): 801-5.
 14. Hiller JE, Crowther CA, Moore VA, Willson K, Robinson JS. Calcium supplementation in pregnancy and its impact on blood pressure in children and women: follow up of a randomised controlled trial. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2007; 47(2): 115-21.
 15. Hawkesworth S, Sawo Y, Fulford AJ, Goldberg GR, Jarjou LM, Prentice A, et al. Effect of maternal calcium supplementation on offspring blood pressure in 5- to 10-y-old rural Gambian children. *Am J Clin Nutr* 2010; 92(4): 741-7.
 16. Morley R, Carlin JB, Dwyer T. Maternal calcium supplementation and cardiovascular risk factors in twin offspring. *Int J Epidemiol* 2004; 33(6): 1304-9.
 17. Huxley RR, Shiell AW, Law CM. The role of size at birth and postnatal catch-up growth in determining systolic blood pressure: a systematic review of the literature. *J Hypertens* 2000; 18(7): 815-31.
 18. O'Brien E. Ambulatory blood pressure measurement is indispensable to good clinical practice. *J Hypertens Suppl* 2003; 21(2): S11-S18.
 19. Higgins M, Keller J, Moore F, Ostrander L, Metzner H, Stock L. Studies of blood pressure in Tecumseh, Michigan. I. Blood pressure in young people and its relationship to personal and familial characteristics and complications of pregnancy in mothers. *Am J Epidemiol* 1980; 111(2): 142-55.
 20. Belizan JM, Villar J, Self S, Pineda O, Gonzalez I, Sainz E. The mediating role of the parathyroid gland in the effect of low calcium intake on blood pressure in the rat. *Arch Latinoam Nutr* 1984; 34(4): 666-75.
 21. Lin CM, Saito K, Tsujino T, Yokoyama M. Calcium supplementation inhibits the expression of parathyroid hypertensive factor in DOCA-salt hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1994; 7(2): 201-4.

Maternal Calcium Supplementation and its Effect on Offspring Blood Pressure: A Systematic Review on the Current Evidence*

Fahimeh Jamshidi¹, Roya Kelishadi MD²

Review Article

Abstract

Background: Evidence proposes that maternal calcium (Ca) supplement during pregnancy may be associated with offspring blood pressure. The reduction in incidence of hypertension in mothers is proved; but the effects on the offspring are uncertain. Evidence suggests that increased maternal calcium intake during pregnancy may result in lower offspring blood pressure. We conducted a systematic review of the literature to summarize the evidence supporting an association between maternal dietary calcium intake during pregnancy and blood pressure in the offspring.

Methods: The literatures were searched in available databases. The relevant papers were selected in three phases. After quality assessment, a reviewer extracted the data while another checked their extracted data.

Findings: Four randomized clinical trials and three observational studies were included in this review. Results were more consistent among the studies including older children (age: 1 to 9 years) where a higher maternal calcium intake was associated with a reduction in offspring systolic blood pressure. One large randomized clinical trial found a clinically and statistically significant reduction in the incidence of hypertension in 7-year-old children (RR = 0.59, 95% CI: 0.39 to 0.90).

Conclusion: There is evidence that confirm the association between maternal calcium intake during pregnancy and offspring blood pressure. However, more research is needed to confirm these findings given the small sample sizes and the methodological problems in many of the studies conducted so far. More studies on populations with calcium deficit are also needed. If confirmed, these findings could have important public health implications. Calcium supplementation during pregnancy is simple and inexpensive and may be a way to reduce the risk of hypertension and its sequels in the next generation.

Keywords: Maternal, Calcium, Offspring, Blood pressure

Citation: Jamshidi F, Kelishadi R. **Maternal Calcium Supplementation and its Effect on Offspring Blood Pressure: A Systematic Review on the Current Evidence.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(350): 1538-46

*The English version of this article is accepted and scheduled to be published in Journal of Research in Medical Sciences.

1- Student of Medicine, Child Growth and Development Research Center, Research Institute for Primordial Prevention of Non-communicable Diseases AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine AND Child Growth and Development Research Center, Research Institute for Primordial Prevention of Non-communicable Diseases, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Roya Kelishadi MD, Email: kelishadi@med.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 prints out 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 in formations you can contact with JIMS office via E-mail address (jims@med.mui.ac.ir).

INSTRUCTION TO AUTHORS

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

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Mojtaba Abtahi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
3. **Mohammad Esmail Akbari** MD, Professor of Thoracic Surgery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6. **Saeid Andalib Jortani** MD, Professor of Pathology, Lewis Weil University, USA
7. **Gholam Reza Askari** MD, PhD of Nutrition, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Assistant Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Majid Berekatain** MD, Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
10. **Ken Bassett** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
11. **Ahmad Chitsaz** MD, Associate Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12. **Afsoon Emami** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
13. **Ali Reza Emami** MD, Associate Professor of Infectious Diseases, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
14. **Shahin Emami** Biochemistry and Endocrinology, Saint Antoine Hospital, France
15. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
16. **Faramarz Esmail beigi** MD, Professor of Internal Medicine, School of Medicine, USA
17. **Ziba Farajzadegan** MD, Associate Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
18. **Hamid Fesharaki** Associate Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Marjane Foladi** PhD of Nursing, University of Florida, USA
20. **Aziz Gahari** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
21. **Ali Gheisari** MD, Professor of Cardiovascular Surgery, California, USA
22. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. **Ali Mohammad Hanjani** MD, Professor of Cardiology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
24. **Mina Hasanrezaei** MD, NeuroImmunology, School of Pharmacy, USA
25. **Saeid 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. 33, No. 350, 2nd Week, November 2015

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:

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

Telefax: +98 31 37922291

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

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

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

Telefax: +98 31 36686302

E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexes

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

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

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