



مقاله های پژوهشی

ارزیابی خاصیت ضد سرطانی درمان جدید پلاسمای اتمسفری سرد با حساس کننده ی نوری ایندوسیانین گرین در مهار سلول های ملانوما ۲۲۲
سارا مومنی، احمد شانی، آمنه سازگارنیا، ندا عطاران، سید امیر آل داود

تأثیر عصاره ی هیدروالکلی *Dracocephalum Kotschy* روی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک رات ۲۲۸
امیرمهدی صفاری، فوزیه زادحوش، افسانه یگدانه، علی حسینی شریف آباد، اردشیر طالبی، حسن صدرایی

فعالیت پروتئازی در ساب تایپ های مختلف بلاستوسیتیس در اصفهان ۲۸۸
فرزین خسروی دانش، سمیه موسوی مبارکه، حسین یوسفی دارانی، زهرا غبور نجف آبادی



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال پنجم، شماره (۶۶۹)، تیرماه ۱۴۰۱

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

سر دبیر افتخاری: دکتر روبا کلیشادی

مدیر مسؤول: دکتر سید مرتضی حیدری

سر دبیر: دکتر رضا خدیوی

ناشر:

انتشارات آرمان پژوه حکیم

Email: armri.org@gmail.com

<http://armri.org>

تلفن: ۰۳۱-۳۶۵۳۲۳۴۵

دورنگار: ۰۳۱-۳۶۵۳۲۳۴۵

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

Email: publication@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مدیر اجرایی: دکتر مرجان زارعیان مسؤول دفتر: بنت الهدی حیدری

تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷ دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱

Email: jims@med.mui.ac.ir

وبسایت مجله: <http://jims.mui.ac.ir>

این مجله در نمایه‌های زیر در دسترس قرار دارد.

- Scopus
- Embase
- Chemical Abstracts
- Directory of Open Access Journals (DOAJ)
- Google Scholar
- Islamic World Science Citation Center (ISC)
- WHO/EMRO/Index Medicus
- Scientific Information Database (SID)
- Academic Search Complete EBSCO Publishing databases
- Magiran
- Index Copernicus
- Index Academicus
- Iran Medex

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

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

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

نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی
۱- دکتر محمدرضا اخلاقی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر علی اخوان	استادیار، متخصص رادیوتراپی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، فوق تخصص غدد، مرکز پزشکی دانشگاهی کیلوند، کیلوند، آمریکا
۵- دکتر احمد اسماعیل زاده	استاد، دکترای تخصصی تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- دکتر شاهین امامی	دکترای تخصصی بیوشیمی، بیمارستان سن آنتونیو، انستیتو سلامت و تحقیقات پزشکی، پاریس، فرانسه
۷- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۸- دکتر رضا امین	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، فوق تخصص بیماری‌های ایمونولوژی و آلرژی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۹- دکتر فریبا ایرجی	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۰- دکتر کن باست	استاد، متخصص ابتکارات درمانی، دانشگاه بریتیش کلمبیا، ونکور، کانادا
۱۱- دکتر رضا باقریان سرارودی	دانشیار، دکترای تخصصی روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۲- دکتر مجید برکتین	استاد، متخصص روانپزشکی، فلوشیپ نوروسایکیاتری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- دکتر فرزین پور فرزند	دکترای تخصصی زیست‌شناسی 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	استاد، متخصص مغز و اعصاب، فلوشیپ بیماری‌های حرکتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر علی حکمت‌نیا	استاد، متخصص رادیولوژی، فلوشیپ رادیولوژی مغز و اعصاب و کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۷- دکتر سید مرتضی حیدری	استاد، 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 خیرالهی	دانشیار، متخصص ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر مریم راداحمدی	دانشیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۳- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۴- دکتر محمدرضا شریفی	استاد، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۵- دکتر منصور شعله‌ور	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۶- دکتر رسول صالحی	استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۷- دکتر مسیح صبوری	استاد، متخصص جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر محمدرضا صفوی	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر خسرو عادل	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۳۰- دکتر سعید عندلیب جرتانی	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لوئیس ویل، آمریکا
۳۱- دکتر زیبا فرح‌زادگان	استاد، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۲- دکتر رویا کلیشادی	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۳- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر عزیز گهروی	استاد، متخصص جراحی پلاستیک، دانشگاه بریتیش کلمبیا، ونکور، کانادا
۳۵- دکتر پروین محزونی	استاد، متخصص آسیب‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۶- دکتر سید مهدی مدرس زاده	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۷- دکتر محمد مردانی	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۸- دکتر عطیه مغیثی	دانشیار، فوق تخصص غدد داخلی، مرکز دیابت و غددشناسی مارینا، آمریکا
۳۹- دکتر مرجان منصوریان	استادیار، دکترای تخصصی اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۰- دکتر محمدرضا نوربخش	استاد، متخصص فیزیوتراپی، کالج جرجیای شمالی، آمریکا
۴۱- دکتر مصطفی هاشمی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

راهنمای نویسندگان

مجله علمی پژوهشی دانشکده پزشکی اصفهان، در پایگاه‌های:

Scopus, EMBASE, Chemical Abstracts, Directory of Open Access Journals (DOAJ), Google Scholar, Islamic World Science Citation Center (ISC), WHO/EMRO/Index Medicus, Scientific Information Database (SID), Academic Search Complete EBSCO Publishing databases, Index Copernicus, Index Academicus, Iran Medex

نمایه می‌شود. این مجله هر هفته بصورت الکترونیکی، تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد.

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

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

- الف- مقالات پژوهشی اصیل: مقالات علمی- پژوهشی با حداکثر حجم ۲۵۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مآخذ ۳۰ عدد می‌باشد.
- ب- مقالات کوتاه پژوهشی: مقالات علمی کوتاه پژوهشی با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مآخذ ۱۵ عدد می‌باشد.
- ج- مقالات مروری: مقالات مروری (Review Article) از نویسندگان مجرب و صاحب مقالات پژوهشی در زمینه مورد بحث پذیرفته خواهد شد. اصول کلی نگارش مشابه سایر مقاله‌های پژوهشی است. این نوع مقالات با حداکثر ۷۰۰۰ کلمه می‌باشند. در فهرست منابع حداقل ۶ مرجع مورد استفاده می‌بایستی متعلق به نویسنده باشد (با حداقل چهار مقاله از شش مقاله به عنوان نویسنده اول و یا نویسنده مسؤل). مقالات مرور سیستماتیک و متآنالیز از این شرط مستثنی هستند.
- د- نامه به سردبیر: نامه به سردبیر می‌تواند نقد یکی از مقالات چاپ شده در این مجله باشد که با بحثی کوتاه، همراه با درج فهرست منابع نگاشته شود. همچنین نامه به سردبیر می‌تواند به صورت ارائه مشاهدات علمی حاصل از آخرین تحقیقات موجود در رابطه با یک موضوع مهم برای اطلاع رسانی به خوانندگان مجله تنظیم شده باشد. نامه به سردبیر با حداکثر ۵۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مآخذ ۵ عدد می‌باشد. در صورتیکه نامه به سردبیر در رابطه با نقد یک مقاله چاپ شده قبلی باشد، نقد مقاله برای نویسنده مسؤل مقاله مورد نقد، ارسال خواهد شد و همراه با پاسخ وی، در صورت تصویب شورای نویسندگان به چاپ خواهد رسید.
- ه- تحقیقات کیفی: تحقیقات کیفی با حداکثر ۳۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مآخذ ۳۰ عدد می‌باشد.
- ز- گزارش موردی: گزارش‌های موردی شامل گزارش موارد نادر یا جالب است و باید شامل چکیده، مقدمه، گزارش موردی، بحث، نتیجه‌گیری، سپاس‌گزاری و منابع باشد. گزارش موردی با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۵، سقف منابع و مآخذ ۱۵ عدد می‌باشد.

نحوه ارسال دست نوشته‌ها در سامانه الکترونیک مجله

لازم است ابتدا نویسندگان محترم پس از آماده سازی دست نوشته خود مطابق راهنمای نویسندگان این مجله و آماده نمودن فایل‌های مربوطه، در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی اصفهان به آدرس <http://jims.mui.ac.ir> وارد شده و از طریق لینک ثبت نام، نسبت به تکمیل مراحل ثبت نام (registration)، اقدام نمایند. پس از دریافت نام کاربری و رمز عبور می‌توانند وارد صفحه شخصی خود شده و مراحل ارسال دست نوشته را تکمیل نمایند. آن دسته از نویسندگان که برای بار دوم تصمیم به سابمیت دست نوشته جدید دارند، نیازی به ثبت نام مجدد نداشته و با نام کاربری و رمز عبور قبلی می‌توانند اقدام به سابمیت دست نوشته جدید نمایند. نویسندگان برای ارسال دست نوشته اصلاح شده خود باید از طریق صفحه شخصی قبلی خود اقدام نموده و به هیچ عنوان دوباره به عنوان کاربر جدید و با ایمیل جدید در سامانه ثبت نام نکنند.

از نویسندگان گرامی تقاضا می‌شود، در زمان ارسال دست نوشته خود، به نکات زیر توجه فرمایند:

۱. زبان رسمی مجله، فارسی است. لذا مقالات فقط به زبان فارسی (همراه با چکیده انگلیسی) قابل پذیرش هستند.

۲. دست نوشته باید پژوهشی و حاصل تحقیق نویسنده یا نویسندگان در زمینه علوم پزشکی پایه و بالینی بوده که پیش از این به انگلیسی یا فارسی در سایر مجلات منتشر نشده باشد و یا به طور همزمان به مجلات دیگر نیز ارسال نگردیده باشد. ضمناً نویسندگان محترم بعد از چاپ دست نوشته خود در مجله دانشکده پزشکی اصفهان، حق انتشار این دست نوشته را به زبان‌های دیگر در سایر مجلات ندارند. دست نوشته‌های ترجمه شده در این مجله مورد پذیرش قرار نمی‌گیرند.

۳. دست نوشته‌های منتج از تحقیقات کارآزمایی بالینی، لازم است، پیش از ارسال برای انتشار، در یکی از مراکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی مانند: مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران IRCT به آدرس: <http://www.irct.ir> ثبت شده و بعد از تایید آن، کد ۱۶رقمی تایید انجام کارآزمایی بالینی، در صفحه عنوان دست نوشته درج گردد.

۴. با توجه به اینکه فرآیند داوری به صورت Peer review و به صورت blind انجام می‌شود، لذا لازم است، متن اصلی دست نوشته فاقد اسامی و یا مشخصات نویسندگان و یا سایر همکاران در آن تحقیق باشد. لازم است، اسامی و سایر مشخصات نویسندگان دست نوشته (که طبق اصول اخلاق نشر، حق نویسندگی دارند) و قسمت تقدیر و تشکر، در فایل صفحه عنوان، درج گردند. بدیهی است، دست نوشته‌هایی که در متن اصلی آن‌ها، اسامی و مشخصات نویسندگان موجود باشد، به منظور اصلاح به نویسندگان عودت داده می‌شود.

۵. ارسال مقاله منحصراً از طریق سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی باید انجام شود لازم است، فقط نویسنده مسؤول (نویسنده پاسخگو) اقدام به سابمیت دست نوشته نماید. دست نوشته‌ی که توسط سایر نویسندگان یا اشخاص دیگر سابمیت شوند مورد بررسی قرار نخواهند گرفت.

۶. علاوه بر درج اسامی تمامی نویسندگان در صفحه عنوان، لازم است اسامی نویسندگان دست نوشته به همراه کد ORCID هر یک از آنان، در محل مربوطه در سامانه وارد گردد.

۷. پس از بارگذاری دست نوشته در سامانه مجله، تغییر اسامی نویسندگان تا قبل از صدور گواهی پذیرش، منوط به درخواست کتبی نویسنده مسؤول به همراه رضایت همه نویسندگان و ارائه دلیل منطقی برای این منظور می‌باشد. ولی پس از صدور گواهی پذیرش، امکان تغییر اسامی نویسندگان و یا جابجایی ترتیب نام نویسندگان، به هیچ عنوان امکان پذیر نمی‌باشد.

۸. فایل‌هایی که نویسندگان لازم است در مرحله اول در وب سایت الکترونیک این مجله به ترتیب آپلود نمایند، عبارتند از:

(۱) فایل متن اصلی دست نوشته، (۲) فایل صفحه عنوان، (۳) فایل تعهد نامه امضا شده، (۴) نامه به سردبیر (Cover letter). فایل‌های ارسالی می‌بایست صرفاً با فرمت word تهیه شود. ارسال فایل‌ها با فرمت PDF قابل قبول نمی‌باشد.

نحوه تنظیم فایل‌های اصلی

الف) صفحه عنوان: این صفحه باید شامل عنوان کامل دست نوشته، عنوان مکرری (عنوان کوتاه)، اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش، مؤسسه محل فعالیت ایشان و پست الکترونیکی همه نویسندگان. ذکر آدرس، تلفن، فاکس نویسنده مسؤول (نویسنده پاسخگو) دست نوشته ضروری می‌باشد.

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

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

تقدیر و تشکر: در این بخش تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند مورد تقدیر قرار گیرند؛ از جمله کسانی که کمک‌های فنی، نوشتاری و مالی داده و همچنین سرپرستان و مدیران بخش‌های محل انجام مطالعه که در امر پشتیبانی‌های عمومی در اجرای تحقیق فعالیت داشته‌اند. همچنین ذکر نام سازمان(های) حمایت‌کننده یا تأمین‌کننده مالی و یا حمایت‌های غیر مالی پژوهش در این بخش ضروری است.

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

ب) تعهدنامه: لازم است فرم تعهدنامه از قسمت راهنمای نویسندگان این مجله دانلود شده و توسط کلیه نویسندگان محترم دست نوشته به دقت مطالعه گردد. نویسنده مسؤول (نویسنده پاسخگو) دست نوشته، به نمایندگی از طرف کلیه نویسندگان دست نوشته، آنرا پرنیت نموده و بعد از تیک زدن گزینه‌ها، در پایان با خودکار امضا نمایند. سپس از فایل امضا شده، اسکن تهیه نمایند و همراه با فایل اصلی دست نوشته و فایل صفحه عنوان (و فایل نامه به سردبیر)، در وب سایت این مجله بارگذاری نمایند.

ج) فایل اصلی دست نوشته می‌بایست دارای قسمت‌های زیر به ترتیب باشد:

چکیده، مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع. فایل اصلی دست نوشته حتماً می‌بایست بدون نام نویسندگان باشد. در صورت نیاز نویسندگان می‌توانند فایل‌های اضافی حاوی جداول اضافی، تصاویر اضافی، پرسشنامه و چک لیست‌های مورد استفاده در این تحقیق را به عنوان فایل‌های ضمیمه با انتخاب گزینه "غیره" بارگذاری نمایند.

تذکر: برای بارگذاری فایل‌های اضافه لازم است نویسندگان یک بار از سامانه خارج شوند و پس از ورود مجدد، امکان بارگذاری فایل‌های اضافی برقرار می‌گردد.

د) نامه به سردبیر (Cover letter): در نامه به سردبیر، لازم است موارد زیر مورد توجه قرار گیرد:

- برجستگی کار این پژوهش را نشان می‌دهد به عبارت دیگر این تحقیق نسبت به شواهد موجود چه دستاورد جدیدی داشته است.
- اگر نتایج این تحقیق و یا بخشی از دست نوشته در کنفرانس‌ها، ارائه شده است، مشخصات کامل آن کنفرانس و شیوه ارائه داده‌های تحقیق حاضر را بیان نمایند.
- اگر دست نوشته حاضر قبلاً در این مجله ساب‌میت شده است و به هر دلیلی بایگانی شده است، ضمن اشاره به بایگانی شدن دست نوشته، شماره قبلی دست نوشته را بیان نمایند.

مشخصات چکیده

- دست نوشته‌ها باید دارای دو چکیده به زبان فارسی و انگلیسی باشند.
- تعداد کلمات چکیده بایستی حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد.
- چکیده بایستی شامل بخش‌های مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث و واژگان کلیدی باشد.
- چکیده انگلیسی بایستی دقیقاً معادل چکیده فارسی باشد و به ترتیب شامل بخش‌های **Keywords, Conclusion, Findings, Methods, Background** می‌باشد.
- واژگان کلیدی در پایان چکیده دست نوشته قرار می‌گیرد و شامل: سه الی پنج کلمه کلیدی که بایستی تنها با استفاده از راهنمای MeSH از آدرس (<http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>) استخراج گردند. {بهتر است کلمات کلیدی، از کلماتی انتخاب گردند که در جستجوهای بعدی خوانندگان این مقاله، به راحتی توسط موتورهای جستجوگر اینترنتی، کشف و به رؤیت آنان برسد و به عبارت دیگر، شانس دیده شدن این مقاله را در آینده بالا ببرد. بهتر است از کلمات کلیدی استفاده کنید که در عنوان دست نوشته نیامده‌اند زیرا خود عنوان دست نوشته نیز در موتور جستجوگرها نیز مورد توجه قرار می‌گیرد. بنابراین با انتخاب کلمات کلیدی که معرف مولفه‌های اصلی این تحقیق حاضر می‌باشند (اضافه بر کلمات ذکر شده در عنوان دست نوشته)، شانس دیده شدن مقالات در آینده بالا می‌رود.}

مشخصات متن اصلی دست نوشته

- قسمت مقدمه:

در این بخش، پیشینه تحقیق حاضر، سوالات موجود در مقابل محققین در رابطه با موضوع مورد تحقیق، آورده می‌شود. توجه گردد، نیازی به ارائه گسترده مطالب موجود در متون علمی منتشر شده نیست. لازم است در پاراگراف پایانی قسمت مقدمه دست نوشته، ضرورت اجرای این تحقیق به طور شفاف بیان شود. در واقع چرایی انجام این تحقیق حاضر، می‌بایست به درستی تبیین گردد. لازم است از کلی‌گویی خودداری شود و نوآوری‌های انجام شده در این تحقیق به طور برجسته بیان شود.

- روش‌ها:

در این قسمت لازم است، نوع مطالعه، زمان انجام مطالعه، مکان انجام مطالعه، جامعه آماری، معیارهای ورود و خروج به مطالعه و ابزارهای اندازه‌گیری به طور شفاف بیان شوند. 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 در فایل ضمیمه (آپلود نمودن در آیکون غیره) لازم است؛ شیوه تأمین روایی مشخص شود و توصیف دقیق فرآیند اجرایی برای رواسازی آن توضیح داده شود. چگونگی تعیین روش‌های مورد استفاده برای تأمین پایایی پرسش‌نامه و گزارش نتایج آزمون‌های آماری به کار گرفته شده جهت تأمین پایایی توضیح داده شود. در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

تبصره ۱: لازم است نویسندگان محترم هنگام بارگذاری دست نوشته، چک لیست‌های ارزیابی دست نوشته‌ها (متناسب با نوع دست نوشته، به عنوان مثال چک لیست و دیاگرام کنسورت برای مطالعات کارآزمایی بالینی) را تکمیل نموده و به عنوان فایل ضمیمه (آپلود نمودن در آیکون غیره) بارگذاری نمایند. چک لیست‌ها در وب سایت مجله در قسمت راهنمای نویسندگان، قابل بازیابی هستند.

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

تبصره ۲: ذکر کد اخلاق در پژوهش در همه مطالعات انسانی و حیوانی (به جز تحقیقات مروری) الزامی می‌باشد.

تبصره ۳: ذکر شماره شناسه مجوز کارآزمایی بالینی ۱۶ رقمی برگرفته از سامانه IRCT الزامی است.

- یافته‌ها:

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

- بحث:

بحث دست‌نوشته شامل پاراگراف‌های مختلف می‌باشد. در اولین پاراگراف این بخش، ابتدا با اشاره مختصر به دلیل اصلی انجام تحقیق، یافته اصلی 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.

در پاراگراف‌های بعدی، سایر یافته‌های اصلی و یا فرعی منتج از تحقیق حاضر، به ترتیب بیان می‌شوند و در مقایسه با نتایج گزارش شده از سایر تحقیقات دیگران، مورد نقد قرار می‌گیرد. لازم است، تفاوت‌های مشاهده شده در یافته‌های تحقیق حاضر در مقایسه با تحقیقات دیگران، و دلایل منطقی و یا احتمالی ایجادکننده این اختلافات، به بحث گذاشته شوند.

بهرتر است در یک پاراگراف جدا، محدودیت‌های تحقیق حاضر بیان شود.

در قسمت پایانی قسمت بحث دست‌نوشته، لازم است تحت عنوان نتیجه‌گیری (Conclusion)، به طور مختصر، یافته/ یافته‌های اصلی منتج از تحقیق حاضر، بیان شوند.

- تداخل منافع (Conflict of Interest):

در انتهای فایل اصلی دست‌نوشته (قبل از رفرنس‌ها)، نویسنده یا نویسندگان محترم می‌بایست، هرگونه منافع مادی مانند: دریافت هزینه، حق‌الزحمه، مواد و تجهیزات، از دانشگاه‌ها، سازمان‌ها، نهادها، شرکت‌ها و یا منافع غیر مادی (منافع اداری و یا شغلی) در سازمان‌های دولتی و یا شرکت و مؤسسات خصوصی را می‌بایست به طور شفاف بیان نمایند. همچنین لازم است مواردی که انتشار یافته‌های مطالعه می‌تواند به آن‌ها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.

* الگوی تدوین دست‌نوشته‌ها

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

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

به دست‌نوشته‌هایی که خارج از فرمت ذکر شده ارسال گردند ترتیب اثر داده نخواهد شد.

- جدول‌ها:

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

- تصویر و نمودار:

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

تبصره ۱- اگر شکل یا جدولی از مرجع دیگری اخذ شده است، شماره مرجع در آخر عنوان جدول یا شکل نوشته شود و مشخصات مأخذ در بخش مراجع درج شود.

- اختصارات و نشانه‌ها:

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

- در مورد هر کدام از عبارات‌های اختصاری که برای اولین بار در متن آورده شود، لازم است کلمات کامل آن عبارت اختصاری بیان شود (مگر این که مربوط به مقیاس‌ها و مقادیر استاندارد شناخته شده باشد).

- منابع:

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

- اگر منبع مورد نظر، یک مقاله چاپ شده است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

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

ششم، از عبارت "et al." استفاده شود.)

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

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

نمونه انگلیسی:

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

نمونه فارسی:

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

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

- منابع به صورت پایان‌نامه:

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

- منابع به صورت الکترونیکی - مجله الکترونیکی روی اینترنت:

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان مقاله (.) نام اختصاری مجله الکترونیکی (فاصله) [online] (سال نشر و ماه نشر در صورت لزوم) (:) دوره (شماره) (:) [شماره صفحات یا قاب‌ها] (.) [روز، ماه و سال دسترسی cited] (:) Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال: Mosharraf R, Hajian F. Occlusal morphology of the mandibular first and second premolars in Iranian adolescents. Inter J Dental Anthropol [Online] 2004; 5: [3 Screens] [cited 2006 Nov 13]; Available from: <http://www.jida.syllabapress.com/abstractsijda5.shtml>

- منابع به صورت صفحه وب:

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده [یا شرح پدیدآور] (.) عنوان (.) سال نشر در صورت دسترسی (:) [شماره صفحات یا قاب‌ها] [روز، ماه و سال دسترسی cited] (:) Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال: Dentsply Co. BioPure (MTAD) Cleanser. [2 screens] [cited 2006 Nov 26]. Available from: www.store.tulsadental.com/catalog/biopure.html

هزینه انتشار مقاله

انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است.

بعد از بارگذاری دست نوشته در وب سایت این مجله، دست نوشته‌ها توسط سردبیر مجله از لحاظ: موضوعی (نوآوری برای خوانندگان) و ساختاری و رعایت بخش‌های اصلی دست نوشته (طبق راهنمای نویسندگان این مجله) مورد بررسی اولیه قرار می‌گیرد. در صورت تایید اولیه دست نوشته توسط سردبیر، هزینه کل انتشار دست نوشته همراه با هزینه ساب‌میشن، محاسبه و از طریق پست الکترونیک به نویسنده مسؤول (نویسنده پاسخگو) دست نوشته اعلام می‌گردد. جدول آخرین مصوبه هیئت امنای دانشگاه علوم پزشکی اصفهان برای هزینه انتشار دست نوشته‌ها در مجله دانشکده پزشکی در زیر آمده است.

نکات مهم:

- طبق مصوبه هیئت امنای دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، هزینه ساب‌میشن، ۵۰٪ هزینه کل انتشار دست نوشته طبق جدول زیر می‌باشد: (مثلاً ۴۵۰۰۰۰۰ ریال برای دست نوشته‌های پژوهشی اصیل، مروری) می‌باشد.
- شروع فرآیند بررسی صرفاً منوط به پرداخت هزینه کارشناسی و ثبت فیش پرداختی در سایت مجله خواهد بود.
- پرداخت هزینه ساب‌میشن، فقط برای شروع و انجام فرآیند بررسی می‌باشد و تعهدی برای پذیرش دست نوشته ایجاد نمی‌کند.
- عدم پرداخت هزینه کارشناسی دست نوشته در مهلت مقرر به منزله انصراف از ادامه فرآیند کارشناسی محسوب می‌شود.
- وجوه واریز شده اولیه جهت کارشناسی دست نوشته (هزینه ساب‌میشن) حتی در صورت رد دست نوشته، غیرقابل برگشت می‌باشد.

جدول نحوه محاسبه هزینه‌های دریافتی برای انتشار دست نوشته‌ها در مجله دانشکده پزشکی اصفهان

نوع دست نوشته	تعداد کلمات مجاز	هزینه چاپ (ریال)	توضیحات
پژوهشی اصیل	۲۵۰۰	۹۰۰۰۰۰۰	در صورتی که تعداد کلمات مقاله از سقف مجاز بیشتر باشد در قبال هر ۵۰۰ کلمه اضافی، مبلغ ۱۰۰ هزار تومان به هزینه مقاله اضافه می‌شود.
مروری	۷۰۰۰	۹۰۰۰۰۰۰	
پژوهشی اصیل (مطالعات کیفی)	۳۰۰۰	۵۰۰۰۰۰۰	
گزارش مورد	۱۰۰۰	۲۵۰۰۰۰۰	
کوتاه	۱۰۰۰	۲۵۰۰۰۰۰	
نامه به سردبیر	۵۰۰	رایگان	

برای محاسبه هزینه دست نوشته، تعداد کل کلمات دست نوشته شامل: کلمات متن اصلی دست نوشته و منابع می‌گردد. (بدون در نظر گرفتن کلمات چکیده فارسی و انگلیسی، تا ۴ جدول و ۲ تصویر).

به ازای هر نمودار یا تصویر اضافی، تعداد ۳۰۰ کلمه به تعداد کلمات دست نوشته اضافه می‌گردد.

در صورت کاهش حجم دست نوشته در طول فرآیند کارشناسی، هزینه انتشار دست نوشته، کاهش می‌یابد.

در صورت پذیرش نهایی دست نوشته، هزینه باقیمانده به عنوان هزینه انتشار دریافت خواهد شد.

فیش پرداختی باید بنام نویسنده مسؤول باشد.

فیش پرداختی با کیفیت مطلوب اسکن شده و همزمان با بارگذاری دست نوشته، آپلود گردد.

فهرست مطالب

- ارزیابی خاصیت ضد سرطانی درمان جدید پلاسمای اتمسفری سرد با حساس کننده‌ی نوری ایندوسیانین گرین در مهار سلول‌های
ملانوما ۲۷۲
سارا مومنی، احمد شائقی، آمنه سازگارنیا، ندا عطاران، سید امیر آل داود
- تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی *Dracocephalum Kotschy* روی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک رات ۲۷۸
امیرمهدی صفاری، فوزیه زادهوش، افسانه یگدانه، علی حسینی شریف آباد، اردشیر طالبی، حسن صدراپی
- فعالیت پروتئازی در ساب تایپ‌های مختلف بلاستوسیتیس در اصفهان ۲۸۸
فرزین خسروی دانش، سمیه موسوی مبارکه، حسین یوسفی دارانی، زهرا غیور نجف‌آبادی

ارزیابی خاصیت ضد سرطانی درمان جدید پلاسمای اتمسفری سرد با حساس‌کننده‌ی نوری ایندوسیاین گرین در مهار سلول‌های ملانوما

سارا مومنی^۱، احمد شائنی^۲، آمنه سازگارنیا^۳، ندا عطاران^۴، سید امیر آل داود^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ملانوما، یکی از کشنده‌ترین سرطان‌های پوست می‌باشد که اثربخشی درمان‌های رایج بر روی آن، چشمگیر نمی‌باشد. پلاسمای اتمسفری سرد، راهکاری جدید در درمان سرطان محسوب می‌شود. این مطالعه با هدف ارزیابی اثر فوتوداینامیک پلاسمای سرد در حضور حساس‌کننده‌ی نوری ایندوسیاین گرین بر رده‌ی سلولی ملانوما انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه، از دستگاه پلازما با گاز هلیوم در حضور ایندوسیاین گرین جهت تیمار رده‌ی سلولی ملانوما (DFW) استفاده شد. بدین منظور، ابتدا غلظت بهینه‌ی ایندوسیاین گرین پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون با استفاده از تست MTT مشخص گردید. سپس سلول‌ها با و بدون حضور ایندوسیاین گرین تحت تابش پلاسمای سرد در زمان‌های مختلف ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ ثانیه قرار گرفتند. درصد بقای سلول‌ها ۴۸ ساعت بعد از درمان با پلاسمای سرد با استفاده از آزمون MTT ارزیابی شدند.

یافته‌ها: درمان پلاسمای سرد اثر سمیتی وابسته به زمان ایجاد می‌کند. درصد بقای سلول‌های تیمار شده با پلاسمای سرد در حضور ایندوسیاین گرین به طور معنی‌داری نسبت به سلول‌های تیمار نشده کاهش یافت. بیشترین کاهش درصد بقا در گروه درمانی، ۹۰ ثانیه پلاسمای سرد و غلظت ۲۰ میکرومولار (Indocyanine green) ICG مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: مطالعه‌ی حاضر، خاصیت ضدسرطانی پلاسمای اتمسفری سرد را در درمان سلول‌های ملانوما تأیید کرد. همچنین نشان داد که پلازما می‌تواند جایگزین مناسبی در درمان فوتوداینامیک باشد و ایندوسیاین گرین حساس‌کننده‌ی نوری مناسبی در درمان با پلازما خواهد بود.

واژگان کلیدی: ملانوما؛ فوتوداینامیک تراپی؛ پلاسمای سرد؛ ایندوسیاین گرین

ارجاع: مومنی سارا، شائنی احمد، سازگارنیا آمنه، عطاران ندا، آل داود سید امیر. ارزیابی خاصیت ضد سرطانی درمان جدید پلاسمای اتمسفری سرد با

حساس‌کننده‌ی نوری ایندوسیاین گرین در مهار سلول‌های ملانوما. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۶۹): ۲۷۷-۲۷۲

روش‌های درمان ملانوما بسته به مرحله‌ی بیماری می‌توانند جراحی، شیمی‌درمانی، پرتودرمانی و یا ترکیبی از آن‌ها باشد. با وجود پیشرفت‌های اخیر در درمان سرطان، ملانوما به خاطر مقاومت پرتوی، دارویی، متاستاز بالا و از طرف دیگر، عملکرد غیر انتخابی روش‌های رایج درمان، به سختی درمان می‌گردد. لذا محققان به دنبال یافتن درمان‌های جایگزین و یا ترکیبی همراه با کارایی بالا و عوارض

مقدمه

ملانوما، یکی از شایع‌ترین انواع سرطان پوست و ناشی از رشد بدخیم سلول‌های ملانوسیت است. ملانوما در رده‌ی سرطان‌های پوست، از کشنده‌ترین انواع سرطان‌ها بوده و با وجود جزئی از ۳ درصد از کل سرطان پوست، میزان مرگ و میر بالایی داشته و حدود ۷۵ درصد از مرگ و میرهای ناشی از سرطان پوست را شامل می‌شود (۱).

۱- دانشجوی دکترای تخصصی فیزیک پزشکی، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، اصفهان، ایران

۲- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات فیزیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۴- استادیار، گروه نانوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات بیوفوتونیک، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۵- دانشیار، گروه آنکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: احمد شائنی؛ استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

روی رده‌ی سلولی DFW در شارش زمان‌های مختلف پردازیم.

روش‌ها

این مطالعه‌ی درون آزمایشگاهی، طی فروردین تا شهریور ماه ۱۴۰۰ در مرکز تحقیقات فیزیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. رده‌ی سلولی و شرایط کشت آن‌ها: سلول‌های سرطانی ملانوما رده‌ی DFW از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط کشت RPMI-1640 و ۱۰ درصد FBS (Fetal bovine serum) در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد CO₂ نگهداری شدند. محیط کشت، هر ۴۸ ساعت تعویض گردید.

RPMI-1640 و FBS از شرکت Gibco، MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-Diphenyltetrazolium bromide، Trypsin-EDTA و Trypan blue از شرکت Sigma Aldrich و ICG از شرکت Merck خریداری شدند.

مشخصات دستگاه پلاسمای سرد: دستگاه پلاسمای مورد استفاده در پژوهش حاضر، پلاسما جت اتمسفری سرد می‌باشد که از جمله مزایای آن کاربری آسان، قیمت اقتصادی مناسب، سرعت بالا و باریک بودن نازل است، به طوری که شارش سوزنی آن امکان دسترسی پلاسما به کل فضای چاهک را ایجاد می‌کند. برای ایجاد پلاسمای سرد، از گاز سبک هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹ درصد استفاده شد. برای ایجاد میدان الکتریکی از یک منبع تغذیه با ولتاژ ورودی ۲۲۰ ولت شهری و خروجی ۱۳ کیلوولت پیک تو پیک استفاده گردید. مخلوط گاز با فشار ۵-۴ لیتر در دقیقه وارد نازل دستگاه شد و در مجاورت سیم‌پیچ درون لوله‌ی پیرکس در حضور میدان الکتریکی، به پلاسما تبدیل و از نازل به رنگ بنفش پررنگ خارج گردید.

طیف جذب پلاسما و ICG: به منظور شناسایی محتوای خروجی CAP از دستگاه اسپکتروسکوپی نشری نوری (Optical emission spectroscopy) OES ساخت کشور هلند در طول موج‌های ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر استفاده شد. همچنین جهت اندازه‌گیری طیف جذب ICG از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Visible ساخت شرکت UNICO آمریکا مدل UV-2100 در طول موج‌های ۴۰۰ تا ۸۵۰ نانومتر استفاده گردید.

تست سمیت ICG: زمانی که تراکم سلولی به ۸۰ درصد در هر فلاسک رسید، سلول‌ها تریپسینه (Trypsinization) و از کف فلاسک جدا شدند و با استفاده از رنگ تریپان‌بلو، لام نئوبار و میکروسکوپ نوری، تعداد 1×10^4 سلول به ازای هر چاهک پلیت ۹۶ خانه شمارش شده و درصد بقای سلولی تعیین شد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، سلول‌ها با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میکرومولار از ICG به مدت ۲۴ ساعت انکوبه و پس از

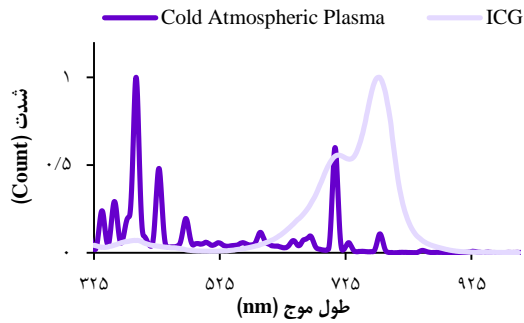
جانبی کمتر می‌باشند. از جمله این درمان‌ها می‌توان به درمان فوتودینامیک که روشی غیرتهاجمی است، اشاره کرد (۲). در این روش از یک حساس‌کننده‌ی نوری و یک منبع نور با طول موج مناسب مانند لیزر جهت فعال‌سازی حساس‌کننده استفاده می‌گردد که البته با مشکلاتی از جمله محدودیت در درمان تومورهای عمقی، ایجاد هایپوکسی در تومور به سبب آسیب عروقی و آسیب به بافت‌های سالم اطراف تومور به علت عدم انتخاب‌پذیری همراه می‌باشد (۳).

پلاسمای اتمسفری سرد (CAP (Cold atmospheric plasma به عنوان روشی جدید در درمان سرطان در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است که می‌تواند عوارض درمان فوتودینامیک را رفع و حتی جایگزین مناسبی گردد، جهت اثبات این مدعا Wang و همکاران از حساس‌کننده‌ی نوری PPIX (۴) و Karami و همکاران از 5-ALA (۵) در درمان با CAP استفاده نمودند و به نتایج قابل قبولی دست یافتند.

پلاسما، حالتی از ماده است که در دمای بسیار بالا به وجود می‌آید و در این وضعیت ساختار مولکولی خود را از دست می‌دهد. پلاسما، گازی یونیزه شامل ذرات باردار، یون، اتم، رادیکال آزاد و مولکول‌های برانگیخته می‌باشد که دائم در حال برهم‌کنش با یکدیگر هستند و به دو نوع پلاسمای سرد و گرم تقسیم می‌گردد. پلاسمای سرد با تخلیه‌ی الکتریکی تولید شده و کاربرد درمانی دارد (۶). علاوه بر این، قابلیت تولید رادیکال‌های آزاد و اثرات ضد سرطانی آن به اثبات رسیده است؛ به این صورت که رادیکال‌های تولید شده توسط پلاسما با تغییر نسبت بیان ژن‌های BAX/BCL-2 سلول را در مسیر آپتوز سلولی قرار می‌دهند (۷).

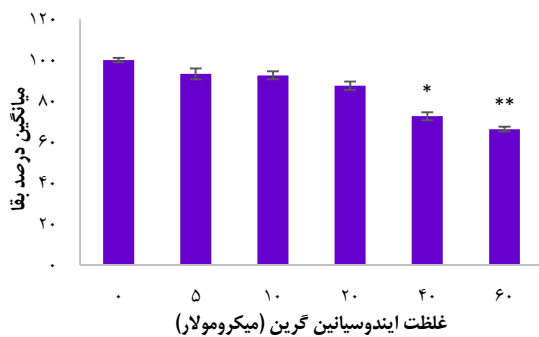
Young و همکاران اثر پلاسمای سرد را بر روی رده‌های سلولی کارسینومای ریه بررسی کردند و نشان دادند که این نوع پلاسما، اثرات ضد تکثیر و القای آپتوزی دارد (۸).

ایندوسیاینین گرین (ICG (Indocyanine green، یک حساس‌کننده‌ی نوری مناسب در PDT (Photodynamic therapy) و مورد تأیید سازمان غذا و داروی آمریکا (Food and Drug Administration) FDA به علت حداقل سمیت و ایمنی بالا می‌باشد (۹). علاوه بر این، موارد طیف جذبی نسبتاً پهنی در ناحیه‌ی مرئی و فروسرخ نزدیک ایجاد می‌کند که مطابقت بسیار خوبی با طول موج‌های گسیلی پلاسمای سرد خواهد داشت. لذا در این مطالعه، ICG به عنوان حساس‌کننده‌ی نوری و پلاسمای اتمسفری سرد هلیوم، به عنوان منبع نوری جدید در درمان فوتودینامیک مورد استفاده قرار خواهد گرفت. در این مطالعه سعی بر آن بوده است که به بررسی تأثیر درمانی پلاسمای اتمسفری با و بدون حضور حساس‌کننده‌ی نوری ICG بر



شکل ۱. هم‌پوشانی قله‌ی جذب ICG (Indocyanine green) و قله‌ی نشر مولد پلاسمای اتمسفری سرد با گاز هلیوم

اثر سمیت ICG بر سلول‌های ملانوما: نتایج تست MTT برای سلول‌های DFW با غلظت‌های مختلف ICG در شکل ۲، نشان دهنده‌ی کاهش بقای سلول‌ها با افزایش غلظت ICG می‌باشد. به طوری که در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ میکرومولار، درصد بقای سلول‌ها به ترتیب ۹۳، ۹۲، ۸۶، ۷۲ و ۶۶ درصد اندازه‌گیری گردید. به این ترتیب غلظت IC₁₀ و IC₁₅ (غلظتی که به ترتیب منجر به ۱۰ و ۱۵ درصد مرگ و میر در سلول‌های کشت داده شده می‌گردد) از داروی ICG در حدود ۱۰ و ۲۰ میکرومولار به دست آمد که به عنوان غلظت بهینه جهت درمان با پلاسما انتخاب گردیدند.



شکل ۲. میانگین و انحراف معیار درصد بقای سلول‌ها با غلظت‌های مختلف ایندوسیاینین گرین (**): $P < 0/01$ ، (*): $P < 0/05$

اثر سمیت پلاسما در حضور ICG بر روی سلول‌های سرطانی ملانوما: میزان بقای سلول‌های ملانوما در زمان‌های مختلف تابش‌دهی با پلاسما و غلظت‌های مختلف ICG در شکل ۳ نشان داده شده است. از مقایسه‌ی بقای سلول‌ها در زمان تابش ۱۵ ثانیه اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد ($P > 0/05$) ولی با افزایش زمان تابش پلاسما، درصد بقای سلول‌ها کاهش معنی‌داری پیدا کرد به گونه‌ای که پس از ۹۰ ثانیه درمان در گروه بدون دارو، درصد بقا به ۳۵ درصد رسید ($P < 0/05$). همچنین میزان بقای سلول‌ها در درمان

شستشوی سلول‌ها، درصد بقا با آزمون MTT تعیین گردید.

بررسی اثر پلاسمای سرد بر روی سلول‌ها با و بدون حضور ICG سلول‌ها پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون با غلظت‌های ۰، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار از ICG به عنوان گروه‌های درمانی، دو مرتبه با PBS شستشو داده شدند و سپس ۱۰۰ میکرولیتر محیط ۳ درصد به هر چاهک افزوده شد و سلول‌ها با و بدون حضور ICG تحت تابش CAP در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ ثانیه قرار گرفتند. فاصله‌ی پروب پلاسما جت تا کف چاهک ۲cm تنظیم شد. پس از اتمام درمان، مجدداً ۱۰۰ میکرولیتر محیط ۱۷ درصد به هر چاهک افزوده شد تا غلظت نهایی ۱۰ درصد FBS به دست بیاید. در نهایت تست MTT پس از ۴ ساعت انکوباسیون بر روی آن‌ها انجام گرفت. برای هر گروه حداقل سه بار تکرار در نظر گرفته شد.

سنجش بقای سلولی با استفاده از MTT: جهت بررسی درصد بقای سلول‌های هدف با پلاسما و کنترل از آزمون (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide) MTT استفاده شد. در این روش، رنگ زرد تترازولیوم (Tetrazolium) محلول در آب توسط سوکسینات دهیدروژناز (Succinate dehydrogenase) میتوکندری سلول‌های زنده و فعال، احیاء و به ترکیب رنگی فورمازان نامحلول تبدیل می‌شود. این رنگ با حلال آلی (Dimethyl sulfoxide) DMSO حل شده و شدت رنگ در طول موج ۵۷۰ نانومتر متناسب با میزان سلول‌های زنده سنجیده می‌شود. بر این اساس، ۱۰۰ میکرولیتر محیط RPMI و ۱۰ میکرولیتر محلول MTT به هر چاهک پلیت افزوده شد. پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه و محیط تاریک برای تشکیل کریستال‌های فورمازان انکوبه گردیدند. در مرحله‌ی بعد، محیط رویی هر چاهک خارج شده و ۲۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک افزوده شد. جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر به وسیله‌ی دستگاه ELISA reader (AWARENESS) مدل ۳۲۰۰، اندازه‌گیری و درصد بقای سلولی در هر نمونه در مقایسه با گروه شاهد محاسبه گردید. نتایج حاصل توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) و روش آماری آنالیز واریانس (ANOVA) در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تحلیل شد.

یافته‌ها

طیف جذب گسیلی پلاسما و ICG: طیف پلاسمای سرد و ایندوسیاینین گرین با استفاده از اسپکتروفوتومتر UV-Visible و اسپکترومتر اندازه‌گیری شده در شکل ۱ نشان داده شده است.

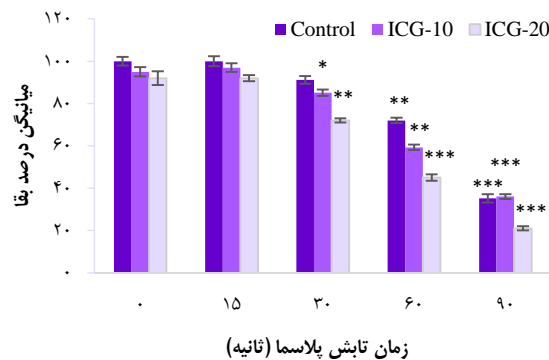
با توجه به شکل ۳، در درمان سلول‌ها بدون حضور ICG، یک روند نزولی در درصد بقای سلول‌ها با افزایش زمان تابش پلاسما مشاهده می‌گردد که در زمان‌های ۱۵ و ۳۰ ثانیه تابش پلاسما، این تفاوت معنی‌دار نبوده است ولی در زمان‌های بالاتر ۶۰ و ۹۰ ثانیه به ترتیب درصد بقای سلول‌ها کاهش می‌یابد. در حدود ۷۲ و ۳۵ درصد داشته است.

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، پیک نشری پلاسمای سرد هلیوم و حساس‌کننده‌ی نوری ICG، مطابقت خوبی باهم دارند و با توجه به نتایج این مطالعه مشخص شده است، ICG سبب مهار رشد سلول‌های ملانوما و افزایش اثرات پلاسمای سرد می‌گردد. روند کاهش درصد بقای سلول‌ها در درمان پلاسما در حضور ICG نمود بیشتری پیدا کرد، طوری که در غلظت ۱۰ میکرومولار و ۳۰ ثانیه تابش پلاسما تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده گردید که با افزایش زمان تابش، این تفاوت بیشتر شد. با افزایش غلظت ICG به ۲۰ میکرومولار، میزان بقا نسبت به گروه شاهد و غلظت کمتر، کاهش معنی‌داری در درصد بقای سلول‌ها اندازه‌گیری شد. در این غلظت پس از ۶۰ ثانیه تابش پلاسما باعث کاهش بقای سلول‌ها به کمتر از ۵۰ درصد منجر گردید و پس از ۹۰ ثانیه به ۲۱ درصد کاهش یافت که این نتایج مطابقت خوبی با نتایج مطالعه‌ی Vajdani Noghreiyani و همکاران داشت (۱۲)؛ لذا پلاسمای سرد به همراه ICG در مقایسه با سایر داروهای ضدتوموری مانند دی سولفیرام و یا ایزوفلاون جینستین که معمولاً حداکثر ۳۰ درصد سلول‌ها را دچار آپتوز می‌کنند، کارایی بسیار بالاتری دارد (۱۳). به علاوه در مقایسه‌ی درمان پلاسما در بازه‌ی زمانی مشابه ولی بدون حضور ICG، تأثیر سمیت کمتری مشاهده گردید که این اثباتی بر اثر فوتوداینامیک در درمان با پلاسمای سرد است که ICG به عنوان یک حساس‌کننده‌ی نوری مناسب در افزایش اثربخشی این درمان مؤثر می‌باشد. با این وجود، مکانسیم‌های مولکولی سمیت پلاسما، بررسی اثر سایر حساس‌کننده‌های نوری در درمان با پلاسما و توانایی انتخاب‌پذیری آن نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، به منظور مهار عوامل محدودکننده‌ی کارایی فوتوداینامیک‌تراپی و در راستای بهبود روش‌های درمانی سرطان ملانوما، مطالعه بر روی اثر فوتوداینامیک ICG در درمان با پلاسمای اتمسفری سرد بر روی رده‌ی سلولی DFW طراحی شد. نتایج حاکی از آن بود که پلاسمای سرد، خاصیت ضد سرطانی ایجاد می‌کند و این اثر با افزایش زمان تابش تقویت می‌گردد. همچنین افزایش اثربخشی درمان در حضور حساس‌کننده‌ی نوری ICG اثباتی بر اثر فوتوداینامیک ناشی از درمان پلاسمای سرد می‌باشد، لذا می‌توان از آن

پلاسما با حضور ICG نسبت به گروه بدون دارو، کاهش معنی‌داری پیدا کرد که این نتیجه می‌تواند مهر تأییدی بر حساس‌کنندگی نوری ICG در درمان فوتوداینامیک با پلاسمای سرد باشد. این کاهش بقا با افزایش میزان غلظت ICG به ۲۰ میکرومولار و زمان درمان ۹۰ ثانیه به بیشترین میزان یعنی ۲۱ درصد رسیده است که دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد می‌باشد ($P < 0/01$) (شکل ۳).



شکل ۳. میانگین و انحراف معیار درصد بقای سلول‌ها در غلظت‌های مختلف ICG (Indocyanine green) و زمان‌های مختلف تابش پلاسمای سرد ($P < 0/05$; *; $P < 0/01$; **; $P < 0/001$; ***)

بحث

مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی خاصیت ضد سرطانی درمان با پلاسمای اتمسفری سرد هلیوم و همچنین اثرات فوتوداینامیک آن با استفاده از حساس‌کننده‌ی نوری ICG بر روی رده‌ی سلولی ملانوما می‌باشد. ملانوما، یکی از کشنده‌ترین انواع سرطان‌های پوست محسوب می‌شود که نسبت به درمان‌های رایج نیز بسیار مقاوم است. محققان به دنبال یافتن درمان‌های جایگزین و یا مکمل با کارایی بالاتر و عوارض جانبی کمتر می‌باشند. فوتوداینامیک‌تراپی یکی از درمان‌های غیر تهاجمی است که در کنار مزایای فراوان با مشکلاتی از جمله محدودیت در درمان تومورهای عمقی، ایجاد هایپوکسی در تومور به سبب آسیب عروقی و آسیب به بافت‌های سالم اطراف تومور به علت عدم انتخاب‌پذیری درمان همراه می‌باشد (۳). پلاسمای اتمسفری سرد به عنوان روشی جدید در درمان سرطان در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است که می‌تواند عوارض درمان فوتوداینامیک را رفع و حتی جایگزین مناسبی گردد. ماهیت پلاسما به خاطر وجود رادیکال‌های آزاد فراوان می‌تواند منجر به مرگ سلول‌های توموری گردد (۱۰) و تفاوت در عملکرد سلول‌های سالم و تومور در مکانسیم آنتی‌اکسیدانی سبب انتخاب‌پذیری بیشتر درمان پلاسمای سرد گردیده است. علاوه بر آن می‌توان به استفاده از روش غیرمستقیم جهت درمان تومورهای عمقی‌تر استفاده نمود (۱۱).

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دکترای تخصصی فیزیک پزشکی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره پایان‌نامه‌ی ۳۹۹۸۲۵ می‌باشد. کلیه‌ی مراحل این مطالعه در دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام گردیده است. بدین‌وسیله از سرکار خانم سودمند کارشناس مرکز تحقیقات فیزیک پزشکی مشهد که در انجام این پژوهش همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

به عنوان منبع نوری جدیدی در درمان فوتوداینامیک استفاده نمود که مزایای بیشتر و عوارض کمتری نسبت به سایر منابع لیزری ایجاد خواهد کرد. فرایندهای مؤثر در بهبود کارآیی درمان مورد مطالعه را می‌توان شامل تأثیر مستقیم پلازما به واسطه‌ی تولید رادیکال‌های آزاد و اثر فوتوداینامیک حاصل از ICG با استفاده از منبع نوری پلاسمای هلیوم دانست. به طور خلاصه، این مطالعه شواهد اولیه‌ی مؤثری در مورد درمان CAP با ICG را ارائه می‌دهد.

References

1. Steglich RB, de Paula Alves Coelho KM, Cardoso S, da Costa Naumann Gaertner MH, Cestari TF, Franco SC. Epidemiological and histopathological aspects of primary cutaneous melanoma in residents of Joinville, 2003-2014. *An Bras Dermatol* 2018; 93(1): 45-53.
2. Lo PC, Rodríguez-Morgade MS, Pandey RK, Ng DKP, Torres T, Dumoulin F. The unique features and promises of phthalocyanines as advanced photosensitisers for photodynamic therapy of cancer. *Chem Soc Rev* 2020; 49: 1041-56.
3. Lin L, Wang L, Liu Y, Xu C, Tu Y, Zhou J. Non-thermal plasma inhibits tumor growth and proliferation and enhances the sensitivity to radiation in vitro and in vivo. *Oncol Rep* 2018; 40(6): 3405-15.
4. Wang M, Geilich BM, Keidar M, Webster TJ. Killing malignant melanoma cells with protoporphyrin IX-loaded polymersome-mediated photodynamic therapy and cold atmospheric plasma. *Int J Nanomedicine* 2017; 12: 4117-27.
5. Karami-gadallo L, Ghoranneviss M, Ataie-fashtami L, Pouladian M. Author's Accepted Manuscript. *Clin Plasma Med* 2017; 17: 4007
6. von Woedtke T, Schmidt A, Bekeschus S, Wende K, Weltmann KD. Plasma medicine: A field of applied redox biology. *In Vivo* 2019; 33(4): 1011-26.
7. Almeida-ferreira C, Silva-teixeira R, Gonçalves AC, Marto CM, Sarmiento-Ribeiro AB, Caramelo F, et al. Cold atmospheric plasma apoptotic and oxidative effects on MCF7 and HCC1806 human breast cancer cells *Int J Mol Sci* 2022; 23(3): 1698.
8. Kim JY, Ballato J, Foy P, Hawkins T, Wei Y, Li J, et al. Biosensors and Bioelectronics Apoptosis of lung carcinoma cells induced by a flexible optical fiber-based cold microplasma. *Biosens Bioelectron* 2011; 28(1): 333-8.
9. Caesar J, Shaldon S, Chiandussi L, Guevara L, Sherlock S. The use of indocyanine green in the measurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function. *Clin. Sci* 1961; 21: 43-57.
10. Schuster M, Rutkowski R, Hauschild A, Shojaei RK, von Woedtke T, Rana A, et al. Side effects in cold plasma treatment of advanced oral cancer—Clinical data and biological interpretation. *Clin Plasma Med* 2018; 10: 9-15.
11. Saadati F, Mahdikia H, Abbaszadeh HA, Abdollahifar MA, Khoramgah MS, Shokri B. Comparison of direct and indirect cold atmospheric-pressure plasma methods in the B₁₆ F₁₀ melanoma cancer cells treatment. *Sci Rep* 2018; 8(1): 7689.
12. Vejdani Noghreiyani A, Imanparast A, Shayesteh Ara E, Soudmand S, Vejdani Noghreiyani V, Sazgarnia A. In-vitro investigation of cold atmospheric plasma induced photodynamic effect by Indocyanine green and Protoporphyrin IX. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2020; 31: 101822.
13. Weiss M, Gumbel D, Hanschmann EM, Mandelkow R, Gelbrich N, Zimmermann U, et al. Cold atmospheric plasma treatment induces anti-proliferative effects in prostate cancer cells by redox and apoptotic signaling pathways. *PLoS One* 2015; 10(7): e0130350.

Evaluation of Anti-Cancer Effect of Cold Atmospheric Plasma as a New Treatment and Indocyanine Green as a Photosensitizer in Inhibition of Melanoma Cell Line

Sara Momeni¹, Ahmad Shanei², Ameneh Sazgarnia³,
Neda Attaran⁴, Seyed Amir Aledavood⁵

Original Article

Abstract

Background: Melanoma is one of the deadliest types of skin cancers. The efficacy of current treatments is not significant. Cold atmospheric plasma (CAP) is a new modality for cancer treatment. This study aimed to evaluate the photodynamic effects of Indocyanine green in cold plasma on melanoma cell line.

Methods: In this study, helium based cold plasma and Indocyanine green were used to treat DFW cells. In this respect, at first the optimal concentration of Indocyanine green was determined by MTT test after an overnight incubation. Then cells were treated to cold plasma with and without Indocyanine green in different times such as 15, 30, 60 and 90 s. The cell survival rate was evaluated by MTT test 48 h after CAP treatment.

Findings: Cold plasma treatment produces cytotoxic cell with a time dependent decline. The survival rate was significantly reduced in treated cells to cold plasma and Indocyanine green compared to untreated cells. The viability decreased significantly in the cells treated to cold plasma. The most reduction in survival rate was observed in treated cells to cold plasma for 90 s and Indocyanine green with 20 μ M concentration.

Conclusion: This study approved anti-cancer effect of cold plasma on melanoma cells. In addition, it showed that CAP can be a good alternative to photodynamic therapy and Indocyanine green also a great photosensitizer at cold plasma treatment.

Keywords: Melanoma; Photodynamic therapy; Cold plasma; Indocyanine green

Citation: Momeni S, Shanei A, Sazgarnia A, Attaran N, Aledavood SA. **Evaluation of Anti-Cancer Effect of Cold Atmospheric Plasma as a New Treatment and Indocyanine Green as a Photosensitizer in Inhibition of Melanoma Cell Line.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(669): 272-7.

1- PhD Student, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences Isfahan, Iran

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

3- Professor, Medical Physics Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

4- Assistant Professor, Department of Medical Nanotechnology, Applied Biophotonics Research Center, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

5- Associate Professor, Department of Radiation Oncology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Corresponding Author: Ahmad Shanei, Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: shanei@med.mui.ac.ir

تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی *Dracocephalum Kotschy* روی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک راتامیرمهدی صفاری^۱، فوزیه زادهوش^۲، افسانه یگدانه^۳، علی حسینی شریف آباد^۴، اردشیر طالبی^۵، حسن صدراعی^۶

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: زرین گیاه (*Dracocephalum Kotschy*)، یکی از گیاهان دارویی بومی ایران با خواص ضدالتهاب و ضداسپاسم می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه روی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک رات انجام شد.

روش‌ها: در این پژوهش، عصاره‌ی هیدروالکلی با روش ماسراسیون تهیه شد و محتوای ترکیبات فنولی عصاره با کمک روش فولین سیوکالتو ارزیابی گردید. پس از آن، عصاره به صورت امولسیون خوراکی به مدت ۳۰ روز، در ۳ دوز متفاوت (۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰) برای ۳ گروه رات تجویز گردید، همچنین یک گروه شاهد و یک گروه حامل هم در نظر گرفته شد. پس از یک ماه تجویز عصاره و مشاهدات کیفی، از تمامی رات‌ها نمونه‌گیری خون، جهت اندازه‌گیری کمی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک انجام شد. بافت‌های کبد و کلیه‌ی هر موش در مطالعات بافت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس نتایج این مطالعه، مصرف خوراکی عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه به مدت یک‌ماه، تغییر قابل ملاحظه‌ای در پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک ایجاد نکرد. دوز بالای زرین گیاه باعث افزایش اندکی در میزان برخی آنزیم‌های کبدی (AST، ALT و ALP) و دوز ۵۰ mg/kg باعث افزایش کراتینین گردید. با این وجود، در بررسی میکروسکوپی بافت‌های کبد و کلیه، آسیب بافتی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: مصرف کوتاه مدت خوراکی عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه در دوزهای مورد استفاده، اثر سوء روی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک خون نداشت. با این وجود تا زمانی که اثرات طولانی‌مدت زرین گیاه روی عملکرد کبدی و کلیوی مشخص نشده است، مصرف آن در بیماران با نارسایی کبدی و کلیوی توصیه نمی‌شود.

واژگان کلیدی: زرین گیاه؛ تست‌های عملکرد کبدی؛ تست‌های عملکرد کلیه

ارجاع: صفاری امیرمهدی، زادهوش فوزیه، یگدانه افسانه، حسینی شریف آباد علی، طالبی اردشیر، صدراعی حسن. تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی *Dracocephalum Kotschy* روی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک رات. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۶۹): ۲۸۷-۲۷۸

مقدمه

زرین گیاه (*Dracocephalum kotschy*)، گیاهی چند ساله از تیره‌ی نعنائیان (Labiateae) است که بیشتر در مناطق سردسیر و مرتفع کوهستانی ایران می‌روید. در حال حاضر از محل‌های کشت این گیاه، روستای ایوانک در حوالی فریدونشهر می‌باشد (۱). این گیاه در گذشته بیشتر به عنوان طعم دهنده‌ی غذا مطرح بوده است ولی در مناطق بومی به عنوان داروی گیاهی هم مشهور است (۲). نمونه‌ی

هرباریوم این گیاه با شماره‌ی ۱۵۱۹ در محل دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان نگهداری می‌شود. در کتب طب سنتی و قدیمی‌تر، استفاده‌های طبی از زرین گیاه کمتر مورد بررسی قرار گرفته، بنابراین پتانسیل بالقوه‌ی آن ناشناخته باقی مانده است. با این وجود، معروف است که در مناطق رویش این گیاه، مردم به صورت سنتی از دم کرده‌ی زرین گیاه برای درمان روماتیسم و نفس تنگی استفاده می‌کنند. لازم به ذکر است اندام دارویی مورد استفاده‌ی این

۱- دانشجوی داروسازی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه فارماکوتکنوزی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشیار، گروه داروشناسی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- دانشیار، گروه آسیب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، مرکز تحقیقات آب و الکترولیت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۶- دانشیار، گروه داروشناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: حسن صدراعی؛ دانشیار، گروه داروشناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
Email: sadraei@pharm.mui.ac.ir

داده شده است (۷). علاوه بر این، نشان داده شده است که عصاره‌ی هیدروالکلی‌زرین گیاه، اثرات ضداسهال خوبی دارد که قابل قیاس با لوپرامید است و در مدل حیوانی، اسهال ناشی از روغن کرچک و سولفات منیزیوم را مهار کرده است (۶).

در این مطالعه هم اثر ضداسهال عصاره‌ی زرین گیاه به ترکیبات فلانوئیدی آن از جمله اپی‌ژنین نسبت داده شده است (۶). مطالعات اخیر همچنین نشان داده است که عصاره‌ی هیدروالکلی‌زرین گیاه، انقباضات مثنای ایزوله شده‌ی خرگوش را مهار می‌کند که خود شاهی بر اثرات ضد اسپاسم عصاره‌ی این گیاه می‌باشد (۱۷).

در مطالعه‌ی دیگری روی حیوانات آزمایشگاهی، اثر کاهندگی چربی خون توسط عصاره‌ی هیدروالکلی‌زرین گیاه در مدل حیوانی هیپرلیپیدمی گزارش شده است (۲۹). همچنین بر اساس مطالعه‌ی جداگانه‌ای گزارش گردیده است که عصاره‌ی زرین گیاه در مدل حیوانی دیابت، قند خون را کاهش داده ولی روی حیوان سالم اثر نداشته است (۳۰).

اثرات ضدالتهابی عصاره‌ی هیدروالکلی‌زرین گیاه، شباهت زیادی به اثرات ضدالتهابی گلوکورتیکوئیدها دارد. اگرچه تاکنون وجود ترکیبات کورتیکواستروئیدی در زرین گیاه گزارش نشده است. به نظر می‌رسد که حداقل، قسمتی از اثرات ضدالتهابی زرین گیاه در ارتباط با اثرات تعدیل‌کننده‌ی سیستم ایمنی آن باشد، زیرا با مهار سیستم ایمنی می‌تواند واکنش‌های التهابی ناشی از آن را مهار کند (۳۱). هرچند که مهار واکنش التهابی ناشی از سیستم ایمنی برای کنترل عارضه‌های التهابی مثل آسم مفید می‌باشد، ولی مهار سیستم ایمنی می‌تواند بیمار را مستعد عفونت کند. این گیاه در حال حاضر کاندید دارویی مناسبی برای استفاده در بازار دارویی بوده و در تحقیقات مورد استفاده می‌گیرد. زرین گیاه نه تنها به عنوان داروی گیاهی بلکه به عنوان طعم دهنده‌ی غذا هم به وفور مورد استفاده قرار می‌گیرد، ولی تاکنون اثرات توکسیک برای آن گزارش نشده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات عصاره‌ی هیدروالکلی‌زرین گیاه، روی پارامترهای تعیین‌کننده‌ی عملکرد کبدی، کلیوی و هماتولوژی با انجام آزمایشات بیوشیمیایی و هماتولوژیکی جهت اطمینان از ایمن بودن مصرف آن می‌باشد.

روش‌ها

تهیه‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی: اندام هوایی زرین گیاه، از مزرعه‌ی شرکت کشت پرتیکان (واقع در شاهان کوه روستای ایوانک فریدونشهر) در فصل گل دهی جمع‌آوری و در سایه خشک شد. زرین گیاه کشت شده در این مزرعه توسط آقای مهندس محمد اصفاف از اداره‌ی منابع طبیعی استان اصفهان با نام علمی *Dracocephalum kotschy* شناسایی شده است. اندام‌های هوایی گیاه به وسیله‌ی دستگاه آسیاب برقی، آسیاب گردید.

گیاه در بیشتر منابع، اندام هوایی ذکر شده است (۳). مطالعاتی که در سال‌های اخیر روی این گیاه انجام شده است نه تنها اثرات ضدالتهاب و ضداسپاسم این گیاه را تأیید کرده، بلکه سایر اثرات فارماکولوژی و تعدیل‌کننده‌ی سیستم ایمنی برای آن گزارش شده است (۴-۱۰). در مطالعاتی که پیرامون اثر زرین گیاه روی سیستم ایمنی انجام شده است، بیان شده که این گیاه دارای اثر ضدسرطانی در مدل‌های سلولی است (۱۱-۱۳).

مطالعات فارماکولوژیک انجام شده روی عصاره‌ی هیدروالکلی‌زرین گیاه نشان داده است که عصاره‌ی زرین گیاه حاوی ترکیباتی با اثر آنتی‌اسپاسم روی عضلات صاف است و انقباضات ایجاد شده در بافت‌های ایلئوم، رحم، مئانه و تراشه را مهار می‌کند (۵، ۱۴-۱۷). تحقیقات مدرن فارماکولوژی، اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اسپاسم زرین گیاه را تأیید کرده است. اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اسپاسم زرین گیاه عمدتاً مربوط به ترکیبات فلانوئیدی موجود در عصاره‌ی گیاه است (۷، ۱۰، ۱۱، ۱۴-۱۶).

در تحقیقات قبلی، اثرات آنتی‌اسپاسم عصاره‌ی فلانوئیدی زرین گیاه به همراه دو ماده‌ی اپی‌ژنین و لوتنولین بر روی انقباضات عضله‌ی صاف تراشه‌ی خرگوش بررسی گردیده و همگی آن‌ها اثر بروکودیلاتوری بهتری در مقایسه با آمینوفیلین از خود نشان داده‌اند (۱۶). اپی‌ژنین و لوتنولین که احتمال می‌رود دو ماده‌ی اصلی مؤثره در این گیاه باشند موادی فلانوئیدی هستند که در زرین گیاه با خواص ضدالتهابی و آنتی‌اسپاسم موجود می‌باشند (۱۸). علاوه بر این گزارش شده است که دو ماده‌ی مؤثره‌ی اپی‌ژنین و لوتنولین، اثر ضدالتهابی و ضدآسمی را در مدل حیوانی آسم از خود نشان داده‌اند (۱۹-۲۷). مطالعات دیگر دلالت بر اثرات ضدالتهابی و ضدفیروز ریوی زرین گیاه در مدل حیوانی داشته است (۲۸).

با توجه به تحقیقات انجام شده می‌توان برخی خواص عصاره‌ی زرین گیاه را پیش‌بینی کرد. برای مثال عصاره‌ی زرین گیاه مهارکننده‌ی انقباضات عضلات صاف روده است (۴-۶، ۱۴) و تجویز خوراکی عصاره‌ی هیدروالکلی‌زرین گیاه روی رات آزمایشگاهی میزان حرکت مواد غذایی حاوی چارکول را در طول روده کم کرده است که دلیلی بر اثرات آنتی‌اسپاسم آن در *in vivo* می‌باشد (۶، ۱۵). این بیانگر آن است که عصاره‌ی زرین گیاه، بالقوه می‌تواند بیوستزا باشد. این اثر برای بیماران با سندرم روده‌ی تحریک‌پذیر که اسهال در آن‌ها غالب است می‌تواند مفید باشد.

به خصوص که در تحقیق دیگری، عصاره‌ی هیدروالکلی‌زرین گیاه، اثر ضدالتهاب خوبی را علیه کولیت اولسروز ایجاد شده توسط اسیداستیک در حیوان آزمایشگاهی نشان داده است. در این مطالعه اثر ضدکولیت به فلانوئید اپی‌ژنین موجود در عصاره‌ی زرین گیاه نسبت

شرایط تنظیم دما و هوای تنفسی برای حیوان فراهم شد. تجویز دارو به رات: برای تهیه‌ی استوک اولیه، توپین ۸۰ به میزان 1 drop/ml به غلظت 20mg/ml عصاره افزوده شد. با توجه به وزن رات‌ها، برای هر رات روزانه حجم مصرفی از استوک را محاسبه کرده به صورت گاوآژ برای رات تجویز گردید.

سه گروه ۱۰ اتایی رات (A, B و C) هر کدام به ترتیب دوز انتخابی از عصاره‌ی خشک زردین گیاه با دوزهای ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ mg/kg روزانه به مدت ۳۰ روز تجویز گردید. گروه D هم ۲ ml از حامل عصاره که شامل آب و توپین ۸۰ با غلظت 1 drop/ml است را به صورت گاوآژ دریافت کردند. رات‌های گروه E به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفته و هیچ ماده‌ی اضافی دریافت نکردند.

در روز سی و یکم، همه‌ی رات‌ها را به کمک ترازوهای موجود در آزمایشگاه وزن کرده و سپس حیوان بیهوش شده و پس از انجام فرایند خون‌گیری، رات کشته شد. خون‌گیری از رات به کمک لوله‌های موبینه انجام شد به این صورت که ابتدا لوله‌ی استاندارد را به گوشه‌ی خارجی چشم رات وارد کرده و با کمی چرخاندن پس از چند لحظه به آرامی به صورت قطره قطره خون از آن خارج شد. بعد از کالبدشکافی، کبد و کلیه‌ی حیوانات جداسازی شده و در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری گردید و سپس لاشه و سایر بافت‌های حیوان در درون کیسه‌ی پلاستیکی مناسب قرار داده شد و در سطل زباله مخصوص جمع‌آوری لاشه‌ی حیوانات گذاشته تا مطابق دستورالعمل به نحوی متقاضی معدوم گردد.

آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک بعد از ۳۰ روز مصرف روزانه‌ی عصاره در محل آزمایشگاه پاتوبیولوژی المهدی اصفهان انجام شد. بدین منظور ابتدا از محل آزمایشگاه لوله‌های حاوی ماده‌ی ضد انعقاد EDTA و لوله‌های آزمایش استریل شده را به تعداد رات‌ها تهیه کرده و پس از فرایند خون‌گیری از هر رات به میزان کافی درون هر یک از لوله‌ها از خون رات پر شد. در نهایت تمامی لوله‌ها با رعایت پروتکل‌های لازم به آزمایشگاه منتقل شدند. سایر مراحل این پژوهش در آزمایشگاه المهدی اصفهان پیگیری گردید. تست‌های کمی شامل پارامترهای مربوط به عملکرد کبدی، پارامترهای مربوط به عملکرد کلیوی، سطح سرمی برخی الکترولیت‌ها و قند خون با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری و به کمک دستگاه 902 Automatic analyzer ساخت شرکت Hitachi و همچنین شمارش کامل سلول‌های خونی (CBC) به کمک دستگاه سل کانتر Sysmex مدل K-1000 انجام شده است. پارامترهای مربوط به کبد از جمله آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST (Aspartate transaminase)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT (Alanine transaminase)، آلکالین فسفاتاز

عصاره‌گیری به روش ماسراسیون با کمک اتانول ۷۰ درصد به شرح زیر آغاز شد (۳۲). ابتدا ۲/۱ کیلوگرم از پودر تهیه شده توسط آسیاب را درون ظرف دسیکاتور ریخته و به نسبت ۱:۸ به آن الکل ۷۰ درصد افزوده شد تا مرطوب گردد. به مدت دو ساعت درب ظرف بسته شد تا به خوبی خیس بخورد. سپس پودر خیس خورده را وارد قیف شیردار کرده و به آن الکل ۷۰ درصد افزوده شد، به گونه‌ای که کاملاً در الکل غوطه‌ور شود و سطح الکل از سطح عصاره، چند سانتی‌متر بالاتر باشد. در نهایت درب دستگاه به کمک فویل آلومینیومی کاملاً پوشانده شد. پس از آن به مدت سه روز فرصت داده شد تا عصاره به خوبی وارد الکل شود. در طی این مدت هر روز به عصاره سرکشی شد و پیوسته ظرف حاوی عصاره به آرامی تکان داده می‌شد.

پس از پایان سه روز، با باز کردن شیر دستگاه، عصاره‌ی حاصله به صورت کامل خارج گردید. سپس دوباره به ظرف حاوی عصاره‌ی الکل افزوده شد تا به طور کامل در الکل غوطه‌ور گردد و سایر مراحل مثل فرایند سه روزه‌ی قبل که در بالا ذکر شد، تکرار گردید. این فرایند سه روزه یک بار دیگر هم انجام شد و در نهایت تمام عصاره‌ی هیدروالکلی حاصله باهم مخلوط و کاملاً هم زده شد و سپس توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه تغلیظ گردید. در این مرحله، بخشی از آب و الکل موجود در عصاره خارج شد و عصاره به خوبی تغلیظ گردید و بازده آن تعیین شد. در مرحله‌ی نهایی عصاره‌گیری، تعیین میزان محتوای ترکیبات فنولی عصاره و استانداردسازی عصاره با کمک روش فولین سیوکالتو انجام گرفت (۳۳).

مطالعات فارماکولوژی: در این آزمایش از تعداد ۵۰ رات بالغ نر با وزن بین ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم، از نژاد ویستار استفاده شد. این رات‌ها در لانه‌ی حیوانات دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تولید شدند. این پژوهش با شناسه‌ی اخلاق IR.MUI.RESEARCH.REC.1399.664 توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد تأیید قرار گرفت. رات‌ها به صورت تصادفی به ۵ دسته‌ی ۱۰ اتایی که هر دسته شامل ۱۰ سر رات نر می‌باشد تقسیم‌بندی شدند. دسته‌ها با حروف لاتین A, B, C, D و E نام‌گذاری شدند. تمام رات‌ها به مدت ۳۰ روز، روزانه در ساعت مشخصی برای برخی علائم توکسیستی مثل وزن بدن، کرختی و تغییرات رنگ مو بررسی شده و سپس برای عملیات گاوآژ آماده شدند. در طی این ۳۰ روز، حیوان در داخل قفس تمیز استاندارد موجود در لانه‌ی حیوانات، مناسب با اندازه‌ی حیوان که کف آن با پوشال پوشیده شده بود، نگهداری شد. رات‌ها دسترسی کامل به آب و غذا داشته و کاملاً قابل مشاهده بودند. در این پژوهش امکان فرار حیوان از قفس وجود نداشته و هنگام جابجایی حتی الامکان به حیوان آسیب و یا جراحت یا استرس وارد نشد.

در مشاهدات کیفی و روزانه، تغییر قابل مشاهده‌ای در رنگ پوست و موی رات‌ها مشاهده نشد. در طی مطالعه، علائمی در ارتباط با کرختی و بی‌حالی در حیوان دیده نشد. در طی سی روز آزمایش در بین رات‌هایی که دوز 200 mg/kg از عصاره را دریافت کرده بودند، علائم قابل مشاهده‌ای از بی‌بوست در مقایسه با گروه‌های مورد و شاهد، مشاهده شد. علاوه بر این با دوز بالای عصاره، افزایشی در وزن رات‌ها مشاهده گردید. میانگین وزن رات‌ها در گروه حامل $2\text{g} \pm 213$ در گروهی که دوز 50 mg/kg از عصاره را دریافت کردند، $2\text{g} \pm 215$ ، در گروهی که دوز 100 mg/kg را دریافت کردند، $2\text{g} \pm 233$ و در گروهی که دوز 200 mg/kg از عصاره را دریافت کردند، میانگین وزن رات‌ها به $4\text{g} \pm 252$ افزایش یافته بود. در نتیجه در گروه‌های مورد بررسی، با افزایش دوز عصاره، افزایش وزن دیده شد.

پارامترهای بیوشیمیایی: آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) از آنزیم‌های شاخص کبدی هستند. زمانی که سلول‌های کبدی آسیب می‌بینند، این آنزیم‌ها وارد خون شده، افزایش غلظت آن‌ها را شاهد خواهیم بود. در میزان سرمی آنزیم AST که یکی از آنزیم‌های اصلی کبدی می‌باشد، تفاوت معنی‌داری بین گروه حامل و گروه شاهد مشاهده نشد، اما در گروه‌هایی که عصاره را دریافت کردند افزایشی در سطح سرمی این آنزیم در تمامی دوزهای دریافتی مشاهده گردید که این افزایش فقط در گروه‌هایی از رات که دوز 100 mg/kg از عصاره را دریافت نمودند، از لحاظ آماری دارای سطحی از معنی‌داری می‌باشد (جدول ۱).

ALT دیگر آنزیم کبدی است که بازم تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های حامل و شاهد قابل مشاهده نبود، اما با افزایش دوز، سطح سرمی این آنزیم افزایش یافت، بنابراین در گروه‌هایی از رات‌ها که عصاره‌ی هیدروالکلی زردین گیاه با دوز 200 و 100 mg/kg را دریافت نمودند، این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار شد (جدول ۱).

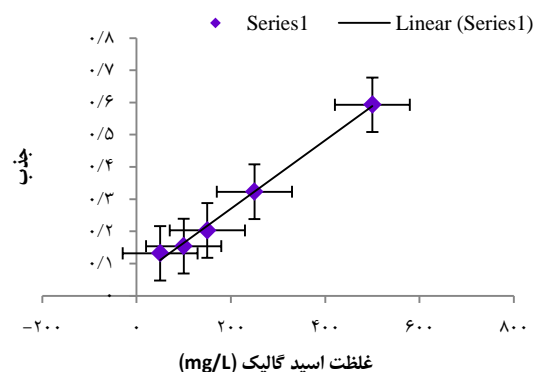
فعالیت ALP، آنزیم دیگر کبدی، کاهش معنی‌داری در مقایسه بین گروه حامل، گروه دریافت‌کننده‌ی دوز 50 mg/kg و گروه شاهد (جدول ۱) نشان داد. غلظت اسید اوریک، تنها بین گروه حامل با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۱) که می‌تواند ناشی از توبین موجود در حامل باشد و در سایر گروه‌ها با وجود افزایش میانگین گروه‌هایی که دوزی از عصاره‌ی زردین گیاه را دریافت کردند، اما این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. بیلی‌روبین توتال دیگر پارامتر کبدی است که بین گروه حامل و سایر گروه‌ها هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

ALP (Alkaline phosphatase) و همچنین سطح سرمی بیلی‌روبین و اوریک اسید می‌باشد. پارامترهای مربوط به عملکرد کلیوی شامل سطح سرمی کراتینین و میزان نیتروژن اورهی خون (Blood urea nitrogen) است. الکترولیت‌هایی که بررسی شده‌اند شامل سطح سرمی سدیم، پتاسیم و کلسیم می‌باشد. نتایج آزمایشات فوق مورد تجزیه و تحلیل پاتولوژیست قرار گرفت. برای آنالیز نمونه‌های بافتی، ابتدا تعدادی از نمونه‌های فوق برش‌هایی توسط دستگاه میکروتوم صورت گرفت و سپس فرایند رنگ‌آمیزی با همتوکسیلین-انوزین انجام گردید (۳۴). در نهایت نمونه‌های بافتی زیر نظر همکار پاتولوژیست بررسی شد.

آنالیز نتایج: در هر گروه، میانگین داده‌های مجموع ۱۰ رات محاسبه و نتایج کمی حاصل شده‌ی هر گروه از آزمایشات به صورت میانگین و انحراف معیار بیان گردید و در پایان نتایج حاصل از آزمایشات فوق جهت مقایسه‌ی بین گروه شاهد، گروه حامل و گروه‌هایی که دوزی از عصاره را دریافت کردند، مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت. جهت مقایسه بین گروه‌ها از آزمون آماری one-way ANOVA برای متغیرهای پارامتریک استفاده شد.

یافته‌ها

عصاره‌ی هیدروالکلی زردین گیاه پس از استحصال برای تعیین بازدهی عصاره مورد بررسی قرار گرفت. درصد بازدهی عصاره‌گیری (W/W) $33/3$ درصد می‌باشد. مقادیر تام فنول محاسبه شده بر مبنای روش فولین سیوکالتو، به کمک نمودار استاندارد ترسیم شده بر اساس میزان جذب در غلظت‌های گالیک اسید (شکل ۱) بیانگر این است که عصاره شامل 108 میلی‌گرم از ترکیبات فنولی در هر گرم عصاره بر مبنای گالیک اسید می‌باشد.



شکل ۱. منحنی استاندارد جذب گالیک اسید

پنج غلظت از گالیک اسید تهیه شده و جذب آن‌ها در طول موج 760 نانومتر اندازه‌گیری شده است. با خواندن مقدار جذب محلول تهیه شده از عصاره نسبت میزان ترکیبات تام فنولی آن 108 mg/g عصاره بر اساس گالیک اسید تعیین گردید.

جدول ۱. اثر عصاره‌ی هیدروالکلی زردین گیاه (*D. kostchy*) بر پارامترهای بیوشیمیایی و خونی در گروه‌های مورد مطالعه

شاخص زیست پزشکی	گروه شاهد (بدون درمان)	گروه حامل	<i>D. kostchy</i> (50mg/kg)	<i>D. kostchy</i> (100mg/kg)	<i>D. kostchy</i> (200mg/kg)
AST (U/L)	213 ± 2/1	192 ± 11/3	263 ± 39/1	243 ± 15*	218 ± 4/2
ALT (U/L)	42/2 ± 4/5	40/5 ± 2/7	44/2 ± 6/1	59 ± 4/91**	56/7 ± 4/7**
ALP (U/L)	30.5 ± 23***	174 ± 16	75/8 ± 8***	139 ± 13	164 ± 26
UA (mg/dL)	6/4 ± 0/35*	4/88 ± 0/25	5/59 ± 0/33	5/45 ± 0/34	5/47 ± 0/32
Bilirubin total (mg/dL)	0/3 ± 0/01	0/31 ± 0/004	0/31 ± 0/009	0/33 ± 0/008	0/31 ± 0/008
Cr (mg/dL)	0/41 ± 0/02	0/43 ± 0/021	0/52 ± 0/02**	0/46 ± 0/02	0/43 ± 0/015
BUN (mg/dL)	27/9 ± 1/2	25/6 ± 0/99	29/7 ± 2/3	29/33 ± 0/89	26/3 ± 0/49

عصاره‌ی هیدروالکلی و حامل به مدت ۳۰ روز به صورت خوراکی برای رات تجویز شد. هر عدد شامل میانگین نتایج ۱۰ سر رات می‌باشد. اعداد به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شده است و برای بررسی معنی‌دار بودن از آزمون آماری one-way ANOVA استفاده شده است. مقایسه آماری با گروه حامل انجام شده است (*: $P < 0/05$; **: $P < 0/01$; ***: $P < 0/001$). AST: Aspartate transaminase; ALT: Alanine transaminase; ALP: Alkaline phosphatase; UA: Uric acid; Cr: Creatinine; BUN: Blood urea nitrogen.

تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، هماتوکریت (HCT)، میانگین حجم هموگلوبین (MCV)، میانگین مقدار هموگلوبین (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین (MCHC)، تعداد پلاکت‌ها (PLT)، هموگلوبین (HGB) و درصد توزیع سلول‌های خونی (RDW) هیچ اختلاف معنی‌داری در بین گروه حامل و سایر گروه‌هایی که عصاره را دریافت کردند و گروه شاهد دیده نشد (جدول ۲).

قند و الکترولیت‌ها: در این پژوهش هیچ تغییر معنی‌داری بین قند خون ناشتای گروه حامل و گروه‌های شاهد و دریافت‌کننده‌ی عصاره مشاهده نشد. در خصوص الکترولیت‌هایی همچون سدیم، کلسیم و پتاسیم در بین گروه‌ها، تفاوت معنی‌داری بین گروه حامل با سایر گروه‌ها مشاهده نشد (جدول ۳).

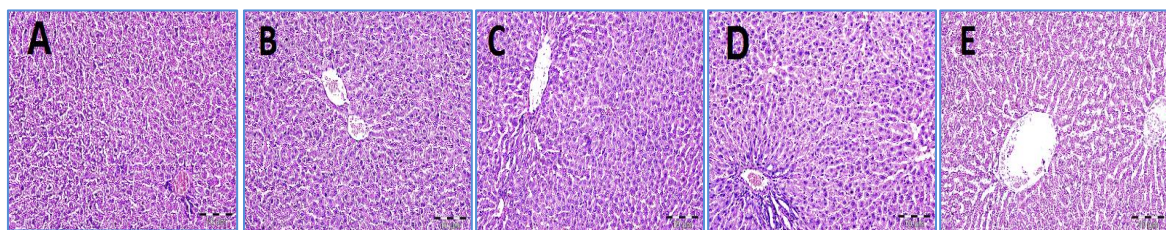
بحث

در مطالعه‌ی حاضر پس از ۳۰ روز تجویز عصاره‌ی هیدروالکلی زردین گیاه علاوه بر مشاهده‌ی برخی علائم کیفی، به صورت کمی برخی پارامترهای بیوشیمیایی، هماتولوژیک، الکترولیت‌ها و قند خون مورد بررسی قرار گرفته است.

سنجش میزان کراتینین، یک پارامتری عملکرد کلیوی محسوب می‌شود و افزایش آن می‌تواند حاکی از نارسایی در عملکرد کلیوی باشد. در بررسی غلظت سرمی کراتینین، تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد، اما در مقایسه‌ی گروه حامل با سایر گروه‌ها، تنها افزایش قابل توجهی در گروهی که دوز 50mg/kg از عصاره را دریافت کردند مشاهده شد که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). در غلظت میزان نیتروژن موجود در اوره‌ی خون (BUN)، دیگر پارامتر مربوط به عملکرد کلیوی، تفاوت معنی‌داری بین گروه حامل و سایر گروه‌ها مشاهده نشد (جدول ۱).

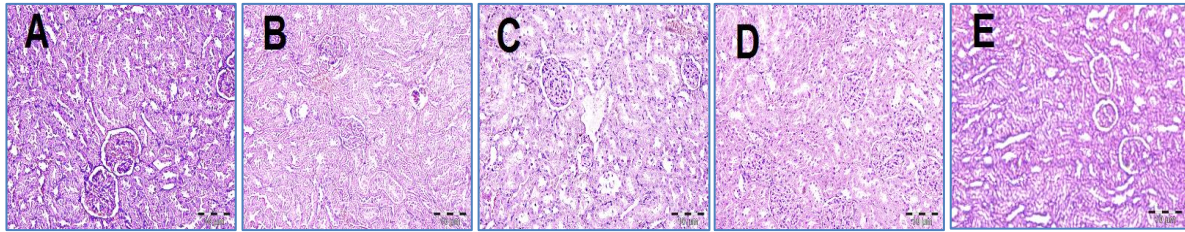
مطالعات بافت‌شناسی: بررسی میکروسکوپی ساختار بافت‌های کبد و کلیه پس از سی روز، در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره و گروه‌های حامل و شاهد انجام گردید. در این بررسی، در سطح میکروسکوپی، هیچ اثری از آسیب سلولی در بافت‌های کبد و کلیه مشاهده نشد (شکل ۲ و ۳).

فاکتورهای هماتولوژیک: فاکتورهای همچون هموگلوبین، هماتوکریت و شمارش سلول‌های خونی، ارزیابی جامعی از نحوه‌ی تأثیر دارو بر روی پروفایل خونی به دست می‌دهد. تمامی فاکتورها از جمله



شکل ۲. عکس میکروسکوپی بافت کبد رات پس از دریافت عصاره‌ی زردین گیاه (بزرگ‌نمایی تصویر ×۲۰۰).

گروه‌های A تا E، به مدت ۳۰ روز در پژوهش مورد تیمار قرار گرفتند و سپس بافت کبدی آنها در مطالعات بافت‌شناسی استفاده گردید. گروه‌های A، B و C به ترتیب دوزهای 200، 100، 50 mg/kg عصاره را دریافت کرده‌اند. گروه‌های D و E هم به ترتیب گروه‌های حامل و شاهد می‌باشند. در این بررسی آسیب بافتی در سطح میکروسکوپی مشاهده نشد. فرایند رنگ‌آمیزی با روش هماتوکسیلین-ئوزین انجام گردید.



شکل ۳. عکس میکروسکوپی بافت کلیه‌ی رات پس از دریافت عصاره‌ی زردین گیاه (بزرگ‌نمایی تصویر $\times 200$).

گروه‌های A تا E، به مدت ۳۰ روز در پژوهش مورد تیمار قرار گرفتند و سپس بافت کلیه‌ی آن‌ها در مطالعات بافت‌شناسی استفاده گردید. گروه‌های A، B و C به ترتیب دوزهای ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ mg/kg از عصاره را دریافت کرده‌اند. گروه‌های D و E هم به ترتیب گروه‌های حامل و شاهد می‌باشند. در این بررسی آسیب بافتی در سطح میکروسکوپی مشاهده نشد. فرایند رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین-اوتوزین انجام گردید.

فراآورده‌های زردین گیاه در افراد دارای نارسایی کبدی، باید با احتیاط صورت گیرد.

ALP دیگر آنزیمی است که یکی از محل‌های تولید و آزادسازی آن به خون کبد می‌باشد (۳۵). در اندازه‌گیری این آنزیم در گروه حامل، کاهش معنی‌داری مشاهده شد. این کاهش را می‌توان به اثرات تویین ۸۰ بر پارامترهای کبدی نسبت داد (۳۶).

همچنین کاهش معنی‌دار این آنزیم در رات‌هایی که دوز ۵۰ mg/kg از عصاره را دریافت کردند بازهم دلیل دیگری بر نیاز به بررسی بیشتر اثر عصاره‌ی هیدروالکلی زردین گیاه بر آنزیم‌های کبدی می‌باشد. از آنجایی که از مواد مؤثره‌ی شناخته شده در عصاره‌ی زردین گیاه، فلاونوئیدهای اپی‌ژنین و لوتولین هستند (۱۸).

همچنین Hostetler و همکاران نشان داده‌اند که متابولیسم ناشی از فلاونوئیدها می‌تواند اثراتی بر عملکرد و پارامترهای کبدی از جمله آنزیم‌های کبدی داشته باشد (۳۷)، بنابراین می‌توان تغییر در آنزیم‌های کبدی را به متابولیسم این فلاونوئیدها هم نسبت داد.

به صورت کیفی علائمی از یبوست در رات‌هایی که دوزی از عصاره را دریافت کردند مشاهده شد. عصاره‌ی زردین گیاه مهارکننده‌ی حرکات روده است و به همین سبب می‌تواند در رات‌ها سبب ایجاد یبوست شود (۴-۶، ۱۴) که این مشاهدات با سایر داده‌های علمی مشابهت و همخوانی داشت (۶).

نبود علائمی مانند کرختی و بی‌حالی در رات‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره می‌تواند حاکی از این باشد که عصاره در دوزهای مورد استفاده، اثرات سداتیوی بر روی رات‌ها نداشته است.

در این پژوهش، افزایش معنی‌دار مشاهده شده در آنزیم‌های AST و ALT می‌تواند ناشی از متابولیسم کبدی ترکیبات موجود در عصاره و همچنین اثر آن بر عملکرد کبدی باشد. بدیهی است آنزیم‌های کبدی تحت تأثیر عوامل زیادی از جمله محل نگهداری و غذای مصرفی رات‌ها، نژاد، تحرک و غیره قرار می‌گیرند (۳۵).

با توجه به نتایج این پژوهش نیاز است در تحقیقات بعدی میزان آنزیم‌های کبدی بیشتر مورد بررسی قرار گرفته ولی تجویز

جدول ۲. اثر عصاره هیدروالکلی زردین گیاه (*D. kostchyi*) بر پارامترهای هماتولوژیک (CBC) رات‌های مورد مطالعه

<i>D. kostchyi</i> (200mg/kg)	<i>D. kostchyi</i> (100mg/kg)	<i>D. kostchyi</i> (50mg/kg)	Vehicle treated	Control (no treatment)	پارامترهای هماتولوژیک
6/74 ± 0/99	5/75 ± 0/47	6/26 ± 0/87	5/9 ± 0/49	4/5 ± 0/47	WBC (× 103 n/μL)
7/7 ± 0/16	7/05 ± 0/12	7/72 ± 0/14	7/3 ± 0/17	7/88 ± 0/26	RBC (× 106 n/μL)
15/02 ± 0/26	14/17 ± 0/27	15/68 ± 0/32	14/71 ± 0/35	15/52 ± 0/44	HGB (g/dL)
40/52 ± 0/73	38 ± 0/66	41/77 ± 0/82	40/07 ± 0/76	42/2 ± 0/81	HCT (%)
52/65 ± 0/84	53/86 ± 0/55	53/43 ± 0/44	53/5 ± 0/83	56/02 ± 0/81	MCV (μm3)
19/52 ± 0/38	20/1 ± 0/2	20/33 ± 0/19	19/72 ± 0/26	20/08 ± 0/2	MCH (pg)
37/1 ± 0/34	37/3 ± 0/24	37/6 ± 0/31	36/84 ± 0/15	35/89 ± 0/51	MCHC (g/dL)
499 ± 110	732 ± 68	661 ± 71/4	604 ± 57/6	707 ± 81/6	PLT (× 103 n/μL)
15/04 ± 0/4	14/32 ± 0/273	14/46 ± 0/42	15/11 ± 0/54	15/5 ± 0/6	RDW (%)

عصاره هیدروالکلی یا حامل به مدت ۳۰ روز به صورت خوراکی برای رات تجویز شد. هر عدد شامل میانگین نتایج ۱۰ امر رات می‌باشد. اعداد به صورت Mean±SEM بیان شده است. در مقایسه آماری تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و درمان وجود نداشت (one-way ANOVA).

CBC= complete blood count; WBC= white blood cells; RBC= red blood cells; HGB= hemoglobin; HCT= hematocrit; MCV= mean corpuscular volume; MCH= mean corpuscular hemoglobin; MCHC= mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT= platelet; RDW= red cell distribution width.

جدول ۳. اثر عصاره‌ی هیدروالکلی زردین گیاه (*D. kostchyi*) بر قند خون و الکترولیت‌ها در رات‌های مورد مطالعه

<i>D. kostchyi</i> (200mg/kg)	<i>D. kostchyi</i> (100mg/kg)	<i>D. kostchyi</i> (50mg/kg)	گروه حامل	گروه شاهد (بدون درمان)	گلوکز و الکترولیت‌ها
۸۲/۵ ± ۶/۴	۵۹/۶ ± ۷	۶۱/۸ ± ۸/۷	۷۷ ± ۵/۲	۴ ± ۱۴/۹۲	FBS (mg/dL)
۱۰/۷ ± ۰/۱	۱۰/۹ ± ۰/۱	۱۱ ± ۰/۱۴	۱۰/۵ ± ۰/۲۳	۱۱/۲ ± ۰/۳۷	Ca ²⁺ (mg/dL)
۴/۱۳ ± ۰/۰۶	۴/۱۳ ± ۰/۰۷	۴/۱۶ ± ۰/۰۹	۴/۰۱ ± ۰/۰۵	۴/۱ ± ۰/۰۵	K ⁺ (mM)
۱۴۱ ± ۰/۸	۱۴۳ ± ۰/۷	۱۴۲ ± ۰/۷	۱۴۱ ± ۰/۹	۱۴۲ ± ۰/۹	Na ⁺ (mM)

عصاره‌ی هیدروالکلی یا حامل به مدت ۳۰ روز به صورت خوراکی برای رات تجویز شد. هر عدد شامل میانگین نتایج ۱۰ سر رات می باشد. اعداد به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شده است. در مقایسه‌ی آماری، تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و درمان وجود نداشت (one-way ANOVA) (FBS: Fasting blood sugar)

عصاره بر سایر ارگان‌ها را به نمایش می‌گذارند (۴۰). در ارتباط با قند خون اگرچه در مطالعات قبلی حاکی از اثر عصاره بر رات‌های مبتلا به دیابت بوده است اما این پژوهش حاکی از آن بود که این عصاره در رات‌های سالم تأثیری بر قند خون ندارد. لذا مصرف آن در افراد مبتلا به دیابت ملیتوس، مشکل‌زا نیست. داده‌های این پژوهش مبنی بر عدم تأثیر عصاره روی قند خون در رات‌های سالم با مطالعات Eskandari و همکاران همخوانی داشت (۳۰).

همچنین نبود تغییرات معنی‌دار در الکترولیت‌های سرمی نشان‌دهنده‌ی عدم عوارض این عصاره بر بالانس الکترولیت‌های بدن دارد. از آنجایی که پتاسیم یک الکترولیت درون زسلولی می‌باشد، این موضوع که میانگین تمامی گروه‌ها از نظر پتاسیم در دامنه‌ی نرمال پذیرفته شده برای رات‌ها (۳/۸۸ تا ۶/۱۱ mM) قرار دارد و همچنین تغییر معنی‌داری هم بین گروه‌ها مشاهده نشده است، می‌توان نتیجه گرفت در مراحل خون‌گیری و انجام آزمایشات حیوانی همولیز و تخلیه‌ی سلول‌های خونی صورت نگرفته است و نشان از صحت سایر نتایج دارد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی تحقیقات فوق بیانگر این بود که عصاره‌ی زردین گیاه، اثرات ناخواسته و سونی بر پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک خون ندارد. توصیه می‌گردد که اثرات عصاره در دوزهای بالا بر روی عملکرد کبدی و کلیوی به صورت دقیق و اختصاصی مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با شناسه‌ی اخلاق IR.MUI.RESEARCH.REC.1399.664 توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد تأیید قرار گرفت.

اسید اوریک هم از دیگر پارامترهایی است که مورد بررسی قرار گرفت. مجدداً کاهش معنی‌داری در گروه حامل نسبت به گروه شاهد مشاهده شد که آن را می‌توان به اثرات تویین ۸۰ نسبت داد (۳۶).

در تحقیقاتی نشان داده شده که کراتینین و BUN دو پارامتر مربوط به عملکرد کلیوی هستند که افزایش در غلظت آن‌ها، نتایج قابل اعتماد از نحوه‌ی عملکرد کلیوی به دست می‌دهد. همچنین کراتینین از پروتئین‌هایی است که در عضلات تولید می‌شود (۳۸). افزایش معنی‌دار کراتینین در دوز ۵۰ mg/kg می‌تواند ناشی از اثرات کلیوی این عصاره در این دوز خاص باشد. همچنین با توجه به این که در این مطالعه با افزایش دوز، افزایش وزن را شاهد بودیم می‌توان افزایش کراتینین را به افزایش وزن هم نسبت داد. بنابراین در مطالعات آینده بررسی اثرات عصاره‌ی زردین گیاه بر عملکرد کلیوی مورد نیاز بوده و همچنین مصرف زردین گیاه برای افراد دارای مشکلات کلیوی و افراد دارای اضافه وزن باید با احتیاط صورت گیرد.

شمارش کامل خون که در اصطلاح به آن CBC گفته می‌شود، یک آزمایش خون معمول است که گلبول‌های سفید و قرمز خون، پلاکت‌ها و سطح هموگلوبین و سایر شاخص‌های خونی را اندازه می‌گیرد. تست CBC differential جزئیاتی در رابطه با گلبول‌های سفید هم ارائه می‌دهد. این تست همچنین گلبول‌های قرمز را از نظر نرمال بودن، بررسی می‌کند. این آزمایش، قابلیت تشخیص آنمی و تضعیف سیستم ایمنی را دارد (۳۹). با توجه به این که در این پژوهش تغییر معنی‌داری در رابطه با این تست‌های هماتولوژیکی دیده نشد، می‌توان بیان کرد که عصاره‌ی زردین گیاه، اثرات و عوارض ناخواسته بر پروفایل هماتولوژیکی سرم خون از جمله سیستم ایمنی ندارد.

نتایج سایر تست‌ها، اطلاعات ارزشمندی را در اختیار ما قرار داد. میزان قند خون ناشتا (FBS)، کلسیم، سدیم و پتاسیم نیز سایر پارامترهای مورد بررسی بودند. الکترولیت و بالانس مایع (مثل سدیم، پتاسیم) وضعیت متابولیسم بدن را بررسی می‌کند و میزان اثرات

References

- Rechinger KH. Dracocephalum. In: Iranica F, Rechinger KH, editor. Akademische Druck-U. Austria: Verlagsanstalt Graz; 1986. p. 218-31.
- Naghbi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed M, Ghorbani A. *Labiatae* family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. Iranian J Pharm Res 2010; 4(2): 63-79.
- Ghahreman A. Flora of Iran in natural colors. Tehran, Iran: Tehran University Publication; 1987. p. 432.
- Sadraei H, Asghari G, Kasiri F. Antispasmodic effect of Dracocephalum kotschy hydroalcoholic extract on rat ileum contraction. Res Pharm Sci 2015; 10: 446-52.
- Sadraei H, Asghari G, Alinejad M. Comparison of antispasmodic effect of hydroalcoholic extract of Dracocephalum kotschy Boiss. in rat uterus and ileum. Res Pharm Sci 2016; 11(4): 284-92.
- Sadraei H, Asghari G, Shahverdi F. Antidiarrhoeal assessment of hydroalcoholic and hexane extracts of Dracocephalum kotschy Boiss. and apigenin in mice. Res Pharm Sci 2016; 11(3): 200-9.
- Sadraei H, Asghari G, Khanabadi M, Minaiyan M. Anti-inflammatory effect of apigenin and hydroalcoholic extract of Dracocephalum kotschy on acetic acid-induced colitis in rats. Res Pharm Sci 2017; 12(4): 322-29.
- Kalantar K, Gholijani N, Mousaei N, Yazdani M, Amirghofran Z. Investigation of Dracocephalum kotschy plant extract on the effective inflammatory transcription factors and mediators in activated macrophages. Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem 2018; 17(1): 39-49.
- Amirghofran Z, Azadbakht M, Karimi MH. Evaluation of the immunomodulatory effect of five herbal plants. J Ethanopharmacol 2000; 72: 167-72.
- Faham N, Javidnia K, Bahmani M, Amirghofran Z. Calycopterin, an immune inhibitory compound from the extract of Dracocephalum kotschy. Phytother Res 2008; 22(9): 1154-8.
- Jahaniani F, Ebrahimi SA, Rahbar-Roshandel N, Mahmoudian M. Xanthomicrol is the main cytotoxic component of Dracocephalum kotschy and a potential anti-cancer agent. Phytochemistry 2005; 66(13): 1581-92.
- Talari M, Seydi E, Salimi A, Mohsenifar Z, Kamalinejad M, Pourahmad J. Dracocephalum: Novel anticancer plant acting on liver cancer cell mitochondria. Biomed Res Int 2014; 2014, 892170.
- Mashak B, Hoseinzadeh M, Ehsanpour A, Ghanbaran AR, Vakili M. Evaluation of treatment response and side effects of Spinal-Z in patients with metastatic gastroesophageal adenocarcinoma: a double-blind randomized controlled trial. Jundishapur J Chronic Dis Care 2017; 6(3): e57870.
- Sadraei H, Ghanadian M, Asghari G, Sekhavati N. Antispasmodic activity of apigenin and luteolin, two components of Dracocephalum kotschy extract, on rat ileum contraction. J Herbmed Pharmacol 2018; 7(2): 100-5.
- Sadraei H, Ghanadian M, Moazeni S. Inhibitory effect of hydroalcoholic and flavonoids extracts of Dracocephalum kotschy, and its components luteolin, apigenin and apigenin-4'-galactoside on intestinal transit in mice. J Herbmed Pharmacol 2019; 8(1): 8-13.
- Sadraei H, Ghanadian SM, Asghari G, Gavahian A. Bronchodilator effect of apigenin and luteolin, two components of Dracocephalum kotschy on isolated rabbit trachea. J Herbmed Pharmacol 2019; 8(4): 281-6.
- Sadraei H, Sajjadi SE, Tarafdar A. Antispasmodic effect of hydroalcoholic and flavonoids extracts of Dracocephalum kotschy on rabbit bladder. J Herbmed Pharmacol 2020; 9(2): 147-52.
- Gohari AR, Saeidnia S, Matsuo K, Uchiyama N, Yagura T, Ito M, et al. Flavonoid constituents of Dracocephalum kotschy growing in Iran and their trypanocidal activity. J Nat Med 2003; 57(6): 250-2.
- Li RR, Pang LL, Du Q, Shi Y, Dai WJ, Yin KS. Apigenin inhibits allergen-induced airway inflammation and switches immune response in a murine model of asthma. Immunopharmacol Immunotoxicol 2010; 32(3): 364-70.
- Choi JR, Lee CM, Jung ID, Lee JS, Jeong YI, Chang JH, et al. Apigenin protects ovalbumin induced asthma through the regulation of GATA-3 gene. Int Immunopharmacol 2009; 9(7-8): 918-24.
- Wojcik KA, Skoda M, Koczurkiewicz P, Sank M, Czyz J, Michalik M. Apigenin inhibits TGF- β 1-induced fibroblast to myofibroblast transition in human lung fibroblast populations. Pharmacol Rep 2013; 65(1): 164-72.
- Li LH, Lu B, Wu HK, Zhang H, Yao FF. Apigenin inhibits TGF- β 1-induced proliferation and migration of airway smooth muscle cells. Int J Clin Exp Pathol 2015; 8(10): 12557-63.
- Das M, Ram A, Ghosh B. Luteolin alleviates bronchoconstriction and airway hyperactivity in ovalbumin sensitized mice. Inflamm Res 2003; 52(3): 101-6.
- Shen ML, Wang CH, Lin CH, Zhou N, Kao ST, Wu DC. Luteolin attenuates airway mucus overproduction via inhibition of the GABAergic system. Sci Rep 2016; 6: 32756.
- Zhang GM, Gong GQ, Li LL, Yang LN, Wang Y. Effects of luteolin on the proliferation of rat lung fibroblasts. Chinese J Nat Med 2009; 7(4): 297-300.
- Chen L, Zhao W. Apigenin protects against bleomycin induced lung fibrosis in rats. Exp Ther Med 2016; 11(1): 230-4.
- Chen CY, Peng WH, Wu LC, Wu CC, Hsu SL. Luteolin ameliorates experimental lung fibrosis both in vivo and in vitro: implications for therapy of lung fibrosis. J Agric Food Chem 2010; 58(22): 11653-61.
- Hosseini-Sharifabad A, Sadraei H, Hashemnia M, Sajjadi SE, Mirdamadi Z. Effect of hydroalcoholic and aqueous extracts of Dracocephalum kotschy on bleomycin induced pulmonary fibrosis. J Herbmed Pharmacol 2021; 10(2): 204-17.
- Sajjadi SE, Movahaedian-Atar AM, Yekaian A. Antihyperlipidemic effect of hydroalcoholic extract, and polyphenolic fraction from Dracocephalum kotschy Boiss. Pharm Acta Helv 1998; 73(3): 167-70.

30. Eskandari M, Mohammadi J, Delaviz H, Hosseini E. The effects of hydroalcoholic extract of *Dracocephalum Kotschy* on blood glucose and lipid profile in diabetic rats. *J Fasa Uni Med Sci* 2016; 5(4): 526-33.
31. Sadraei H, Jafarian A, Asghari G, Poladsanj M. Evaluation of immunomodulatory effect of *Dracocephalum kotschy* extract on immune system in animal model. *Proceeding of the International Congress of Isfahan Biomedical Sciences*. 26th September to 1st October 2020; p. 216.
32. Singh J. Maceration, percolation and infusion techniques for the extraction of medicinal and aromatic plants. [Online]. 2007; Available from: URL: https://www.philadelphia.edu.jo/academics/s_telfah/uploads/method%20of%20extraction.pdf
33. Blainski A, Lopes GC, de Mello JCP. Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules* 2013; 18(6): 6852-65.
34. Fischer AH, Jacobson KA, Rose J, Zeller R. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *CSH Protoc* 2008; pdb.prot4986.
35. Kunutsor SK, Apekey TA, Seddoh D, Walley J. Liver enzymes and risk of all-cause mortality in general populations: a systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2014; 43(1): 187-201.
36. Ellis A, Crinis N, Webster L. Inhibition of etoposide elimination in the isolated perfused rat liver by Cremophor EL and Tween 80. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996; 38(1): 81-7.
37. Hostetler GL, Ralston RA, Schwartz SJ. Flavones: Food sources, bioavailability, metabolism, and bioactivity. *Adv Nutr* 2017; 8(3): 423-35.
38. Hosten A. BUN and Creatinine. In: Walker H, Hall W, Hurst J, editors. *Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations*. 3rd ed. Boston, Massachusetts: Butterworths; 1990.
39. George-Gay B, Parker K. Understanding the complete blood count with differential. *J Perianesth Nurs* 2003; 18(2): 96-114.
40. Edelman IS, Leibman J. Anatomy of body water and electrolytes. *Am J Med* 1959; 27(2): 256-77.

The Effect of *Dracocephalum Kotschy* Hydroalcoholic Extract on Biochemical and Hematological Parameters in Rat

Amirmahdi Safary¹, Fouzieh Zadhoush², Afsaneh Yagdaneh³,
Ali Hosseini-Sharifabad⁴, Ardeshir Talebi⁵, Hassan Sadraei⁶

Original Article

Abstract

Background: *Dracocephalum kotschy* is one of the native medicinal plants of Iran with anti-inflammatory and spasmolytic properties. The aim of this study was to investigate the effects of *D. kotschy* hydroalcoholic extract on blood biochemical and hematological parameters in rat.

Methods: In this study, hydroalcoholic extract was prepared by maceration technique and its phenolic content was assessed by Folin-Ciocalteu method. The extract was then administered orally for 30 days (50, 100 & 200 mg/kg) in 3 different rat groups. A normal control group and vehicle treated group were also included for comparison. After a month of extract administration and qualitative observations, blood samples were taken from all the rats for quantitative determination of biochemical and hematological parameters. The liver and kidney sections were also prepared for microscopic pathological examination.

Findings: According to our findings, oral consumption of hydroalcoholic extract of *D. kotschy* over a month induced no substantial changes in the measured biochemical and hematological parameters. The high dose of hydroalcoholic extract of *D. kotschy* caused a slight increase in the amount of some liver enzymes (AST, ALT and ALP) and the dose of 50 mg/kg elevated creatinine levels. However, examination of liver and kidney sections showed no microscopic tissue damage.

Conclusion: Short term consumption of hydroalcoholic extract of *D. kotschy* has no adverse effect on blood biochemical and hematological parameters. However, as long as the long term effect of the extract on liver and renal function is not fully understood, consumption of *D. kotschy* in patients with hepatic or renal failure is not recommended.

Keywords: *Dracocephalum kotschy*; Liver function tests; Kidney function tests

Citation: Safary A, Zadhoush F, Yagdaneh A, Hosseini-Sharifabad A, Talebi A, Sadraei H. **The Effect of *Dracocephalum Kotschy* Hydroalcoholic Extract on Biochemical and Hematological Parameters in Rat.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(669): 278-87.

1- Pharmacy Student, School of Pharmacy and Pharmaceutical Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Associate Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Water and Electrolytes Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6- Associate Professor Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hassan Sadraei, Associate Professor Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: sadraei@pharm.mui.ac.ir

فعالیت پروتئازی در ساب تایپ‌های مختلف بلاستوسیتیس در اصفهان

فرزین خسروی دانش^۱، سمیه موسوی مبارکه^۲، حسین یوسفی دارانی^۳، زهرا غیور نجف‌آبادی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بلاستوسیتیس، تک‌یاخته‌ای خارج سلولی و غیر متحرک بوده که در حال حاضر شایع‌ترین تک‌یاخته‌ی دستگاه گوارش انسان و طیف وسیعی از موجودات است. با این‌که زمان طولانی از شناسایی آن می‌گذرد، اما نقش آن در بیماری و سلامت افراد بحث‌برانگیز است. پروتئاز بلاستوسیتیس، یکی از فاکتورهای مهم در ایجاد علائم می‌باشد. در این مطالعه فعالیت پروتئازی در چند ساب‌تایپ به دست آمده مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: نمونه‌ی مدفوع ۶۰۰ فرد مراجعه‌کننده به مراکز آزمایشگاهی شهر اصفهان جمع‌آوری شد. نمونه‌ها به صورت میکروسکوپی بررسی گردید و نمونه‌های بلاستوسیتیس مثبت در محیط کشت داده شدند، با استفاده از روش فایکول بلاستوسیتیس‌ها به صورت خالص جدا گردید. برای مشخص نمودن ساب‌تایپ‌ها PCR (Polymerase chain reaction) و تعیین توالی انجام پذیرفت. جهت ارزیابی فعالیت پروتئازی روش Gelatin/SDS-PAGE مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: در روش بررسی مستقیم میکروسکوپی، ۵۰ نمونه (۸/۳۳ درصد) از لحاظ بلاستوسیتیس مثبت بود که ۳۴ نمونه در کشت مثبت و PCR شد. از این تعداد، ۱۸ نمونه تعیین توالی گردید و ۴ نوع ساب‌تایپ ۱-۳ و ۶ جدا گردید. در ساب‌تایپ‌های مختلف، تفاوت سایز باندهای حاصل از فعالیت پروتئازهای مختلف مشهود بود. در ساب‌تایپ ۱-۳ یک باند با وزن ۲۰ کیلو دالتونی به صورت مشترک مشاهده گردید. ساب‌تایپ ۶ الگوی باندها کاملاً متفاوت با سایر ساب‌تایپ‌ها بود.

نتیجه‌گیری: در ساب‌تایپ‌های مختلف، تفاوت سایز باند پروتئازی مشاهده گردید که می‌تواند دلیلی بر تفاوت پروتئازی و احتمالاً بیماری‌زایی در نوع ساب‌تایپ‌های مختلف باشد. در این مطالعه با انجام روش فایکول از محیط کشت مدفوع، نتایج قابل اعتمادتری به دست آمد.

واژگان کلیدی: بلاستوسیتیس؛ واکنش زنجیره‌ای پلیمرز؛ ساب‌تایپ؛ پروتئاز

ارجاع: خسروی دانش فرزین، موسوی مبارکه سمیه، یوسفی دارانی حسین، غیور نجف‌آبادی زهرا. فعالیت پروتئازی در ساب تایپ‌های مختلف

بلاستوسیتیس در اصفهان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۶۹): ۲۸۸-۲۹۴

مقدمه

بلاستوسیتیس، تک‌یاخته‌ای در دستگاه گوارش انسان و طیف وسیعی از حیوانات است که متعلق به شاخه‌ی استرمانوبیل می‌باشد. تخمین زده می‌شود که این انگل، ۱ تا ۲ میلیارد نفر را در سراسر جهان آلوده کرده است (۱). بر اساس تجزیه و تحلیل ژن rRNA (SSU)، ۲۲ ساب‌تایپ در انسان و در انواع حیوانات شناسایی شده است (۲). ساب‌تایپ ۱-۹ و ۱۲ در انسان گزارش شده، اما بیش از ۹۰ درصد گزارش‌ها مربوط به ساب‌تایپ‌های ۱-۴ می‌باشد (۳). با این‌که یک قرن از شناسایی این ارگانیسم می‌گذرد، اما

بیماری‌زایی آن همچنان بحث‌برانگیز می‌باشد. با این وجود بلاستوسیتیس را با علائم گوارشی از قبیل اسهال، درد شکمی، حالت تهوع، استفراغ، سندروم روده‌ی تحریک‌پذیر و کبیر مرتبط می‌دانند (۳). نوع ساب‌تایپ بلاستوسیتیس، تولید پروتئازها، تقابل این تک‌یاخته با فلور میکروبی دستگاه گوارش و ایجاد تغییر در عملکرد سیستم ایمنی میزبان از جمله عواملی هستند که در بیماری‌زایی یا میزان علائم مؤثر است (۴، ۵). به خوبی شناخته شده است که پروتئازها، نقش اصلی را در تقابل میزبان با پاتوژن ایفا می‌کنند. در انگل‌های روده‌ای مانند انتاموبیا و

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- کارشناس ارشد، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استادیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: زهرا غیور نجف‌آبادی: استادیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: ghayour@med.mui.ac.ir

کامل حذف شده بود. بلاستوسیتیس‌ها شمارش و به تعداد 10^6 در ۱ میلی‌لیتر رسانده شد.

استخراج DNA و PCR ۵۰ میکرولیتر از سلول‌های بلاستوسیتیس جمع‌آوری شده از محیط کشت در تیوب ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه قرار گرفت. سپس در دور 12000 rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول رویی حاوی DNA برای مراحل بعد مورد استفاده قرار گرفت.

برای تکثیر قطعه‌ی SSU-rRNA بلاستوسیتیس از پرایمرهای اختصاصی (5'-ATCTGGTTGATCCTGCCAGT-3') RD5 و (5'-GAGCTTTTAACTGCAACAACG-3') BhRDr استفاده گردید (۱۲). برای انجام PCR با حجم ۲۵ میکرولیتر، از ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس آمپلیکون (دانمارک)، ۸/۵ میکرولیتر آب مقطر، ۱ میکرولیتر از هر کدام پرایمرها (۱۰ پیکومول) و ۲ میکرولیتر DNA استفاده گردید. با برنامه‌ی دمایی PCR ابتدا ۳ دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و سپس ۳۵ سیکل شامل، ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۲۰ ثانیه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و در نهایت ۱ دقیقه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد با کمک ترموسایکلر PCR BIORAD T100 انجام گرفت. محصول PCR روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد و باندها به وسیله‌ی دستگاه ترانس لومیناتور مشاهده گردید.

تعیین توالی: محصولات PCR با استفاده از پرایمر BhRDr برای تعیین توالی به آزمایشگاه جامع دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ارسال شد. کیفیت توالی‌یابی با نرم‌افزار Chromas مورد بررسی قرار گرفت و توالی‌ها با فرمت FASTA در پایگاه NCBI به آدرس (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>) بررسی گردید. همچنین با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 توالی‌ها هم‌ردیف و درخت تکاملی آن رسم گردید.

روش Gelatin/SDS-PAGE در این روش، پروتئین ژلاتین در ژل آکریل‌آمید استفاده گردید. ژلاتین پس از الکتروفورز توسط پروتئازها هضم شده و پس از رنگ‌آمیزی ژل با کوماسی بلو نوارهای شفاف‌ی در زمینه‌ی آبی مشاهده می‌شود. لیزات سلولی بلاستوسیتیس‌هایی که تعیین توالی شده بودند، توسط Gelatin/SDS-PAGE برای فعالیت پروتئاز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با استفاده از سیستم بافر ناپیوسته (۱۳) و با غلظت آکریل‌آمید ۱۲/۵ درصد این روش انجام گرفت. به طور خلاصه، ۰/۳ درصد (وزنی/حجمی) ژلاتین در ژل حل شد. نمونه‌ها جوشانده نشدند و همچنین در بافر لودینگ از ۲-مرکاپتواتانول استفاده نشد، تا پروتئین‌ها دناتوره نشده و پروتئازها غیر فعال نشوند. پس از

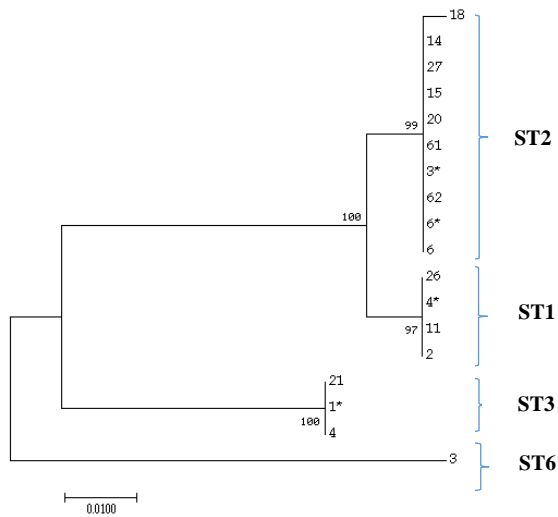
ژل‌ریزی، سیستمین پروتئازها به عنوان فاکتورهای کارآمد حدت در نظر گرفته شده‌اند (۶، ۷). در مطالعات انجام شده بر روی فعالیت‌های پروتئاز ST4 و ST7 بلاستوسیتیس نشان داده شد، پروتئازها قادرند ایمونوگلوبولین‌های A انسانی را در شرایط آزمایشگاهی بشکنند و نفوذپذیری سلول‌های اپی‌تلیال روده را افزایش دهند (۹، ۸). با این حال، تغییرات درون و درون‌زیرگروهی با حدت و فعالیت پروتئاز بلاستوسیتیس مرتبط است که احتمالاً منعکس‌کننده‌ی تغییرات در سرتاسر ژن‌های پروتئاز در میان زیرگروه‌ها است (۱۰). در حال حاضر مطالعات در ارتباط با فعالیت پروتئازی سابتایپ‌های بلاستوسیتیس محدود می‌باشد، در مطالعه‌ی حاضر، فعالیت پروتئاز بلاستوسیتیس زیرگروه‌های ۱-۳ و ۶ مورد ارزیابی قرار گرفتند.

روش‌ها

این مطالعه‌ی مقطعی-توصیفی با کد اخلاق IR.MUI.MED.REC.1399.776 از اسفندماه ۱۳۹۹ تا آذر ماه ۱۴۰۰ بر روی ۶۰۰ نمونه مدفوع از مراجعین به آزمایشگاه‌های شهر اصفهان انجام گرفت. هر نمونه‌ی مدفوع بلاستوسیتیس مثبت، معیار ورود نمونه به مطالعه و هر نمونه‌ی مدفوع بلاستوسیتیس منفی، معیار خروج از مطالعه بود. نمونه‌های بلاستوسیتیس مثبت بلافاصله برای انجام آزمایشات بعدی به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انتقال می‌یافت.

بررسی مستقیم و کشت: نمونه‌های مدفوع جمع‌آوری شده به روش مستقیم با میکروسکوپ مورد آزمایش قرار گرفت. سپس ۵۰ نمونه‌ی مثبت و مشکوک به بلاستوسیتیس میکروسکوپی، در محیط اختصاصی جونز با ۱۰ درصد سرم اسب غیر فعال کشت داده شد (۱۱). بعد از گذشت ۷۲ ساعت و در صورت مثبت بودن، هر کدام از کشت‌ها در دو و یا سه محیط جونز جدید پاساژ داده شد و بعد از گذشت ۴ روز محیط‌ها در دور 2000 به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. رسوب تمام لوله‌های یکسان مخلوط گردید و حجم نهایی با سرم فیزیولوژی به حجم ۶ میلی‌لیتر رسید. سپس به آرامی محلول حاوی بلاستوسیتیس، روی ۴ میلی‌لیتر فایکول سرد اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت 2500 rpm در دمای ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. لایه‌ی ابری مابین محلول زیری فایکول و رویی سرم فیزیولوژی که شامل بلاستوسیتیس بود، جدا گردید و با سرم فیزیولوژی به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به علت سمی بودن فایکول، انگل‌های جمع‌آوری شده در دور 1500 rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. جهت دستیابی به تک یاخته‌ی عاری از هرگونه آلودگی، مرحله‌ی جداسازی با استفاده از فایکول مجدداً تکرار گردید. با مشاهده‌ی رسوب، باکتری‌ها و مخمرها به صورت

درخت تکاملی: برای رسم درخت تکاملی از ۱۸ توالی دارای پیکهای منظم (در برنامه‌ی Chromas) استفاده شد. درخت تکاملی با استفاده از روش Neighbor-Joining تعریف و درخت بهینه با مجموع شاخه ۰/۱۶۵۱۴۸۲۵ نشان داده شد. مقادیر Bootstrapping با ۲۰۰۰ تکرار به دست آمد. مقیاس درخت، با طول شاخه در واحدهای مشابه به عنوان فاصله‌های تکاملی درخت فیلوژنتیک رسم گردید (شکل ۲).



شکل ۲. رسم درخت تکاملی با استفاده از نرم‌افزار MEGA7

چهار نوع ساب‌تایپ از هم تفکیک شد. بیش‌ترین شباهت بین ST1 و ST2 مشاهده شد و ST6 با دیگر ساب‌تایپ‌ها کاملاً تفاوت مشخص داشت.

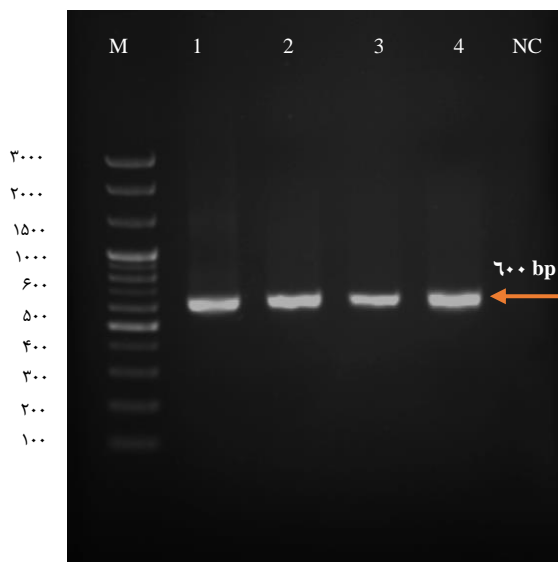
۴-۱-۸-۱ فعالیت پروتئازی: در صورتی که فعالیت پروتئازی وجود داشته باشد درون ژل آکریل آمید حاوی ژلاتین، باندهای بی‌رنگ دیده می‌شود. رنگ پس‌زمینه به دلیل وجود پروتئین ژلاتین و در حضور رنگ کوماسی بلو به رنگ آبی پررنگ دیده می‌شود و در مکان‌هایی که پروتئاز حضور داشته این ژلاتین مصرف شده و به صورت بی‌رنگ مشاهده می‌شود. زمانی که از محلول فایکول برای خالص‌سازی بلاستوسیتیس استفاده گردید، تعدادی از باندها و اسمیرهای ناشی از فعالیت آنزیمی سایر عوامل موجود در محیط کشت مانند باکتری‌ها، مخمرها، بقایای سلول‌های گیاهی و جانوری هضم نشده، حذف شد (شکل ۳).

در روش Gelatin/SDS-PAGE ساب‌تایپ ۲ دارای باند اصلی مشخص دارای اندازه در حدود ۲۰ کیلو دالتون و باندهای با وزن مولکولی بالا از ۲۰۰-۷۵ قابل مشاهده بود. ST1 و ST3 نیز دارای باند ۲۰ کیلو دالتون بودند. علاوه بر آن در ST3 باند ۶۰ و ۱۸۰ کیلو دالتون

الکتروفورز با جریان ثابت ۳۰ میلی‌آمپر به مدت ۱/۵ ساعت تنظیم گردید. پس از آن برای حذف SDS، ژل‌ها ۱ ساعت در ۲/۵ درصد، Triton X-100 (v/v) قرار گرفت. پروتئازها با قرارگیری ژل‌ها در بافر حاوی ۱ میلی‌مولار DTT به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد فعال شدند. باندها با استفاده از رنگ‌آمیزی کوماسی بلو R-250 به مدت ۱ ساعت و بعد از رنگ‌بری، مشاهده شدند (۱۴).

یافته‌ها

در روش بررسی مستقیم میکروسکوپی، ۵۰ نمونه (۸/۳۳ درصد) از لحاظ بلاستوسیتیس مثبت و یا مشکوک به بلاستوسیتیس بود که ۳۴ نمونه در کشت، مثبت شد. از نمونه‌های PCR شده (شکل ۱)، ۱۸ نمونه تعیین توالی شد. با تعیین توالی ۱۸ نمونه، تعداد ۴ ساب‌تایپ به دست آمد که برای مطالعه و بررسی پروتئاز ساب‌تایپ‌ها کافی بود.



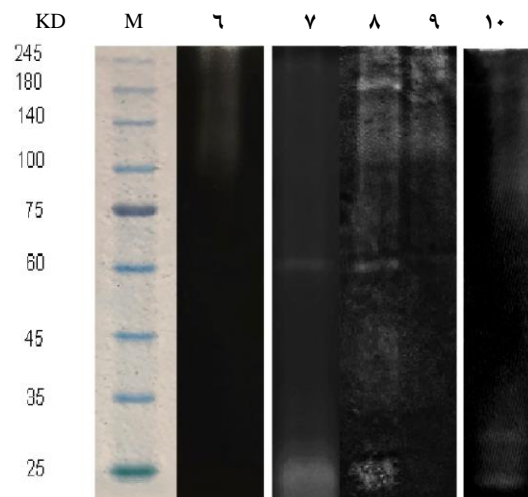
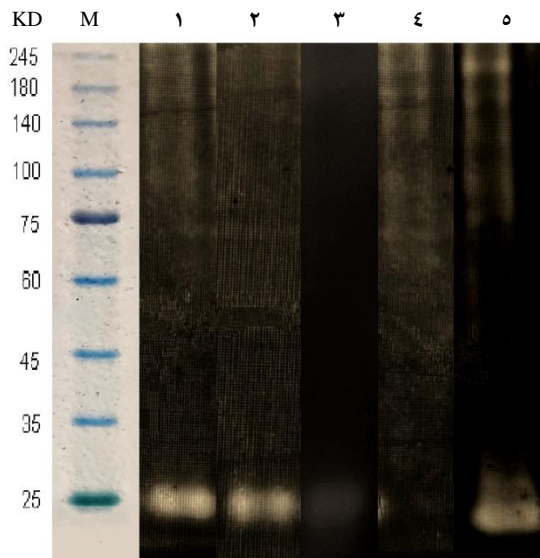
شکل ۱. ژل الکتروفورز M مارکر ۱۰۰ bp، NC کنترل منفی، ۱ نمونه کنترل مثبت، ۲-۴ نمونه‌های مثبت

با بررسی توالی‌های انجام شده، بیشترین ساب‌تایپ مربوط به ST2 با فراوانی ۵۵/۶ درصد و سپس ST1 (۲۲/۲ درصد) بود (جدول ۱).

جدول ۱. فراوانی ساب‌تایپ‌ها

نوع ساب‌تایپ	ST6	ST3	ST2	ST1
تعداد	۱	۳	۱۰	۴
تعداد (درصد)	(۵/۵)	(۱۶/۷)	(۵۵/۶)	(۲۲/۲)

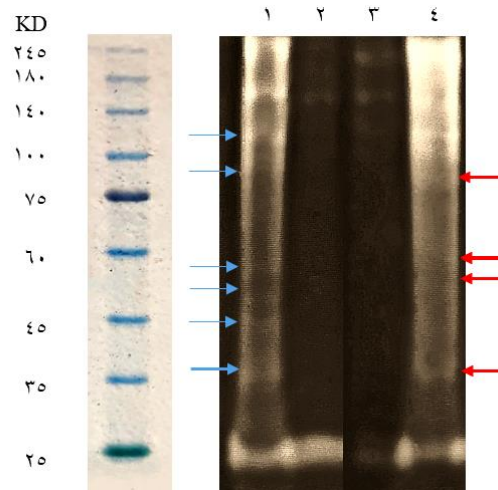
۴ نوع ساب تایپ بلاستوسیسیتیس (ST1, ST2, ST3 و ST6) مشاهده شد. از این تعداد، ST2 دارای فراوانی بیشتری بود که این نتیجه با مطالعه دیگری که در اصفهان انجام شد همخوانی داشت؛ ولی در اغلب مطالعات صورت گرفته در ایران بیشترین فراوانی مربوط به ST1 و ST3 می باشد (۱۷-۲۰). در مطالعه متاآنالیز انجام شده، ساب تایپ غالب در ایران، ST1 در نظر گرفته شده است (۲۱).



شکل ۴. ژل آکریل آمید در روش Gelatin/SDS-PAGE برای نمایش فعالیت پروتئازی که باندهایی روشن بر اثر تجزیهی ژلاتین ظاهر شده؛ نمایش الگوهای متفاوت فعالیت پروتئازی در ساب تایپ های مختلف بلاستوسیسیتیس نمونهی شمارهی ۱-۵، ST2، ۶، ST6، ۷-۹، ST3 و ۱۰ می باشد.

در این مطالعه یک مورد ST6 یافت شد که میزان اصلی آن

مشاهده گردید که مخصوص ST3 بود. در ST1 نیز علاوه بر باند ۲۰ کیلو دالتون باند اختصاصی ۳۰ و چند باند بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ کیلو دالتون مشاهده شد. ST6 باندهای با وزن مولکولی پایین نداشت و در الگوی پروتئازی با سایر ساب تایپ ها تفاوت عمده داشت (شکل ۴).



شکل ۳. ژل ژلاتین/آکریل آمید، برای نمایش فعالیت پروتئازی که بر اثر تجزیهی ژلاتین باندهای بدون رنگ ظاهر شده؛ الگوهای متفاوت فعالیت پروتئازی در دو نمونه با ST2 قبل و بعد از خالص سازی با محلول فایکول. شمارهی ۱ و ۴؛ بدون خالص سازی با باندهای متعدد دیده می شود. شمارهی ۲ و ۳ بلاستوسیسیتیس خالص می باشند. دارای یک باند ۲۰ و دو باند در محدودهی ۱۵۰ و ۲۰۰. فلش های آبی نشان دهندهی باندهای حذف شده در نمونه ۱ در مقایسه با نمونهی ۲ و فلش قرمز نمونهی ۴ در مقایسه با نمونهی ۳ است.

بحث

در این مطالعه، درصد شیوع آلودگی به بلاستوسیسیتیس (۸/۳ درصد) نسبت به سایر مطالعات صورت گرفته کاهش داشته است (۱۵). دلیل اصلی برای کاهش میزان بلاستوسیسیتیس در افراد ممکن است به شیوع ویروس کرونا که منجر به محدودیت های سفر بین شهری و رفت آمد مردم با یکدیگر، تغییرات در زندگی روزمره و رفتارهای بهداشتی، از جمله افزایش شستن دست ها، که احتمال فرار گرفتن در معرض عوامل بیماری زای غذایی را تغییر داده است مداخلات گسترده بهداشت عمومی برای جلوگیری از انتقال SARS-CoV-2 به این کاهش کمک کرده باشد (۱۶).

در مرحلهی PCR از یک ناحیه، ۶۰۰ نوکلئوتیدی بارکدی در ژن زیر واحد کوچک ریبوزوم استفاده شد. این ناحیه جهت بررسی ساب تایپ ها بسیار قابل اطمینان می باشد (۱۲). در مطالعهی حاضر،

پروتئازهای با وزن مولکولی پایین و بالا وجود دارد ولی باندهای مشاهده شده متفاوت از مطالعه‌ی آنها بود. تغییرات در فعالیت پروتئازها در بین ساب‌تایپ‌های بلاستوسیستیس در مکان‌های مختلف ممکن است منجر به تفاوت در بیماری‌زایی آنها شود و دلیلی برای تفاوت بودن بیماری در ساب‌تایپ‌های مختلف در مطالعات متعدد باشد.

Sio و همکاران، پروتئازهایی با وزن مولکولی بالا و پایین شامل پنج باند بین ۴۴ تا ۷۵ کیلو دالتون و چهار باند بین ۲۰ تا ۳۳ کیلو دالتون مشاهده نمودند (۳۳). نوع ساب‌تایپ در این پژوهش مشخص نشده و مقایسه بین چند تک‌یاخته‌ی دیگر صورت گرفته بود و همچنین روش خاصی برای جداسازی بلاستوسیستیس از سایر سلول‌های مزاحم در محیط کشت انجام پذیرفته بود. در مطالعه‌ی حاضر، بدون انجام فایکول نمونه‌ها دارای باکتری و باندهای متعددی مشاهده شد که با انجام مرحله‌ی فایکول و خالص‌سازی بلاستوسیستیس‌ها، این باندهای غیر اختصاصی متعلق به سایر عوامل نیز حذف گردید. در ST6 مطالعه‌ی حاضر، پروتئاز با باندهای وزن مولکولی پایین مشاهده نشد. تفاوت بودن الگوی پروتئازی در ST6 با جایگاه آن در درخت فیلوژنی که کم‌ترین شباهت را با دیگر ساب‌تایپ‌ها داشت، تأیید گردید.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات مشابه انجام شده، به نظر می‌رسد که فعالیت پروتئازی در ساب‌تایپ‌های مختلف، متفاوت می‌باشد. همچنین فعالیت پروتئازی در موقعیت‌های جغرافیایی مختلف در ساب‌تایپ‌های یکسان هم متفاوت است. این تک‌یاخته‌ی اسرآرمیز همچنان ناشناخته باقی مانده است و نیاز دارد که مطالعات بیشتر در زمینه‌های مختلف همانند تعیین ساب‌تایپ‌ها در موقعیت‌های جغرافیایی و میزبان‌های متفاوت، بیماری‌زا بودن و فعالیت پروتئازی ساب‌تایپ‌های آن انجام شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد انگل‌شناسی به شماره ۳۹۹۶۹۷ می‌باشد که با همکاری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شده است. از همکاری معاونت پژوهشی و گروه انگل‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی اصفهان تشکر و قدردانی می‌شود.

طیور بودند (۲۲) و در مطالعه‌ی حاضر ST4 وجود نداشت، این نتیجه مطابق با یافته‌های مطالعات قبلی است که نشان می‌داد، ST4 در آسیا و خاورمیانه نادر است، در حالی که ST4 یکی از شایع‌ترین ساب‌تایپ‌ها در اروپا می‌باشد (۲۳). در این مطالعه، تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنی نشان داد که ST1 و ST2 دارای شباهت بیشتری نسبت به سایر ساب‌تایپ‌های به دست آمده هستند. در سایر مطالعات نیز رابطه‌ی نزدیک بین ST1 و ST2 تأیید شده است (۲۴، ۲۵).

نقش بیماری‌زای بلاستوسیستیس بحث‌برانگیز باقی مانده است (۲۶). تاکنون بسیاری از آنزیم‌های هیدرولیتیک مؤثر در بیماری‌زایی در موجودات شناسایی شده‌اند و پروتئازهای بلاستوسیستیس نیز در بیماری‌زایی انگل نقش مهمی دارند (۲۷). پروتئازهای آزاد شده توسط بلاستوسیستیس مانند سیستین و سرین پروتئازها، می‌توانند آپوپتوز را از طریق کاسپاز ۳ تحریک کنند (۲۸). این پروتئازها، عملکردهای سد روده را مختل می‌کنند، پروتئازها همچنین می‌توانند SigA را تجزیه کنند که منجر به فرار انگل از سیستم ایمنی میزبان و کلونیزه شدن در دستگاه گوارش می‌شود (۲۹، ۳۰). پروتئازهای آزاد شده توسط انگل‌های تک‌یاخته، نقش مهمی در پاتوژنز دارند و به نظر می‌رسد، ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی را تحریک می‌کنند (۳۱).

اهمیت پروتئازها در پاتوژنز بلاستوسیستیس به‌ویژه سیستین پروتئازها در بقای انگل و بیماری‌زایی حیاتی هستند (۲۶). در تک‌یاخته‌ها، اکثر سیستین پروتئازها با وزن مولکولی بین ۲۰ تا ۳۳ کیلو دالتون می‌باشند (۳۲). در این مطالعه ST1-3 دارای باند ۲۰ کیلو دالتونی که مشخصه‌ی سیستین پروتئاز است، بودند. این باند از وضوح بیشتری در ST2 نسبت به سایر ساب‌تایپ‌ها برخوردار بود، که ممکن است دلیل قابل توجهی در بیماری‌زایی ST2 باشد. نتایج مطالعات متعدد بیماری‌زا بودن ST2 را گزارش کرده‌اند (۳۰-۳۲).

Abdel-Hameed و Hassanin، فعالیت پروتئاز بلاستوسیستیس ST3 از انسان‌های علامت‌دار و بدون علامت جدا شده را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که پروتئازها در ۹۴/۴ درصد از بیماران علامت‌دار و ۲۵ درصد از افراد بدون علامت، وجود دارد. در مطالعه‌ی فوق نشان داده شد که ST3 دارای پروتئازهای با وزن مولکولی بالا و همچنین وزن مولکولی پایین می‌باشد (۱۴). نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که در ST3،

References

1. Scanlan PD, Stensvold CR. Blastocystis: getting to grips with our guileful guest. *Trends Parasitol* 2013; 29(11): 523-9.
2. Stensvold CR, Clark CG. Pre-empting Pandora's box: Blastocystis subtypes revisited. *Trends Parasitol* 2020; 36(3): 229-32.
3. Ajjampur SSR, Tan KSW. Pathogenic mechanisms in Blastocystis spp.-Interpreting results from in vitro and in vivo studies. *Parasitol Int* 2016; 65(6 Pt B): 772-9.
4. Kurt Ö, Al FD, Tanyüksel M. Eradication of Blastocystis in humans: Really necessary for all?

- Parasitol Int 2016; 65(6 Pt B): 797-801.
5. Beghini F, Pasolli E, Truong TD, Putignani L, Cacciò SM, Segata N. Large-scale comparative metagenomics of Blastocystis, a common member of the human gut microbiome. *ISME J* 2017; 11(12): 2848-63.
 6. Buret AG. Mechanisms of epithelial dysfunction in giardiasis. *Gut* 2007; 56(3): 316-7.
 7. Que X, Reed SL. Cysteine proteinases and the pathogenesis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13(2): 196-206.
 8. Denoed F, Roussel M, Noel B, Wawrzyniak I, Da Silva C, Diogon M, et al. Genome sequence of the stramenopile Blastocystis, a human anaerobic parasite. *Genome Biol* 2011; 12(3): R29.
 9. Puthia MK, Lu J, Tan KS. Blastocystis ratti contains cysteine proteases that mediate interleukin-8 response from human intestinal epithelial cells in an NF- κ B-dependent manner. *Eukaryotic Cell* 2008; 7(3): 435-43.
 10. Gonzalez-Arenas NR, Villalobos G, Vargas-Sanchez GB, Avalos-Galarza CA, Marquez-Valdelamar LM, Ramirez-Miranda ME, et al. Is the genetic variability of Cathepsin B important in the pathogenesis of Blastocystis spp.? *Parasitol Res* 2018; 117(12): 3935-43.
 11. Clark CG, Stensvold CR. Blastocystis: isolation, xenic cultivation, and cryopreservation. *Curr Protoc Microbiol* 2016; 43(1): 20A.1.1-20A.1.8.
 12. Scicluna SM, Tawari B, Clark CG. DNA barcoding of blastocystis. *Protist* 2006; 157(1): 77-85.
 13. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227(5259): 680-5.
 14. Abdel-Hameed DM, Hassanin OM. Protease activity of Blastocystis hominis subtype3 in symptomatic and asymptomatic patients. *Parasitol Res* 2011; 109(2): 321-7.
 15. Alinaghizade A, Mirjalali H, Mohebbi M, Stensvold CR, Rezaeian M. Inter-and intra-subtype variation of Blastocystis subtypes isolated from diarrheic and non-diarrheic patients in Iran. *Infect Genet Evol* 2017; 50: 77-82.
 16. Ray LC, Collins JP, Griffin PM, Shah HJ, Boyle MM, Cieslak PR, et al. Decreased incidence of infections caused by pathogens transmitted commonly through food during the COVID-19 pandemic-foodborne diseases active surveillance network, 10 US sites, 2017-2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2021; 70(38): 1332-36.
 17. Khademvatan S, Masjedizadeh R, Yousefi-Razin E, Mahbodfar H, Rahim F, Yousefi E, et al. PCR-based molecular characterization of Blastocystis hominis subtypes in southwest of Iran. *J Infect Public Health* 2018; 11(1): 43-7.
 18. Moosavi A, Haghghi A, Mojarad EN, Zayeri F, Alebouyeh M, Khazan H, et al. Genetic variability of Blastocystis sp. isolated from symptomatic and asymptomatic individuals in Iran. *Parasitol Res* 2012; 111(6): 2311-5.
 19. Sardarian K, Hajilooi M, Maghsood A, Moghimbeigi A, Alikhani M. A study of the genetic variability of Blastocystis hominis isolates in Hamadan, west of Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2012; 5(4): 555-9.
 20. Motazedian H, Ghasemi H, Sadjadi SM. Genomic diversity of Blastocystis hominis from patients in southern Iran. *Ann Trop Med Parasitol* 2008; 102(1): 85-8.
 21. Badparva E, Ezatpour B, Mahmoudvand H, Behzadifar M, Behzadifar M, Kheirandish F. Prevalence and genotype analysis of blastocystis hominis in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Arch Clin Infect Dis* 2017; 12(1): e36648.
 22. Rauff-Adedotun AA, Zain SNM, Haziqah MTF. Current status of Blastocystis sp. in animals from Southeast Asia: a review. *Parasitol Res* 2020; 119(11): 3559-70.
 23. Alfellani MA, Stensvold CR, Vidal-Lapiedra A, Onuoha ESU, Fagbenro-Beyioku AF, Clark CG. Variable geographic distribution of Blastocystis subtypes and its potential implications. *Acta Trop* 2013; 126(1): 11-8.
 24. Stensvold CR, Suresh GK, Tan KS, Thompson RA, Traub RJ, Viscogliosi E, et al. Terminology for Blastocystis subtypes-a consensus. *Trends Parasitol* 2007; 23(3): 93-6.
 25. Forsell J, Granlund M, Stensvold CR, Clark G, Evengård B. Subtype analysis of Blastocystis isolates in Swedish patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31(7): 1689-96.
 26. Tan KSW, Mirza H, Teo JDW, Wu B, MacAry PA. Current views on the clinical relevance of Blastocystis spp. *Curr Infect Dis Rep* 2010; 12(1): 28-35.
 27. Nourrisson C, Wawrzyniak I, Cian A, Livrelli V, Viscogliosi E, Delbac F, et al. On Blastocystis secreted cysteine proteases: a legumain-activated cathepsin B increases paracellular permeability of intestinal Caco-2 cell monolayers. *Parasitology* 2016; 143(13): 1713-22.
 28. Puthia MK, Sio SWS, Lu J, Tan KSW. Blastocystis ratti induces contact-independent apoptosis, F-actin rearrangement, and barrier function disruption in IEC-6 cells. *Infect Immun* 2006; 74(7): 4114-23.
 29. Parija SC, Jeremiah SS. Blastocystis: Taxonomy, biology and virulence. *Trop Parasitol* 2013; 3(1): 17-25.
 30. Mirza H, Tan KSW. Blastocystis exhibits inter-and intra-subtype variation in cysteine protease activity. *Parasitol Res* 2009; 104(2): 355-61.
 31. Sajid M, McKerrow JH. Cysteine proteases of parasitic organisms. *Mol Biochem Parasitol* 2002; 120(1): 1-21.
 32. McKerrow JH, Sun E, Rosenthal PJ, Bouvier J. The proteases and pathogenicity of parasitic protozoa. *Annu Rev Microbiol* 1993; 47(1): 821-53.
 33. Sio SW, Puthia MK, Lee ASY, Lu J, Tan KSW. Protease activity of Blastocystis hominis. *Parasitol Res* 2006; 99(2): 126-30.

Protease Activity in Different *Blastocystis* Subtypes in Isfahan

Farzin KhosraviDanesh¹, Somayeh Mousavi-Mobarakeh²,
Hossain Yousofi-Darani³, Zahra Ghayour-Najafabadi⁴

Original Article

Abstract

Background: *Blastocystis* is an extracellular and immobile protozoan known as the most common protozoan found in the human gastrointestinal tract and a wide range of animals. Although it takes a long time to identify it, its role in the disease and health of people is controversial. Parasite protease is one of the important factors in eliciting symptoms. Thus, this study investigated protease activity in several subtypes.

Methods: Stool samples were collected from 600 patients referred to Isfahan laboratory centers. The samples were examined microscopically and the blastocysts positive samples were cultured in medium. The *blastocysts* were purified using the ficoll method. PCR and sequencing were performed to identify the subtypes. Gelatin/SDS-PAGE method was used to evaluate protease activity.

Findings: A total of 34 samples was positive in culture and PCR. Of these, 18 samples were sequenced, and 4 subtypes 1-3 and 6 were isolated. Subtype 2 was more common. In the Gelatin/ SDS-PAGE method, a large difference in the size of the bands resulting from protease activity was evident in different subtypes. 20 kDa band was observed in subtypes 1-3. In Subtype 6, the band pattern was completely different from other subtypes.

Conclusion: Differences in protease band size were observed in different subtypes, which could probably be the reason for the difference in protease activity and pathogenicity in different subtypes. The present study obtained more reliable results using the ficoll method.

Keywords: *Blastocystis*; Polymerase chain reaction; Subtype; Protease

Citation: KhosraviDanesh F, Mousavi-Mobarakeh S, Yousofi-Darani H, Ghayour-Najafabadi Z. **Protease Activity in Different *Blastocystis* Subtypes in Isfahan.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(669): 288-94.

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

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

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

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

Corresponding Author: Zahra Ghayour-Najafabadi, Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: ghayour@med.mui.ac.ir

Editorial Board (In alphabetical order)

1. Khosrow Adeli PhD Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
2. Ali Akhavan MD Assistant Professor of Radiation Oncology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3. Mohammadreza Akhlaghi MD Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4. Reza Amin MD Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
5. Babak Amra MD Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6. Saeed A. Jortani PhD Professor of Pathology, University of Louisville, Louisville, KY, USA
7. Reza Bagherian-Sararoudi PhD Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. Majid Barekatain MD Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. Ken Bassett MD, PhD Professor of Therapeutics Initiative, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada
10. Ahmad Chitsaz MD Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
11. Shahin Emami PhD Department of Biochemistry, Saint Antoine Hospital, French Institute of Health and Medical Research, Paris, France
12. Ebrahim Esfandiary MD, PhD Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
13. Ahmad Esmaeilzadeh PhD Professor of Nutrition, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
14. Ziba Farajzadegan MD Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
15. Aziz Gahari MD Professor of Plastic Surgery, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada
16. Jafar Golshahi MD Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
17. Mostafa Hashemi MD Associate Professor of Otolaryngology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
18. Saied Morteza Heidari MD Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. Ali Hekmatnia MD Professor of Radiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
20. Fariba Iraj MD Professor of Dermatology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
21. Faramarz Ismail-Beigi MD, PhD Professor of Endocrinology, University Hospitals Cleveland Medical Center, Cleveland, OH, USA
22. Roya Kelishadi MD Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. Behnaz Khani MD Associate Professor of Obstetrics and Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
24. Majid Keiroollahi PhD Associate Professor of Genetics and Molecular Biology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
25. Parvin Mahzooni MD Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. Marjan Mansourian PhD Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
27. Mohammad Mardani MD Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. Mehdi Modarres-Zadeh MD Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
29. Etie Moghisi MD Associate Professor of Endocrinology, Marina Diabetes and Endocrinology Center, Marina del Rey, CA, USA
30. Mohammadreza Nourbakhsh PhD Professor of Physiotherapy, North Georgia College, Dahlonega, GA, USA
31. Farzin Pourfarzad PhD Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, the Netherlands
32. Masoud Pourmoghaddas MD Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
33. Maryam Radahmadi PhD Associate Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
34. Hassan Razmjou MD Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
35. Reza Rouzbahani MD Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. Masih Saboori MD Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
37. Mohammad Reza Safavi MD Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
38. Rasoul Salehi PhD Assistant Professor of Genetics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
39. Mansour Sholevar MD Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. Mohammadreza Sharifi MD, PhD Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. Masoud Soheilian MD Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 40, No. 669, July 2022

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman: Saied Morteza Heidari MD

Emerita Editor-in-Chief: Roya Kelishadi MD

Editor-in-Chief: Reza Khadivi MD

Owner:

Isfahan University of Medical Sciences
Email: publication@mui.ac.ir

Office:

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

Executive Manager: Marjan Zareian MD

Office Secretary: Bentolhoda Heidari

Publisher:

Arman Research Institute

Email: armri.org@gmail.com

<http://armri.org>

Tel/fax: +98 31 36532345

Circulation: 500

This journal is indexed in the following indexers

- Scopus
- EMBASE
- Chemical Abstracts
- Directory of Open Access Journals (DOAJ)
- Google Scholar
- Islamic World Science Citation Center (ISC)
- WHO/EMRO/Index Medicus
- Scientific Information Database (SID)
- Academic Search Complete EBSCO Publishing databases
- Magiran
- Index Copernicus
- Index Academicus
- Iran Medex

The online version is available in; IUMS website (www.journals.mui.ac.ir/jims), Iran

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

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL



Print ISSN: 1027-7595
Online ISSN: 1735-854x

Weekly Vol. 40, No. 669, 1st Week, July 2022

Original Articles

Evaluation of Anti-Cancer Effect of Cold Atmospheric Plasma as a New Treatment and Indocyanine Green as a Photosensitizer in Inhibition of Melanoma Cell Line 277

Sara Momeni, Ahmad Shanei, Ameneh Sazgarnia, Neda Attaran, Seyed Amir Aledavood

The Effect of Dracocephalum Kotschy Hydroalcoholic Extract on Biochemical and Hematological Parameters in Rat 287

Amirmahdi Safary, Fouzieh Zadhoush, Afsaneh Yagdaneh, Ali Hosseini-Sharifabad, Ardeshir Talebi, Hassan Sadraei

Protease Activity in Different Blastocystis Subtypes in Isfahan 294

Farzin KhosraviDanesh, Somayeh Mousavi-Mobarakeh, Hossain Yousofi-Darani, Zahra Ghayour-Najafabadi