



فصلنامه

علوم پزشکی

دانشگاه آزاد اسلامی
واحد پزشکی تهران

شاپا: ۵۹۲۲-۱۰۲۳

دوره ۳۱- شماره ۴- پی در پی ۱۰۷- زمستان ۱۴۰۰

- ۳۶۷ * بررسی سمیت سلولی متابولیت‌های ثانویه *Streptomyces koyangensis* و *Streptomyces tunisiensis* جدا شده از خاک‌های نمکی شهر گرمسار بر روی رده سلولی سرطان پستان انسان (MCF-7, IBRC C10082)
مریم نیک بخت، بهین امید، محمدعلی آموزگار، کیومرث امینی
- ۳۷۷ * پیش تغلیظ داروی ایماتینیب به روش میکرواستخراج فاز مایع با استفاده از روش مایع-مایع بخشی با طراح کمومتری و اندازه‌گیری به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در مقادیر ناچیز
پگاه پورمند، مهناز قمی، جواد حسینی
- ۳۸۸ * بررسی نقش پروپولیس (بره موم) به عنوان یک کاندیدای دارویی در بیان ژن سیتوکین پیش التهابی اینترلوکین ۱-β در موش دچار آلزایمر
مریم سعیدی، فاطمه روح الله
- ۳۹۷ * مطالعه اثر استیل ال کارنیتین بر اختلال شناختی و سلولی منتج از التهاب القا شده به وسیله لیپوپولی ساکارید در موش صحرائی نر: با تاکید بر مسیرهای سلولی AKT / mTOR و التهاب در هیپوکامپ
نیدا جمالی رثوفی، مطهره زینی وند، فهیمه علیزاده، ثریا مهربانی
- ۴۰۶ * تعیین فراوانی ژن‌های همولیزین آلفا، بتا و دلتا در استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک جدا شده از نمونه‌های زخم و ادرار بیماران
مینا آقاصفی، زهرا طهماسبی فرد
- ۴۱۳ * تأثیر تمرین منظم ورزش همگانی بر عملکرد نوتروفیلی، سطوح مبلوپراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مردان میانسال
سید رضا رحیمی مقدم، علی رضا علمیه، محمدرضا فدائی چافی
- ۴۲۵ * تغییرات آسفریسیتی و ابیراهی‌های رده بالا چشم در عمل کراتکتومی فوتورفرکتیو (PRK)
علی زارع جوشقانی، علی رضا برادران رفیعی، فرهاد ادهمی مقدم
- ۴۳۲ * مقایسه اثربخشی واقعیت درمانی و رویکرد تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور
راضیه زاهدی، مینا مجتبابی، امین رفیعی‌پور
- ۴۴۲ * بررسی مقایسه‌ای عوامل تنش‌زا در دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران
نیلوفر جیحانی، بهاره اکبرزاده، نرگس حسن مرادی، محمد صاحب الزمانی
- ۴۵۰ * روان‌سنجی ابزار خودکارآمدی سونداز متناوب تمیز اداری در بیماران مبتلا به مثانه عصبی بستری در بیمارستان‌های توانبخشی منطقه یک شهر تهران سال ۱۳۹۸
افسانه مستقیم احمدآبادی، فائزه صحبایی روی، شیرین حجازی
- ۴۵۹ * ترومبوز وریدهای عمقی در اندام فوقانی: گزارش مورد
آدین حسین دخت، حسام الدین وریائی، مصطفی محمدی، حمیدرضا امیری
- ۴۶۴ * افت عملکرد زود هنگام کلیه پیوندی در بیمار با سابقه سنگ کلیه متعدد: گزارش مورد هایپرآگزوری اولیه
رکسانا پی سپار، فرحناز پاشا، احمد فیروزان، امیرحسین زابلیان

شماره ۴- پی در پی ۱۰۷



MEDICAL SCIENCES JOURNAL

OF ISLAMIC AZAD UNIVERSITY
TEHRAN MEDICAL BRANCH

ISSN :1023 -5922

Vol.31, No 4, Serial , 107, Fall 2022

- Cytotoxicity effect of secondary metabolites of *Streptomyces koyangensis* and *Streptomyces tunisiensis* isolated from saline soils of Garmsar City on human breast cancer cell line (MCF-7, IBRC C10082)
Maryam Nikbakht, Behin Omid, Mohammad Ali Amoozegar, Kumarss Amini
- Optimized preconcentration of Imatinib using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC-UV
Pegah Poormand, Mahnaz Qomi, Javad Hosseini
- Role of Propolis as a pharmaceutical candidate on interleukin-1β proinflammatory cytokine expression in Alzheimer's rat
Maryam Saeidi, Fatemeh Rouhollah
- Study on the effect of acetyl L-carnitine on cognitive and cellular disorders resulting from lipopolysaccharide-induced inflammation in male rats: emphasis on AKT / mTOR cell pathways and inflammation in the hippocampus
Nida Jamali-Raeufy, Motahareh Zeinivand, Fahimeh Alizadeh, Soraya Mehrabi
- Determination of hemolysine genes frequency in antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from wound and urine samples of patients
Mina Aghsafi, Zahra Tahmasebi Fard
- The effect of leisure time regular exercise on neutrophil function, myeloperoxidase levels, and antioxidant capacity in middle-aged men
Seyed Reza Rahimi Moghaddam, Alireza Elmieh, Mohammad Reza Fadaei Chafy
- Effects of optimized photorefractive keratectomy (PRK) operation on the asphericity and high-order aberration changes
Ali Zare Joshaghani, Alireza Baradaran Rafii, Farhad Adhami Moghaddam
- Comparing the effectiveness of reality therapy and the approach of interactional behavior analysis on character strength in infertile women
Razieh Zahedi, Mina Mojtabaie, Amin Rafiepour
- Comparative study of stressors in medical and non-medical students of Tehran Islamic Azad University
Niloufar Jeyhani, Bahareh Akbarzadeh, Narges Hasanmoradi, Mohammad Sahebalzamani
- Psychometrics of the self-efficacy instrument of clean intermittent urinary catheterization in patients with neural bladder admitted to rehabilitation hospitals in Tehran in 2019
Afsaneh Mostagim Ahmadabadi, Faezeh Sahbaeiroy, Shirin Hejazi
- Upper limb deep vein thromboembolism: a case report
Azin Hossein Dokht, Hesam Aldin Varpaei, Mostafa Mohammadi, Hamidreza Amiri
- Early dysfunction of transplanted kidney revealed the cause of recurrent nephrolithiasis: a case report of primary hyperoxaluria
Roxana Peysepar, Farahnaz Pasha, Ahmad Firoozan, Amirhossein Zabolian

دوره ۳۱- زمستان ۱۴۰۰



مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی

فصلنامه علمی پژوهشی

صاحب امتیاز: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران

مدیر مسئول و سردبیر: دکتر سید حسین یحیوی

شماره پروانه انتشار: ۱۰۲/۵۸۴۹- وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی

شاپای چاپی: ۵۹۲۲-۱۰۲۳

شاپای الکترونیکی: ۳۳۸۶-۲۰۰۸

اعضای هیئت تحریریه به ترتیب حروف الفبا:

| | |
|---------------------------------|---|
| دکتر شهلا چاپچیان | استاد گروه زنان دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران |
| دکتر مهرانگیز زنگنه | دانشیار گروه عفونی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران |
| دکتر سید داوود سیادت | استاد گروه میکروبیولوژی انیستیتو پاستور ایران |
| دکتر حامد شفاوردی | دانشیار گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران |
| دکتر سید محمد مسعود شوشتریان | استاد گروه فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران |
| دکتر محبوبه صفوی | دانشیار مدیریت خدمات بهداشتی درمانی دانشکده پرستاری و مامایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران |
| دکتر ابوالفضل مهدیزاده | استاد گروه زنان دانشگاه علوم پزشکی ایران |
| دکتر سیده مریم وحدت شریعت پناهی | دانشیار گروه روان پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران |
| دکتر سید حسین یحیوی | استاد گروه بیهوشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران |

دوره ۳۱- شماره ۴- پی در پی ۱۰۷- زمستان ۱۴۰۰

داوران این شماره به ترتیب حروف الفبا: دکتر حسن ارگانی، دکتر خدیجه حاجی نقی تهرانی، دکتر ستاره حقیقت، دکتر شهرزاد خاکپور، دکتر محمدزارع، دکتر

سید داوود سیادت، دکتر سید محمد مسعود شوشتریان، دکتر فائزه صحبائی روی، دکتر محبوبه صفوی، دکتر منصور علی مهدی، دکتر امیرحسین عبدالغفاری،

دکتر فرشید غلامی، دکتر مهرداد غلامزاد، دکتر انسیه قاسمی، دکتر سیده زهرا موسوی، دکتر سید حسین یحیوی

قائم مقام سردبیر: دکتر مهرانگیز زنگنه

مدیر اجرائی: افسانه امینیان

ویراستار: دکتر حمید محقق شلمانی

مدیر وب سایت: افسانه امینیان

شمارگان: آنلاین

ناشر: معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی واحد تهران

چاپ: آنلاین

نشانی دفتر مجله: تهران، خیابان شریعتی، خیابان شهید خاقانی، خیابان عطاری مقدم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، کد پستی ۱۹۱۶۸

صندوق پستی: ۱۹۳۹۵/۱۴۹۵

تلفن: ۰۲۱-۲۲۶۱۸۵۵۱

دورنگار: ۰۲۱-۲۲۶۱۸۵۵۱

پیام نگار: info@iau-tmuj.ir, medical.journal@yahoo.com

پایگاه اینترنتی: www.iau-tmuj.ir

- تأمین منابع مالی برای چاپ و انتشار نشریه برعهده دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران می باشد.
- هرگونه استفاده از مطالب مندرج در نشریه بدون ذکر مأخذ ممنوع می باشد.
- مقالات مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی در نمایه های (EMRO) Index Medicus, Index Copernicus, google scholar, Iran Medex, SID, Magiran, CAB Abstracts & CinahlGlobal Health, و ISC نمایه می باشد. همچنین وب سایت مجله علوم پزشکی دوزبانه بوده و دارای امکاناتی نظیر Online Submission و داوری الکترونیکی می باشد. آرشیو مقالات نیز بصورت رایگان موجود است.

نام آنکه جان را فکرت آموخت

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی با هدف ارتقاء سطح دانش اساتید، پژوهشگران، پزشکان، دستیاران و دانشجویان پزشکی و آگاه ساختن آنها به فن آوری-های جدید و برخی از تحولات و دگرگونی های علم پزشکی، درحیطه های مربوط به علوم پایه، بالینی و بهداشتی به صورت فصلنامه وبه زبان فارسی انتشار می یابد.

انواع مقالات موردپذیرش عبارتنداز: مقالات پژوهشی اصیل (*Original Research Article*)، مقالات مروری (*Review Article*) که از اشخاص مجرب و صاحب نظر در موضوع مربوطه در صورتی که تعدادی از منابع و تجارب شخصی درمقاله به کاررفته باشد، پذیرفته خواهد شد، گزارش موردی (*Case Report*) که باید تاحدامکان از نوادر علوم پزشکی یا عوارض بسیار کمیاب بیماری های شایع باشد. هر نوع تضاد منافع و یا کمک مالی در انجام تحقیق میبایست ذکر شود. **ملاحظات اخلاقی** مطالعاتی که نیاز به بررسی کمیته اخلاق دارند با شماره تاییدیه کمیته اخلاق قابل ثبت و داوری خواهند بود.

« راهنمای نویسندگان »

مقررات مربوط به منع انتشار دوباره یک مطلب

- مقاله ارسالی به دفتر نشریه نباید قبلا در نشریه فارسی زبان دیگری چاپ شده باشد. همچنین بطور همزمان نباید تحت بررسی توسط مجله دیگری باشد و پس از ارایه مقاله به دفتر مجله «علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی» برای بررسی و چاپ به نشریه دیگری ارسال نشود مگر اینکه از سوی دفتر نشریه جوابیه ای مبنی بر رد چاپ مقاله دریافت نموده یا طی سه ماه هیچ پاسخی از سوی دفتر مجله دریافت نگردد.
- چنانچه مقاله قبلا در مجله علمی غیر فارسی زبان دیگری در داخل یا خارج از کشور به چاپ رسیده است (به جز به شکل چکیده یا بعنوان بخشی از سخنرانی منتشر شده یا ارایه شده در همایش و سمینارهای علمی، مقاله مروری یا پایان نامه) لازم است نویسنده مسئول مکاتبات، موضوع را کتبا "به سردبیر اطلاع داده و نسخه ای از مقاله چاپ شده را به همراه موافقت نامه چاپ مجدد مقاله که از ناشر اول اخذ نموده، ضمیمه نماید. در صورت پذیرفته شدن مقاله برای چاپ، این موضوع در قسمت زیر نویس صفحه عنوان مقاله، به اطلاع خوانندگان مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد خواهد رسید و محل انتشار اول آن نیز اعلام می شود.
- در صورتی که خلاصه مقاله در مجموعه مقالات یک همایش یا سمینار به چاپ رسیده باشد، مقاله کاملی که برای چاپ مجدد ارسال می شود، لازم است حداقل دو برابر خلاصه مقاله و با تعداد بیشتری از خلاصه مقاله، دارای جدول و نمودار باشد.
- اعلام اولیه اطلاعات علمی (معمولا در رسانه های عمومی) مقاله ای که پذیرفته شده ولی هنوز به چاپ نرسیده است، مخالف سیاست های این نشریه می باشد. در موارد محدود و تنها با هماهنگی سردبیر ممکن است آشکارسازی اولیه اطلاعات، قابل قبول باشد مثلا اگر فوریت در بهداشت عمومی مطرح باشد و مسئولین مربوطه، این کار را تایید کرده باشند.

تعارض در منافع

برای جلوگیری از تعارض در منافع (*Conflict of Interest*)، در مطالعات چند مرکزی، توافق نامه محققین مراکز، ضمیمه مقاله ارسال شود. در مطالعاتی که از طرف شرکت های خصوصی حمایت می شوند، مفاد توافق نامه، اعلام شوند.

محافظت از حق بیماران

اطلاعات هویتی نباید در نوشته ها، عکس ها و شجره نامه ها منعکس شود مگر آنکه برای مقاصد علمی ضروری باشد و بیمار (یا والدین یا قیم او) رضایت نامه آگاهانه را برای انتشار بصورت کتبی امضا نماید. در این ارتباط کد حفاظت از آزمودنی های انسانی که برگرفته از بیانیه هلسینکی است باید مورد توجه قرار گیرد.

روش های ارسال مقاله

- ارسال مقاله از بخش *Online Submission* وب سایت مجله؛
- ارسال مقاله از طریق پست الکترونیک مجله؛

- ارسال مقاله از طریق آدرس پستی دفتر مجله؛ در صورت ارسال مقاله از طریق پست فایل مقاله را در لوح فشرده (CD یا DVD) ذخیره و به همراه سه نسخه پرینت شده به دفتر نشریه ارسال نمایید.

نکات مهم

- چنانچه مقاله ارسالی از ساختار مندرج در این دستورالعمل به طور کامل تبعیت ننماید، قبل از مطرح شدن در جلسه هیئت تحریریه و تعیین داور، به نویسنده عودت داده خواهد شد تا پس از مطابقت متن مقاله با این ساختار، مجدداً ارسال و مورد بررسی قرار گیرد.
- مقاله را با استفاده از نرم افزار *Microsoft Word*، تایپ نموده و فایل آن را به همراه فرم تهدنامه نویسندگان (موافقت نامه و اگذاری حق چاپ و نشر مقاله) که توسط نویسنده مسئول تکمیل شده و به امضاء کلیه نویسندگان رسیده؛ به دفتر نشریه ارسال فرمائید. این فرم را می توانید از طریق وب سایت دریافت نمائید. در غیر این صورت از طریق تلفن و یا پست الکترونیک با دفتر مجله تماس حاصل فرمائید تا فرم برای شما ارسال شود.
- کلیه مقالاتی که نوع مطالعه آنها کارآزمایی بالینی می باشند، می بایست مجوز *IRCT* (ثبت کارآزمایی بالینی)، در زمان ارسال به همراه مقاله باشد.

بخش های مختلف مقاله پژوهشی اصیل :

۱- **صفحه اول یا صفحه عنوان:** شامل عنوان کامل مقاله، نام مؤلفین، سمت و مرتبه علمی (به فارسی و انگلیسی)، محل خدمت (بخش، بیمارستان، دانشکده، دانشگاه و شهر و یا محل اشتغال مؤلف یا مؤلفین)، آدرس کامل پستی مؤلفین (به فارسی و انگلیسی)، آدرس پست الکترونیک و شماره تلفن ثابت و همراه (مؤلف مسئول).

۲- **صفحه دوم یا صفحه چکیده:** شامل خلاصه و کلمات کلیدی (Key words) که ساختار آن به شرح زیر است:

در صفحه دوم باید خلاصه مقاله (حداکثر ۲۵۰ واژه) تایپ شود. خلاصه باید شامل ۴ بخش سابقه و اهداف، روش بررسی، یافته ها (نتایج) و بحث باشد. مؤلفین در ذیل خلاصه باید ۳ الی ۱۰ کلید واژه یا عبارت کوتاه ارائه و شناسایی کنند تا به تهیه کنندگان ایندکس (واژه یاب) کمک شود مقاله را اندکس کنند. واژه های فهرست Mesh (عناوین مباحث پزشکی) در ایندکس مدیکوس باید استفاده شود. اگر واژه های مناسبی از Mesh هنوز برای واژه های تازه معرفی شده وجود ندارد، می توان از واژه های جدید استفاده کرد.

۳- **صفحه سوم یا صفحات متن:** شامل مقدمه، مواد و روش ها، یافته ها (نتایج)، و بحث به شرح زیر می باشد :

۱-۳- مقدمه:

پس از آوردن سابقه مختصر علمی، هدف مقاله بیان شود و منطق تحقیق یا مشاهده به طور خلاصه اعلام گردد. تنه مراجع کاملاً مرتبط ذکر شود و داده ها یا نتیجه گیری های کار گزارش نشود.

۲-۳- روش ها:

جامعه مورد بررسی و نحوه نمونه گیری به وضوح بیان شود. سن، جنسیت و سایر مشخصه های مهم مشخص شوند. روش ها، وسیله و اقدامات با توضیح کافی بیان شود در حدی که سایر محققین بتوانند نتایج را بررسی و بازبایی کنند و یا در صورت تمایل پژوهش را به طور کامل تکرار نمایند. همه داروها و مواد شیمیایی استفاده شده مشخص شده، از جمله نام ژنریک، دوز و طریقه مصرف بیان شود. گزارش کارآزمایی های بالینی تصادفی شده باید اطلاعاتی راجع به همه عناصر مهم تحقیق ارائه کند، از جمله پروتکل تحقیق، تعیین نوع مداخلات و روش کور کردن تحقیق.

۳-۳- رعایت اصول اخلاقی:

- نام بیمار ذکر نشود.
- در صورت درج تصویر، چشم بیمار پوشانده شود و رضایت نامه دریافت گردد.
- در صورت کار با حیوانات آزمایشگاهی قوانین مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی رعایت شود.
- رعایت Copyright در ارائه اطلاعات از سایر منابع. مثلاً در زیر نویس تصویر که از یک منبع دیگر برگرفته شده باید کسب اجازه در ارائه تصویر مذکور از صاحب حقیقی یا حقوقی آن عنوان گردد.
- برای مطالعاتی که نیاز به مجوز کمیته اخلاق پزشکی می باشد؛ لازم است مجوز مذکور قبل از انجام مطالعه، اخذ شده باشد و این موضوع در مقاله مورد اشاره قرار گیرد.
- ثبت مطالعات کارآزمایی بالینی قبل از انتشار در نشریات و قبل از شروع به کار در کمیته کشوری ثبت کارآزمایی بالینی الزامی می باشد.

۳-۴- روش آماری: این روش ها باید با جزئیات کافی بیان شوند تا خواننده بتواند نتایج مقاله را آزمون کند. اشاره به نرم افزار مورد استفاده ضروری است ولی کافی نمی باشد. برای هر یک از متغیرهای تحقیق، آزمون آماری به کار گرفته شده قید شود. سعی شود از میانگین، میان، انحراف معیار و فواصل اطمینان برای نشان دادن نتایج پژوهش استفاده گردد.

۳-۵- یافته ها یا نتایج:

نتایج با ترتیب منطقی در متن، جداول و نمودارها، تصاویر و اشکال ارائه گردند. در مطالعات تحلیلی و کارآزمایی بالینی ابتدا با مقایسه خصوصیات دو گروه شاهد و مورد (تجربی) پرداخته شود و سپس داده های پژوهش آورده شود. داده های جدول، نمودارها و تصاویر در متن مجدداً تکرار نشود. داده ها باید فقط به یک صورت جدول یا نمودار ارائه شوند. روش های بررسی و بحث و نتیجه گیری در این بخش آورده نشوند.

۳-۶- بحث:

در پارگراف اول این بخش یافته های مهم که سؤالات تحقیق را پاسخ داده است آورده شوند. بر جنبه های مهم و تازه تحقیق و نتیجه گیری حاصل از آن تأکید گردد. داده های مطالب دیگر متعلق به بخش مقدمه یا نتایج تکرار نشوند. در قسمت بحث، تعبیر یافته ها و محدودیت آنها بیان گردند، مشاهدات به تحقیق های مرتبط دیگر ارتباط داده شده، علل تفاوت با یافته های دیگران تحلیل شوند. نتیجه گیری با اهداف تحقیق مرتبط گردند اما از اظهارات نامشخص و نتیجه گیری هایی که داده ها کاملاً آنها را پشتیبانی نمی کنند اجتناب شود. فرضیه های جدید در صورت لزوم بیان گشته و توصیه ها در انتهای بحث بیایند.

۳-۷- تشکر و قدر دانی:

در یک صفحه مجزا تشکر و سپاسگزاری از افراد و مؤسسات را بیاورند.

۳-۸- مراجع و منابع:

مراجع باید به نظم و ترتیب متوالی به ترتیب اشاره در متن، شماره گذاری شوند (شیوه ونکور). توجه خاص به نقطه گذاری و فاصله گذاری بین کلمات و حروف در هنگام تهیه فهرست منابع، ضروری است. مراجعی که انتشار آنها در مجلات پذیرفته شده اما هنوز منتشر نشده اند، باید با عنوان «زیر چاپ» نام برده شوند. در این موارد لازم است نسخه ای از نامه پذیرش مقاله برای چاپ ضمیمه گردد. مقالاتی که به مجله ارائه شده ولی هنوز پذیرفته نشده است، قابل ذکر بعنوان منبع نمی باشند. در صورتی که تنها خلاصه مقاله مورد استفاده قرار گرفته است، کلمه [abstract] در انتهای منبع درج شود. لازم است فهرست منابع، با دقت و دقیقاً مطابق با الگوی مثال های زیر تهیه شود:

• مقاله استاندارد نشریات:

شش مؤلف اول را نام برده و سپس عبارت «و همکاران» را ذکر کنند. آنگاه عنوان مقاله، عناوین خلاصه شده مجله، سال انتشار، شماره مجله و صفحات و آخر مقاله آورده شود. توجه خاص به نقطه گذاری در نوشتن مراجع ضروری است. در صورتی که تنها خلاصه مقاله مورد استفاده بوده است باید عبارت [abstract] یا [چکیده] در انتهای مراجع آورده شود.

مقاله انگلیسی:

Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up Br J Cancer 1996; 73: 1006-12.

مقاله فارسی:

لازم است با مراجعه به چکیده انگلیسی مقاله فارسی، مشخصات مقاله مشابه مثال فوق به انگلیسی درج شود به عبارتی منابع فارسی می بایست به انگلیسی ترجمه شوند و طبق فرمت آنها تنظیم گردند. در انتهای مشخصات مقاله در داخل پرانتز عبارت (Full Text in Persian) درج گردد.

مقاله غیر انگلیسی و غیر فارسی:

Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infrapatellar Seneruptur hostidligere frisk kvinne. Tidsskr Nor Laegeforen 1996; 102 Suppl 1: 275-82.

• **ضمیمه مجله:**

Shen HM, Zhang QF, Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. Environ Health Perspect 1994; 102 Suppl 1; 275-82.

• **کتاب ها و سایر منابع منوگراف:**

کتاب انگلیسی:

Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

توضیح: اگر تعداد نویسندگان کتاب کمتر از ۶ نفر باشد نام کلیه نویسندگان اعلام گردد. اگر تعداد آنها بیش از ۶ نفر باشد پس از درج نام نویسنده ششم از عبارت et al استفاده شود.

کتاب فارسی:

کتاب فارسی نیز باید به انگلیسی ترجمه شوند و مشخصات کتب فارسی نیز مشابه مثال فوق به انگلیسی درج گردد (بطور معمول مشخصات انگلیسی کتب فارسی در پشت جلد کتاب درج می شود). در انتهای مشخصات کتاب در داخل پرانتز عبارت (Text in Persian) درج گردد.

• **پایان نامه :**

پایان نامه انگلیسی:

Kaplan S. Post-hospital Home Health Care: the Elderly Access and Utilization (Dissertation). St Louis (MO): Washington University; 1995.

پایان نامه فارسی:

لازم است مشخصات پایان نامه فارسی مشابه مثال فوق به انگلیسی درج گردد. در انتهای مشخصات پایان نامه در داخل پرانتز عبارت (Text in Persian) درج گردد.

• **هیچ مؤلفی داده نشده باشد. (گروه مؤلفین):**

Cancer in South Africa[editorial]. S Afr Med J 1994; 84:15.

• **سازمان به عنوان مولف و ناشر:**

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washing tin: The Institute; 1992.

• **مطالب کنفرانس:**

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

• **مقاله نشریه در نسخه الکترونیک:**

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1336 Jun 5]; 1(1): [24 screens]. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

• **منوگراف الکترونیک:**

CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995

• **فایل کامپیوتری:**

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

برای کسب اطلاعات بیشتر در مورد نحوه استناد به سایر انواع منابع، به آدرس اینترنتی زیر مراجعه نمایید:

http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

هر جدول بطور جداگانه بر روی صفحه کاغذ مجزا و بطور یک خط در میان تایپ شوند و جداول به صورت عکس آرایه نگردند. جداول شماره گذاری متوالی شده و به نظم ارجاع به آنها در متن توجه شوند و عنوان کوتاهی برای هر یک قرار گیرد. خطوط عمودی و افقی برای مجزا کردن سلول های جدول ضروری نیست فقط خطی که عناوین سر ستون ها را مجزا می کند کافی است. در زیر نویس ها همه اختصارهای غیر استاندارد را که در هر جدول استفاده می شود، توضیح دهند. از نمادهای زیر برای پانویس ها به ترتیب از چپ به راست استفاده کنند.

*, †, ‡, §, ¶, **, ††, †††, ...

مقیاس های آماری برای دامنه تغییرات (مثل انحراف معیار، خطای استاندارد محاسبه) را شناسایی و معین کنند. مطمئن شوند که همه جداول در متن مورد ارجاع قرار گرفته باشند.

۳-۱۰- نمودارها و تصاویر:

نمودارها و تصاویر با دست کشیده و تایپ شده قابل قبول نیست. عکس های رادیوگرافی و سایر موارد، پرینت عکاسی سیاه و سفید و براق ترجیحاً در اندازه ۷۳*۱۲۷ میلی متر، اما حداکثر از ۲۵۴*۲۰۳ میلی متر باشد. در کلیه نمودارها و عکس ها حروف، اعداد و نمادها باید به فارسی، واضح و اندازه مناسب باشند. نمودارها و تصاویر باید شماره گذاری متوالی شده و ترتیب بر اساس ارجاع به آنها در متن باشد. هر نمودار باید به تنهایی گویا بوده و نیاز به مطالعه متن برای درک مقصود نداشته باشد. زیر نویس تصاویر را بطور یک خط در میان، از آغاز یک صفحه جدا و با شماره های معمولی مربوط به ترتیب عکس ها تایپ کنند. وقتی از نمادها، فلش ها، شماره ها یا حروف برای شناسایی بخش های نمودارها و تصاویر استفاده می شود، هر یک به وضوح در زیر نویس تعیین شده و توضیح داده شود.

ساختار مقالات مروری (Review Article): چکیده مقاله مانند چکیده مقاله پژوهشی اصیل بوده و متن مقاله شامل مقدمه، روش بررسی، بحث، نتیجه گیری، تشکر و قدردانی، منابع و جداول است. چکیده انگلیسی مشابه چکیده فارسی آن و فهرست منابع می باشد.

ساختار مقالات گزارش موردی (Case Report): چکیده باید کمتر از ۱۲۵ کلمه و شامل سابقه و هدف، معرفی مورد، نتیجه گیری و کلیدواژه-ها می باشد. متن مقاله شامل مقدمه، مورد بیماری، بحث، نتیجه گیری، تشکر و قدردانی، منابع، جداول، تصاویر و نمودار. چکیده انگلیسی باید مشابه فارسی آن باشد.

تعهدات نویسندگان مرجع مکاتبه مقاله و سایر نویسندگان:

- پذیرش مسئولیت محتوای مقاله و توان دفاع از آن در مجامع علمی
- تفویض حق چاپ به مجله (copyright) و پاسخگویی به هرگونه ادعای حقوقی در مورد حق مولف یا محتوا
- ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی در صفحه عنوان مقاله ضروری است.
- نویسندگان مقاله در قبال کسانی که از آنها در بخش قدردانی (Acknowledgment) با ذکر نام تشکر می کنند، مسئولیت پاسخگویی دارند.
- مسئولیت صحت و سقم مطالب به عهده نویسنده (گان) می باشد.

فرآیند ارزیابی و تعهدات مجله:

- مقاله پس از دریافت و اعلام وصول جهت ارزیابی برای داوران ارسال میگردد در مراحل بعد مقاله توسط نویسنده مسئول اصلاح و پس از آن در هیئت تحریریه تأیید و به ترتیب تاریخ آماده شدن در مجله چاپ می شود.
- مجله مسئولیتی در قبال دعاوی بین نویسندگان و نیز نویسندگان با مراجع دیگر را بر عهده نخواهد داشت.
- مجله در قبول یا رد مقالات آزاد است و نیز حق ویرایش علمی و ادبی و تخلیص مقالات را برای خود محفوظ می دارد. نسخه نهایی قبل از چاپ به رویت نویسنده مقاله خواهد رسید.

کد پستی ۱۹۱۶۸، صندوق پستی ۱۹۳۹۵/۱۴۹۵ تلفن : ۲۲۶۱۸۵۵۱ دورنگار : ۲۲۰۰۸۰۴۹ پیام نگار : info@iau-tmuj.ir
medical.journal@yahoo.com

فهرست

- * بررسی سمیت سلولی متابولیت‌های ثانویه *Streptomyces koyangensis* و *Streptomyces tunisiensis* جدا شده از خاک‌های نمکی شهر گرمسار بر روی رده سلولی سرطان پستان انسان (MCF-7, IBRC C10082) **۳۶۷**
مریم نیک بخت، بهین امیدی، محمدعلی آموزگار، کیومرث امینی
- * پیش تغلیظ داروی ایما تینیب به روش میکرواستخراج فاز مایع با استفاده از روش مایع-مایع پخشی با طراح کمومتری و اندازه‌گیری به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در مقادیر ناچیز **۳۷۷**
پگاه پورمند، مهناز قمی، جواد حسینی
- * بررسی نقش پروپولیس (بره موم) به عنوان یک کاندیدای دارویی در بیان ژن سیتوکین پیش التهابی اینترلوکین 1- β در موش دچار آزالایمر **۳۸۸**
مریم سعیدی، فاطمه روح الله
- * مطالعه اثر استیل ال کارنیتین بر اختلال شناختی و سلولی منتج از التهاب القا شده به وسیله لیپولی ساکارید در موش صحرايي نر: با تاکید بر مسیرهای سلولی AKT / mTOR و التهاب در هیپوکامپ **۳۹۷**
نیدا جمالی رئوفی، مطهره زینی وند، فهیمه علیزاده، ثریا مهربانی
- * تعیین فراوانی ژن‌های همولیزین آلفا، بتا و دلتا در استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک جدا شده از نمونه‌های زخم و ادرار بیماران **۴۰۶**
مینا آقاصفی، زهرا طهماسبی فرد
- * تأثیر تمرین منظم ورزش همگانی بر عملکرد نوتروفیلی، سطوح مبلوپراکسیداز و ظرفیت آنتی اکسیدانی مردان میانسال **۴۱۳**
سید رضا رحیمی مقدم، علی رضا علمیه، محمدرضا فدائی چافی
- * تغییرات آسفریسیتی و ایبراهی‌های رده بالا چشم در عمل کراتکتومی فوتورفرکتیو (PRK) **۴۲۵**
علی زارع جوشقانی، علی رضا برادران رفیعی، فرهاد ادهمی مقدم
- * مقایسه اثربخشی واقعیت درمانی و رویکرد تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور **۴۳۲**
راضیه زاهدی، مینا مجتبابی، امین رفیعی پور
- * بررسی مقایسه‌ای عوامل تنش‌زا در دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران **۴۴۲**
نیلوفر جیحانی، بهاره اکبرزاده، نرگس حسن مرادی، محمد صاحب الزمانی
- * روان‌سنجی ابزار خودکارآمدی سونداز متناوب تمیز ادراری در بیماران مبتلا به مثانه عصبی بستری در بیمارستان‌های توانبخشی منطقه یک شهر تهران سال ۱۳۹۸ **۴۵۰**
افسانه مستقیم احمدآبادی، فائزه صحبایی روی، شیرین حجازی
- * ترومبوز وریدهای عمقی در اندام فوقانی: گزارش مورد **۴۵۹**
آذین حسین دخت، حسام الدین ورپائی، مصطفی محمدی، حمیدرضا امیری
- * افت عملکرد زود هنگام کلیه پیوندی در بیمار با سابقه سنگ کلیه متعدد: گزارش مورد هایپراگزالوری اولیه **۴۶۴**
رکسانا پی سپار، فرحناز پاشا، احمد فیروزان، امیرحسین زالبیان

Cytotoxicity effect of secondary metabolites of *Streptomyces koyangensis* and *Streptomyces tunisiensis* isolated from saline soils of Garmsar City on human breast cancer cell line (MCF-7, IBRC C10082)

Maryam Nikbakht¹, Behin Omid¹, Mohammad Ali Amoozegar², Kumarss Amini³

¹ PhD Candidate in Microbiology, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

³ Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Science, University of Tehran, Tehran, Iran.

⁴ Associate Professor, Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Abstract

Background: *Streptomyces* is one of the most important prokaryotic microorganisms, and their secondary metabolites have high antimicrobial and cytotoxic properties. Three-quarters of the antibiotics known to be produced by these bacteria. As a result, finding new effective compounds from these microorganisms can be a way to treat cancer. The aim of this study was to isolate and screen halophilic or halotolerant *Streptomyces* from Garmsar salt cave soil that have the ability to produce metabolites with cytotoxic properties against human breast cancer cell line (MCF-7, IBRC C10082).

Materials and methods: Isolation of *Streptomyces* from soil sample was done by serial dilution method and cultured on casein agar with 15% NaCl. The isolates were identified by microscopic and macroscopic examinations and the presence of diaminopalimic acid (DAP) in their cell wall. The cytotoxic effect was evaluated using MTT assay and 16SrRNA sequencing was performed to select selected *streptomycetes*.

Results: Secondary metabolites of 2 *Streptomyces* showed a 50% reduction in the concentration of human breast cancer cells. *Streptomyces sp.2* was 100% similar to *Streptomyces koyangensis* and *Streptomyces sp.25* was 95.4% similar to *Streptomyces tunisiensis*.

Conclusion: The results of this study showed that *Streptomyces sp.2* and *Streptomyces sp.25* secondary metabolites had cytotoxic effect against MCF-7 human breast cancer cell line. The metabolite produced by them can be an option for further studies and provide more effective treatment with fewer side effects in the treatment of this disease.

Keywords: *Streptomyces*, *Halophile*, *Breast cancer*.

Cited as: Nikbakht M, Omid B, Amoozegar MA, Amini K. Cytotoxicity effect of secondary metabolites of *Streptomyces koyangensis* and *Streptomyces tunisiensis* isolated from saline soils of Garmsar City on human breast cancer cell line (MCF-7, IBRC C10082). Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): 367-376.

Correspondence to: Behin Omid

Tel: +98 9126073427

E-mail: behin.omidi@yahoo.com

ORCID ID: 0000-0003-0989-8569

Received: 22 Feb 2021; **Accepted:** 6 Jul 2021

بررسی سمیت سلولی متابولیت‌های ثانویه *Streptomyces koyangensis* و *Streptomyces tunisiensis* جدا شده از خاک‌های نمکی شهر گرمسار بر روی رده سلولی سرطان پستان انسان (MCF-7, IBRC C10082)

مریم نیک بخت^۱، بهین امیدی^۲، محمدعلی آموزگار^۳، کیومرث امینی^۴

^۱ دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^۲ استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^۳ استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
^۴ دانشیار، گروه میکروبیولوژی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

چکیده

سابقه و هدف: استرپتومایسس یکی از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های پروکاریوتی است که متابولیت‌های ثانویه آن‌ها خواص ضد میکروبی و ضدسرطانی بالایی دارند و سه چهارم آنتی‌بیوتیک‌ها توسط این باکتری‌ها تولید می‌شوند. یافتن ترکیبات موثر جدید از این میکروارگانیسم‌ها می‌تواند راهگشا در درمان سرطان‌ها هم باشد. هدف از این مطالعه، جداسازی و غربالگری استرپتومایسس‌های هالوفیل یا هالوتولرنت از خاک غار نمکی گرمسار بود که توانایی تولید متابولیت‌هایی با خاصیت سمیت سلولی بر علیه رده سلولی سرطان پستان انسان (MCF-7, IBRC C10082) دارند.

روش بررسی: جداسازی استرپتومایسس‌ها از نمونه خاک به روش سریال دایلووشن انجام شد و بر روی استارچ کازئین آگار با ۱۵٪ NaCl کشت داده شدند. برای شناسایی جدایه‌های استرپتومایسس بررسی میکروسکوپی و ماکروسکوپی و حضور دی‌آمینوپایمیلیک اسید (DAP) در دیواره سلولی آن‌ها انجام شد. اثر ضد سرطانی با استفاده از روش MTT/ارزیابی شد و جهت شناسایی استرپتومایسس‌ها منتخب تعیین توالی 16S rRNA انجام شد. **یافته‌ها:** متابولیت‌های ثانویه دو جدایه استرپتومایسس کاهش ۵۰٪ در غلظت ۲۰۰ μg/mL در برابر سلول‌های سرطان پستان انسان MCF-7 را نشان دادند. تجزیه و تحلیل مولکولی نشان داد که جدایه‌های انتخاب شده *Streptomyces sp.2* ۱۰۰٪ شباهت به *koyangensis* *Streptomyces* و *Streptomyces sp.25* ۹۵/۴٪ شباهت به *Streptomyces tunisiensis* داشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که متابولیت‌های ثانویه *Streptomyces sp.25* و *Streptomyces sp.2* دارای اثر سمیت سلولی علیه رده سلولی سرطان پستان انسان MCF-7 هستند و متابولیت تولید شده توسط آن‌ها می‌تواند گزینه‌ای برای تحقیقات بعدی و ارائه درمان موثرتر با عوارض جانبی کمتر در درمان این بیماری باشد.

واژگان کلیدی: استرپتومایسس، هالوفیل، سرطان پستان.

مقدمه

اعتقاد بر این است که سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در سطح جهان است که با بروز ۱۰/۴ درصدی در بین سرطان‌ها

به عنوان دومین سرطان شایع و در رتبه بندی بعد از سرطان ریه قرار دارد (۱، ۲). مطابق آمار سازمان بهداشت جهانی (WHO) میزان بروز سرطان پستان رو به افزایش است و شیوعی حدود ۲/۳ میلیون مبتلا را در سراسر جهان دارد (۳). در یک بررسی سیستماتیک که در مورد جنبه‌های اپیدمیولوژیک سرطان پستان در ایران انجام شد، میزان بروز این بیماری را ۲۲ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ زن ایرانی اعلام شد

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، گروه زیست‌شناسی، بهین

امیدی (email: behin.omidi@yahoo.com)

ORCID ID: 0000-0003-0989-8569

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۱۲/۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۴/۱۵

استرپتومایسسها بزرگترین تولیدکنندگان آنتی‌بیوتیک محسوب می‌شوند (۱۹). به همین دلیل سوویه استرپتومایسسها یک انتخاب مناسب برای جداسازی آنتی‌بیوتیک‌های جدید با فعالیت ضدسرطانی می‌تواند باشد (۱۴، ۲۰، ۲۱). هدف از این مطالعه جداسازی استرپتومایسس‌های هالوفیل و هالوتورنت از خاک‌های غار نمکی گرمسار بود که دارای متابولیت‌های ثانویه‌ای با فعالیت سمیت سلولی بر روی رده سلولی سرطان پستان انسان MCF-7 است؛ با این دیدگاه که میکروارگانسیم‌های ساکن در محیط‌های اکستریم و خاص، متابولیت‌های متفاوت و ویژه‌ای تولید می‌کنند که ممکن است دارای اثربخشی مناسب‌تری باشند.

مواد و روشها

در مجموع ۴۷ نمونه خاک از خاک‌های غار نمکی گرمسار ایران ($35^{\circ}14'46''$ N $52^{\circ}9'19''$ E) جمع‌آوری شد. نمونه‌ها از عمق ۰ تا ۱۰ سانتی‌متری خاک جمع‌آوری شدند و در کیسه‌های استریل قرار گرفتند و بر روی قطعات یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. ۱۰ گرم از هر نمونه خاک به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و با دور rpm ۱۹۰ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس سری رقت تهیه شد و ۱ میلی‌لیتر از هر سری رقت بر روی محیط کشت استارچ کازئین آگار با NaCl ۱۵٪ کشت داده شد. به همه پلیت‌های محیط کشت اختصاصی به منظور جلوگیری از رشد قارچ‌ها سیکلوهگزیمید ($50 \mu\text{g/mL}$) و ریفامپین ($0.5 \mu\text{g/mL}$) اضافه شد. پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۱ روز در انکوباتور نگهداری شدند. جدایه‌ها بر روی آگار عصاره مخمر/مالت (International Streptomyces Project Medium) ISP2 با NaCl ۱۵٪ خالص سازی شدند و جدایه‌های خالص شده در محیط ISP2 آگار با ۱۵٪ NaCl نگهداری شدند (۱۵، ۲۱). تمام مواد و معرف‌ها از (E. Merk, Darmstadt, Germany) Merch استفاده شدند.

اندازه‌گیری درصد شوری و pH نمونه‌های خاک

درصد شوری تمام نمونه‌های خاک با استفاده از رفاکتومتر (Portable-TRANS) و میزان pH با استفاده از دستگاه pH متر (مدل Metrohm) اندازه‌گیری شد.

شناسایی اولیه جدایه‌ها

از نظر ماکروسکوپی کلنی‌های استرپتومایسس به طور معمول رنگ سفید و ظاهری خشک و گچی روی محیط کشت استارچ کازئین آگار دارند، همچنین دارای بوی خاک هستند. از این ویژگی‌ها برای شناسایی اولیه کلنی استرپتومایسس استفاده شد.

که در این میان گروه سنی بین ۴۰ تا ۴۹ سال بیشتر در معرض خطر قرار داشتند. در طی این تحقیق مشخص شد که از نظر سنی، زنان در ایران ۱۰ سال زودتر از زنان در سایر نقاط جهان مبتلا به این بیماری می‌شوند. متأسفانه ۷۱ درصد بیماران زمانی شناسایی شده‌اند که در مراحل پیشرفته بیماری قرار داشتند و دو سوم آن‌ها نیز نیاز به درمان‌های گسترده داشته‌اند (۴). مطالعات نشان می‌دهد که این بیماری در کشورهای در حال توسعه بیشتر دیده شده که عنوان شده عوامل محیطی و سبک زندگی می‌تواند نقش اساسی در بیماری‌زایی داشته باشد (۱). از عوامل ایجاد کننده این بیماری می‌توان غلظت لپتین پلازما را نام برد که یک عامل مهم در تکثیر سلول‌های سرطانی است و ارتباط آماری معنی داری بین سطح لپتین با شیوع سرطان پستان در زنان قبل از دوران یائسگی وجود دارد (۹-۵). مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که چاقی نیز تاثیرات زیادی بر افزایش احتمال ابتلا به سرطان پستان دارد (۱۰). غلظت گلوکز هم یک عامل مهم در تکثیر سلول‌های سرطانی پستان است و شیوع سرطان پستان در بیماران دیابتی زیاد است. در مطالعات انجام شده مشخص شده که با افزایش غلظت گلوکز در محیط کشت، تکثیر رده سلول‌های سرطانی پستان MCF-7 افزایش داشته است (۱۱). شیمی درمانی یکی از موثرترین درمان‌ها برای تومورهای متاستاتیک به شمار می‌رود، اما مقاوم شدن سلول‌های سرطانی نسبت به داروهای مختلف از موانع بزرگ بر سر راه موفقیت درمان به شمار می‌آید (۱۲). در نتیجه پیدا کردن مواد و ترکیبات جدید با خاصیت ضد سرطانی مناسب هنوز هم از واجبات درمانی به حساب می‌آید. جداسازی ترکیبات جدید از طبیعت بهترین گزینه در از بین بردن سلول‌های سرطانی است که می‌تواند عوارض جانبی شدید شیمی درمانی را کاهش داده و یک پاسخ ضدسرطانی موثر را ارائه دهند (۱۵-۱۳). در طبیعت میکروارگانسیم‌هایی حضور دارند که تولید کننده انواعی از متابولیت‌ها با خاصیت‌های درمانی بر علیه انواع عفونت‌های باکتریایی و قارچی و متابولیت‌هایی با خواص ضد سرطانی هستند. در این میان استرپتومایسس‌ها، از نظر زیست‌شناسی به علت توانایی بالا در تولید انواع متابولیت‌های ثانویه با فعالیت‌های ضدقارچی، ضد ویروسی، ضد توموری و ضد فشارخون بسیار مورد توجه هستند (۱۶، ۱۷). استرپتومایسس‌ها باکتری‌های گرم مثبت با محتوای بالای درصد G+C هستند و در دیواره سلولی خود دی آمینوپایمیلیک اسید (DAP)-LL دارند که اولین بار توسط واکسمن و هنریسی در سال ۱۹۴۳ شناسایی شدند (۱۸).

به محیط کشت اضافه شد. همچنین محیط کشت‌های استفاده شده توسط میکروارگانیزم‌ها نیز به صورت تلقیح نشده مورد فرآیند استخراج متابولیت قرار گرفتند و ماده حاصل از آن‌ها نیز به عنوان کنترل استفاده شد. پس از انجام تست اثرات DMSO و محیط کشت میکروارگانیزم از نتایج حذف شد و اثر خالص متابولیت به دست آمد. تیمار سلول‌ها در گروه‌های مختلف به مدت ۴۸ ساعت و در تکرارهای سه‌تایی انجام شد. سپس به میزان ده درصد محیط کشت محلول (MTT (Sigma, USA) با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به چاهک‌ها اضافه شد و پس از طی سه ساعت محیط رویی سلول‌ها برداشته شدند و بلورهای بنفش فورمازان در ۱۰۰ میکرولیتر DMSO حل شدند و سپس جذب هر نمونه در طول موج ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه Eliza (Bio-tek Instruments, USA) سنجیده شد و در نهایت درصد زنده مانی سلول‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد. درصد توانایی زیستی برابر است با میانگین جذب نمونه‌های تیمار شده با هر غلظت از متابولیت تقسیم بر میانگین جذب نمونه تیمار نشده ضربدر ۱۰۰ (۲۵).

تعیین توالی 16s rRNA جدایه‌های منتخب استرپتومایسس

استخراج DNA از جدایه‌های منتخب استرپتومایسس با استفاده از روش Marmur انجام شد (۲۶). برای جداسازی و تکثیر ژن 16srRNA از پرایمرهای عمومی استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در PCR جدایه‌های منتخب استرپتومایسس‌ها

| نام پرایمر | توالی پرایمر (۵-۳) | دمای اتصال |
|------------|-----------------------|------------|
| 9F | AAGAGTTTGATCATGGCTCAG | ۶۰ °C |
| 1541R | AGGAGGTGATCCAACCGCA | ۶۸ °C |

برنامه مورد استفاده در PCR به شرح زیر بود. مرحله واسرشت (Denaturation) اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه در ۳۲ سیکل، مرحله اتصال (Annealing) در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و مرحله طویل شدن (Extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه به پایان رسید. بعد از اتمام مراحل واکنش و تایید باندهای حاصل توسط الکتروفورز ژل آگارز، محصول واکنش برای تعیین توالی به شرکت ماکروژن کره جنوبی فرستاده شد. نتایج توالی توسط نرم افزار BioEdit ویرایش شد. سپس نتایج حاصل از هم‌ردیفی با توالی‌های ثبت شده در بانک اطلاعات NCBI با استفاده از الگوریتم BLAST مقایسه شد و شباهت‌های توالی ژن

در بررسی میکروسکوپی از رنگ آمیزی گرم برای شناسایی مورفولوژیکی استرپتومایسس استفاده شد و ساختار رشته‌ای شکل آن‌ها در زیر میکروسکوپ نوری بررسی شد.

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی جدایه‌های استرپتومایسس با استفاده از روش‌های کاملاً مطابق با مطالعه Kampfner (۲۲). وجود ترکیب دی‌آمینوپایملیک اسید (DAP)-LL در دیواره سلولی جدایه‌های استرپتومایسس با روش کروماتوگرافی، تکنیک TLC (Thin-layer chromatography) تایید شد (۲۳).

استخراج متابولیت ثانویه به روش اتیل استات

کلنی‌های خالص استرپتومایسس به ۵۰ میلی‌لیتر محیط پیش کشت ISP2 برات در فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری تلقیح شد و در شیکر انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت با دور ۱۵۰ rpm نگهداری شد. بعد از ۴۸ ساعت محیط پیش کشت به محیط کشت تخمیری حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر ISP2 برات در فلاسک‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری تلقیح شد و به مدت ۱۴ روز تحت همان شرایط انکوبه شد. بعد از گذشت دوره گرماگذاری کل حجم محیط کشت تخمیری با دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی به دست آمده به نسبت حجمی برابر ۱:۱ با حلال آلی اتیل استات به مدت ۲ ساعت روی همزن مغناطیسی هم‌زده شد و با استفاده از قیف دکانتور فاز آبی و آلی از یکدیگر جدا شد و اتیل استات در دستگاه اواپراتور تغلیظ شد و متابولیت خشک تهیه شد و در دمای ۲۰ - درجه سانتی‌گراد برای استفاده در آزمایش‌های بعدی نگهداری شد (۲۴).

کشت سلول انسانی و روش MTT

ارزیابی تأثیر متابولیت‌های ثانویه جدایه‌های استرپتومایسس بر زنده ماندن سلول MCF-7 قبل و بعد از تیمار، با روش MTT انجام شد. رده سلولی سرطان پستان انسان (MCF-7, IBRC C10082) از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد و به عنوان یک لایه در محیط کشت DMEM دارای ۱۰٪ سرم گاوی جنین (FBS)، ۱ میلی‌مولار سدیم پیرووات سدیم و ۲ میلی‌لیتر L-گلوتامین ۱۰۰ U/mL پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO₂ ۵٪ رشد داده شد. به این منظور سلول‌های سرطانی با تراکم ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک در پلیت ۹۶ خانه کشت داده شدند و پس از گذشت یک شب غلظت‌های مختلف متابولیت‌های ثانویه جدایه‌های استرپتومایسس با غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۸۰۰۰ میکروگرم در هر میلی‌لیتر بر روی آن‌ها اثر داده شد. از آنجایی که متابولیت‌ها در DMSO حل شده بودند، در نمونه کنترل هم حجم متابولیت اضافه شده به محیط کشت، DMSO

جدول ۲. خصوصیات مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی *Streptomyces sp.2*، *Streptomyces sp.25* و گونه های مربوط به

| مشخصات | <i>Streptomyces</i> | | | |
|--|---------------------------|--|--------------------------|--|
| | <i>Streptomyces sp.25</i> | <i>Streptomyces tunisiensis</i> (22) CN-207 ^T | <i>Streptomyces sp.2</i> | <i>Streptomyces koyangensis</i> (23) VK-A60 ^T |
| رنگ کلنی | خاکستری | خاکستری | قهوه ای | مایل به قهوه ای پررنگ |
| ISP2 فرم میسلوم در واکنش رنگ امیزی گرم | شاخه ای | شاخه ای | شاخه ای | شاخه ای |
| NaCl رنج درصد | ۱۵-۲ | ۷-۰ | ۱۵-۲ | ۴-۱۰ |
| NaCl اپتیمم (%) | ۵ | نا مشخص | ۵ | نا مشخص |
| اپتیمم دما (°C) | ۲۸ | ۲۸ | ۲۸ | نا مشخص |
| pH اپتیمم | ۷ | ۷ | ۷ | نا مشخص |
| واکنش نیترات | - | - | - | + |
| کاتالاز | + | نا مشخص | + | نا مشخص |
| وجود LL-diaminopimelic acid* | + | + | + | + |
| هیدرولیز کازین | + | + | + | + |
| هیدرولیز نشاسته | + | + | + | + |
| سیترات | + | نا مشخص | + | نا مشخص |
| مانیتول | - | نا مشخص | - | + |
| ترهالوز | + | نا مشخص | + | نا مشخص |
| مالتوز | - | نا مشخص | - | نا مشخص |
| منطقه جداسازی | گرمسار | شمال تونس | گرمسار | کره |

شکل های ۱ و ۲ نشان داده شده اند. فرم ایزومری DAP و نوع ایزومر DAP موجود در دیواره سلولی در تمام جدایه های استریتومایسس تعیین شدند. برای تایید از نمونه های استاندارد هم استفاده شد. برای غربالگری اثر سمیت سلولی جدایه ها بر روی رده سلولی سرطان پستان انسان، تست MTT انجام شد که نتایج نشان داد که ۲ جدایه / استریتومایسس شماره ۲ و ۲۵ با بیشترین اثر سمیت سلولی به عنوان جدایه های منتخب در نظر گرفته شدند. تمام جدایه ها گرم مثبت و کاتالاز مثبت بودند. در جدول ۲ مشخصات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی جدایه های منتخب در کنار جدایه های مشابه بررسی شده است.

در بررسی اثر سمیت سلولی جدایه های / استریتومایسس، جدایه های شماره ۲ و ۲۵ بر روی سرطان پستان انسان MCF-7 بهترین تاثیر را داشتند. ۲ جدایه / استریتومایسس شماره ۲ و ۲۵ باعث کاهش معنی داری در توانایی زیستی رده سلول های MCF-7 در غلظت های ۴۰۰ و ۸۰۰ µg/mL بعد از ۴۸ ساعت شدند و همچنین کاهش ۵۰٪ در غلظت های ۲۰۰ µg/mL سلول های MCF-7 شدند (نمودار ۱).

شناسایی جدایه های منتخب / استریتومایسس

۲ جدایه / استریتومایسس ۲ و ۲۵ به عنوان سویه های فعال با اثر سمیت سلولی انتخاب شدند. موقعیت های فیلوژنتیکی

16srRNA با استفاده از نرم افزار EzTaxon-e محاسبه شد (۲۷). درخت فیلوژنی این جدایه ها به روش Neighbor joining و ضریب 1000 BooT Strap و با نرم افزار MEGA6 رسم شد.

روش تحلیل داده ها

در این مطالعه تمام آزمایش ها به صورت سه بار تکرار یا بیشتر انجام شد و از شاخص $\text{mean} \pm \text{SD}$ برای نشان دادن توزیع داده ها و همچنین جمع بندی آن ها استفاده شد. تحلیل آماری با تست one-way ANOVA انجام شد و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته ها

جهت جداسازی و خالص سازی / استریتومایسس ها و غربالگری جهت تعیین جدایه های دارای بهترین اثر سمیت سلولی در مجموع ۴۷ نمونه خاک از خاک های نمکی گرمسار، ایران (E 52° 9' 19" N 35° 14' 46") جمع آوری شد. میزان شوری نمونه های خاک بین ۳ تا ۱۵ درصد و دامنه pH بین ۴/۹ تا ۶/۶ تعیین شد. در مجموع ۲۸ جدایه / استریتومایسس هالوفیل جداسازی شد و در محیط ISP2 آگار حاوی ۱۵٪ NaCl خالص سازی شدند. شکل میکروسکوپی کلنی ها و شکل میکروسکوپی جدایه های منتخب استریتومایسس در

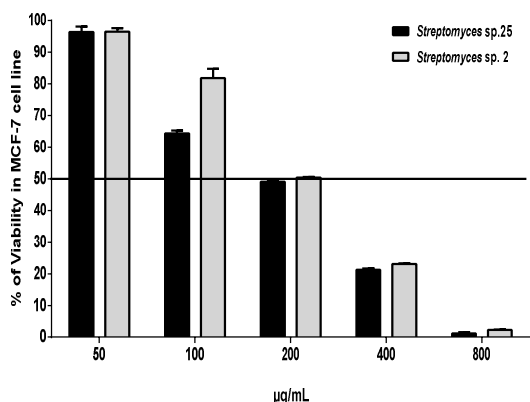
این سویه‌ها بر اساس توالی ژن 16srRNA (۱۴۴۵ جفت باز) تعیین شد.

Streptomyces tunisiensis دارد (نمودار ۲). ثبت ژن این

دو جدایه هم به صورت زیر صورت گرفت:

Streptomyces koyangensis (GenBank accession number: SUB7473271 nk2 MT490244)

Streptomyces tunisiensis (GenBank accession number: SUB7473271 nk25 MT490243)



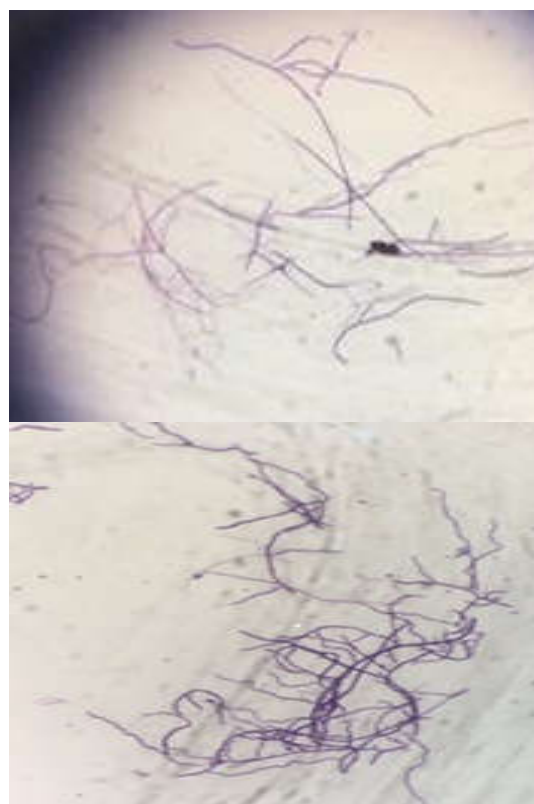
نمودار ۱. تست MTT برای رده سلول سرطان پستان MCF-7. در حضور غلظت‌های مختلف متابولیت‌های *Streptomyces sp.2* و *Streptomyces sp.25*. زنده ماندن سلول‌های MCF-7 پس از درمان با غلظت ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر هر دو متابولیت پس از ۴۸ ساعت به ۵۰٪ کاهش یافت.

بحث

جداسازی ترکیبات جدید از طبیعت می‌تواند راهکاری برای کاهش عوارض جانبی و شدید شیمی درمانی در سرطان‌ها باشد؛ همچنین باعث افزایش در بالا بردن اثر بخشی در مقاومت‌های آنتی بیوتیکی بر علیه پاتوژن‌های بالینی شود (۲۹،۲۸). در مطالعه حاضر ۲۸ جدایه/استرپتومایسس هالوفیل از خاک‌های شور گرمسار ایران جداسازی شد و جدایه‌هایی که خاصیت سمیت سلولی موثر داشتند غربالگری شدند. اثر سمیت سلولی جدایه‌ها با تاثیر آن‌ها بر روی سلول MCF-7 سرطان پستان بررسی شدند. آزمایش MTT نشان داد که متابولیت‌های ثانویه جدایه‌های *Streptomyces sp.25* و *Streptomyces sp.2* باعث کاهش توانایی زیستی رده سلولی سرطان پستان MCF-7 در غلظت‌های بالاتر (200-800µg/mL) می‌شود، اما در غلظت‌های پایین (50µg/mL) بی‌اثر بود. این نتیجه نشان می‌دهد که اثرات آن‌ها ممکن است وابسته به دوز باشد (۳۰). در مطالعه‌ای که توسط Fei law و همکارانش در سال ۲۰۲۰ انجام شد نشان داده شد که در بین عصاره‌های اتیل استات جداسازی

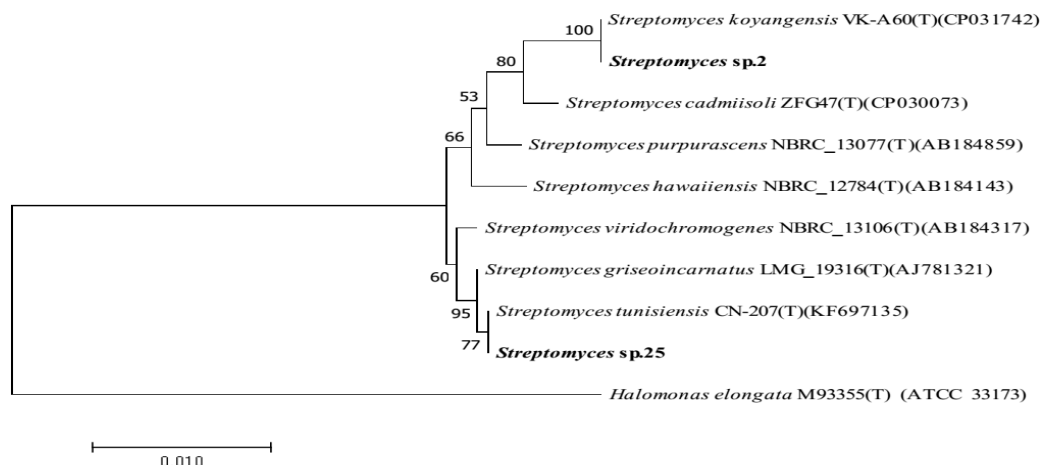


شکل ۱. شکل میکروسکوپی کلنی‌های جدایه‌های منتخب/استرپتومایسس



شکل ۲. شکل میکروسکوپی جدایه‌های منتخب/استرپتومایسس

هم‌ردیفی این توالی‌ها با توالی‌های ثبت شده در بانک اطلاعات NCBI نشان داد که *استرپتومایسس* شماره ۲، ۱۰۰٪ شباهت به *Streptomyces koyangensis* و *استرپتومایسس* شماره ۲۵، ۹۵/۴٪ شباهت به



نمودار ۲. درخت فیلوژنتیک جدایه های *Streptomyces sp.2* و *Streptomyces sp.25*. روابط فیلوژنتیک بین توالی 16 srRNA جدایه ها و سایر توالی های باکتریایی مرتبط. نوار مقیاس مربوط به ۱۰٪ اختلاف تخمین زده شده در موقعیت های توالی نوکلئوتیدی است.

(۳۳). همچنین Sagar و همکارانش در سال ۲۰۱۳ مشاهده کردند که عصاره باکتری های هالوفیل با دوز ۲۰۰ و ۵۰۰ $\mu\text{g/mL}$ بر روی سلول های MCF-7، HeLa، و DU145 سمی بود (۳۴). Schulz و همکارانش در سال ۲۰۱۲ ترکیب Silvalactam که یک آنتی بیوتیک جدید از خانواده ماکرولاکتام است را از استرپتومایسس های خاکزی در جنگل های رامرت آلمان جداسازی کردند که فعالیت ضد تکثیر قوی در برابر رده های سلولی مختلف سرطانی مانند تومور لوزالمعده و سلول های اپیتلیال مجرای پانکراس را نشان داد (۳۵). تحقیقات Chiu و همکارانش در سال ۲۰۲۱ نشان داد که اثر ضد تکثیری JBIR-100 که یک ماکرولید جدا شده و متابولیت ثانویه *Streptomyces sp.* است، رشد رده های سلول های سرطانی پستان MCF-7 و MDA-MB-213 را مهار کرده است (۳۶). در سال ۲۰۲۰ Rajivgandhi و همکارانش از جدایه *Streptomyces akiyoshiensis* GRG 6 (KY457710) که از نمونه خاک های دریایی جداسازی کردند، ترکیب ضد سرطانی pyrrolo [1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3 را شناسایی کردند که این ترکیب دارای فعالیت ضد سرطانی قوی در برابر سلول های سرطانی پستان MCF-7 با غلظت $250 \mu\text{g/mL}$ بود (۳۷).

مطالعه ای در سال ۲۰۲۰ توسط Elkhateeb و همکارانش انجام شد که نشان داد که عصاره های اتیل استات جدا شده از جدایه *Streptomyces zaomyceticus* strain AA1 از خاک های غاری دورافتاده در مصر با غلظت $200 \mu\text{g/mL}$ در دو محیط کشت ISP2 و استارچ کازئین آگار دارای فعالیت ضد

شده از استرپتومایسس ها جدایه *Streptomyces sp. ACT01* دارای سمیت سلولی قوی در برابر سلول های سرطانی پستان MCF-7 با مقادیر IC_{50} $19/49 \mu\text{g/mL}$ است (۳۱). در تحقیقی که Kalyani BS و همکارانش در سال ۲۰۱۹ انجام دادند نشان دادند که عصاره اتیل استات از جدایه *Streptomyces sp. NLKPB45* جدا شده از خاک درختچه های mangrove در هند باعث کاهش توانایی زیستی در سلول های MCF-7 و Hella و HT29 به ترتیب با مقادیر IC_{50} $40/917$ و $37/1924$ $\mu\text{g/mL}$ شد (۳۲). در مطالعات انجام شده توسط Sivalingam و همکارانش در سال ۲۰۱۹ آنتی بیوتیک های جدید از استرپتومایسس ها معرفی شدند. آنتی بیوتیک caboxamycin که از جدایه *Streptomyces sp. NTK937* از رسوبات عمیق در جزایر قناری جمع آوری شده است، فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی و ضد سرطانی بر علیه سلول های MCF-7 و HepG2 و AGS دارد. Grincamycins یک آنتی بیوتیک جدید است که از جدایه *Streptomyces sp. XZHG99* در خاک صحرای رنگی منطقه دنگپا تبت جداسازی شده است و در برابر سلول های سرطانی انسانی MCF-7 سمیت قابل توجهی نشان داده است (۱۴). در تحقیقی که Obeidat M در سال ۲۰۱۷ انجام داد ۴۸ استرپتومایسس از خاک اردن جدا کرد و فعالیت ضد سرطانی آن ها را در برابر سلول های MCF-7 مورد بررسی قرار داد و نتایج نشان داد که عصاره های n- بوتانوله از ۹ جدایه باعث کاهش توانایی زیستی سلول های MCF-7 با مقادیر IC_{50} در محدوده $1/64 - 0/68 \text{ mg/mL}$ بوده است

مطالعه حاضر ۲ جدایه *استرپتومایسس هالوفیل*، *استرپتومایسس* شماره ۲ و ۲۵ جدا شده از خاک‌های نمکی گرمسار ایران را معرفی می‌کند که متابولیت‌های ثانویه آن‌ها فعالیت سمیت سلولی با کاهش زنده ماندن سلول‌های MCF-7 را نشان دادند. تعیین توالی ژن 16srRNA نشان داد که *استرپتومایسس* شماره ۲، ۱۰۰ درصد شباهت به *Streptomyces koyangensis* و *استرپتومایسس* شماره ۲۵، ۹۵/۴ درصد شباهت به *Streptomyces tunisiensis* دارد. مطالعات بیشتر از جمله جداسازی، خالص‌سازی *استرپتومایسس*‌ها و توصیف ترکیبات زیستی فعال متابولیت‌های آن‌ها برای تولید آنتی بیوتیک‌های جدید با فعالیت در برابر رده‌های سلول سرطانی می‌تواند مفید باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مادی و معنوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز انجام شده است که بدین طریق از همگی عزیزان قدردانی می‌گردد.

سرطانی در برابر رده سلولی سرطان پستان MCF-7 با سمیت سلولی به ترتیب $97/01 \pm 0/8$ درصد و $96/27 \pm 0/2$ درصد در این دو محیط کشت است (۳۸). تحقیقات ذکر شده نتایجی همسو با نتایج به دست آمده در این تحقیق داشتند؛ بنابراین می‌توان گفت اثر متابولیت جدایه‌های *Streptomyces sp.2* و *Streptomyces sp.25* بر آپوپتوز سلول سرطانی، می‌تواند رویکرد مناسبی برای تحقیقات آینده باشد و با توجه به اینکه این جدایه‌ها از خاک‌های نمکی گرمسار به عنوان محیط اکستریم جداسازی شده‌اند احتمال تولید ترکیبات متفاوتی نسبت به سایر موجودات غیرهالوفیل دارند. مطالعات کمی درباره متابولیت‌های ثانویه هالوفیل‌ها انجام شده است و به نظر می‌رسد این ترکیبات می‌توانند منبع مهمی در تولید ترکیبات جدید ضد سرطانی باشند (۲۹، ۳۹). با توجه به اینکه باکتری‌های جنس *استرپتومایسس* از نقطه نظر بیولوژیکی و تولید فرآورده‌های دارویی بسیار اهمیت دارند و امروزه بیش از نیمی از ترکیباتی که در حوزه پزشکی و کشاورزی شناخته شده‌اند، از منشاء *استرپتومایسس*‌ها تولید می‌شوند. در نتیجه

REFERENCES

- 1- Iacoviello L, Bonaccio M, de Gaetano G, Donati MB. Epidemiology of breast cancer, a paradigm of the "common soil" hypothesis. *Semin Cancer Biol* 2021;72:4-10.
- 2- Siegel RL, Miller KD, Goding Sauer A, Fedewa SA, Butterly LF, Anderson JC, et al. Colorectal cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin* 2020;70:145-64.
- 3- Hwang A, Wang K, Bent S, Mangurian C. Breast cancer screening in women with schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Psychiatr Serv* 2020;71:263-8.
- 4- Mohammadi E, Aminorroaya A, Fattahi N, Azadnajafabad S, Rezaei N, Farzi Y, et al. Epidemiologic pattern of cancers in Iran; current knowledge and future perspective. *J Diabets Metab Disord* 2020:1-5.
- 5- Toh YL, Tan CJ, Yeo AH, Shwe M, Ho HK, Gan YX, et al. Association of plasma leptin, pro-inflammatory adipokines and cancer-related fatigue in early-stage breast cancer patients: A prospective cohort study. *J Cell Mol Med* 2019;23:4281-89.
- 6- Tuna BG, Cleary MP, Demirel PB, Dogan S. Leptin signaling in liver tissue of a transgenic breast cancer mouse model. *Cureus* 2020;12: e6737.
- 7- Gu L, Wang CD, Cao C, Cai LR, Li DH, Zheng YZ. Association of serum leptin with breast cancer: a meta-analysis. *Medicine* 2019;98: e14094.
- 8- Yi F, Diao S, Yuan XL, Li JY. Association of plasma leptin levels and soluble leptin receptor with breast cancer. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2018;52:253-259. [In Chinese]
- 9- Boothby-Shoemaker W, Benham V, Paithankar S, Shankar R, Chen B, Bernard JJ. The Relationship between Leptin, the Leptin Receptor and FGFR1 in Primary Human Breast Tumors. *Cells* 2020;9:2224.
- 10- Park JW, Han K, Shin DW, Yeo Y, Chang JW, Yoo JE, et al. Obesity and breast cancer risk for pre- and postmenopausal women among over 6 million Korean women. *Breast Cancer Res Treat* 2021;185:495-506.
- 11- Wei ML, Duan P, Wang ZM, Ding M, Tu P. High glucose and high insulin conditions promote MCF-7 cell proliferation and invasion by upregulating IRS1 and activating the Ras/Raf/ERK pathway. *Mol Med Rep* 2017;16:6690-6696.
- 12- Vasan N, Baselga J, Hyman DM. A view on drug resistance in cancer. *Nature* 2019;575:299-309.

- 13- Qu XY, Ren JW, Peng AH, Lin SQ, Lu DD, Du QQ, et al. Cytotoxic, Anti-Migration, and Anti-Invasion Activities on Breast Cancer Cells of Angucycline Glycosides Isolated from a Marine-Derived *Streptomyces* sp. *Mar Drugs* 2019;17:277.
- 14- Sivalingam P, Hong K, Pote J, Prabakar K. Extreme Environment *Streptomyces*: Potential Sources for New Antibacterial and Anticancer Drug Leads? *Int J Microbiol* 2019;2019:5283948.
- 15- Prakash B, Singh PP, Kumar A, Das S, Chaudhari AK. Microbes as a novel source of secondary metabolite products of industrial significance. In: Kumar A, Singh AK, Choudhary KK, Editors. Role of plant growth promoting microorganisms in sustainable agriculture and nanotechnology. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Science; 2019. P.21-37.
- 16- De Lima Procópio RE, da Silva IR, Martins MK, de Azevedo JL, de Araújo JM. Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Braz J Infect Dis* 2012;16:466-71.
- 17- Tangjitjaroenkun J, Pluempanupa W, Tangchitharoenkhu R, Yahayo W, Supabpho R. Antibacterial, antioxidant, cytotoxic effects and GC-MS analysis of mangrove-derived *Streptomycesachromogenes*TCH4extract. *Arch Biol Sci* 2021;73:223-35.
- 18- Witt D., Stackebrandt E. Unification of the genera *Streptoverticillum* and *Streptomyces*, and amendment of *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339AL. *Syst Appl Microbiol* 1990; 13: 361-71.
- 19- Nguyen T. M., Kim J. Antifungal and antibacterial activities of *Streptomyces polymachus* sp. nov. isolated from soil. *Int J Syst Evol* 2015;65: 2385-90.
- 20- Suutari M, Lignell U, Hyvärinen A, Nevalainen A. Media for cultivation of indoor streptomycetes. *J Microbial Methods* 2002; 51: 411-6.
- 21-Nguyen HT, Pokhrel AR, Nguyen CT, Dhakal D, Lim HN, Jung HJ, et al. *Streptomyces* sp. *VN1*, a producer of diverse metabolites including non-natural furan-type anticancer compound. *Sci Rep* 2020;10:1-4.
- 22- Kämpfer P, Kroppenstedt RM. Probabilistic identification of streptomycetes using miniaturized physiological tests. *Microbiol* 1991;137:1893-902.
- 23- Sun Y, Wang H, Wang W, Hu B, Zhou L, Ye H, et al. Changes in molecularstructure of chickpea starch during processing treatments: a thin layer chromatography study, *Food Chem* 2018; 186-191.
- 24- Saadoui I, Zendah El Euch I, Trabelsi E, Mosbah A, Redissi A, Ferjani R, Fhoula I, et al. Isolation, Characterization and Chemical Synthesis of Large Spectrum Antimicrobial Cyclic Dipeptide (l-leu-l-pro) from *Streptomyces misionensis*V16R3Y1 Bacteria Extracts. A Novel ¹H NMR Metabolomic Approach. *Antibiotics (Basel)* 2020;9:270.
- 25- Safarpour A, Ebrahimi M, Shahzadeh Fazeli SA, Amoozegar MA. Supernatant Metabolites from Halophilic Archaea to Reduce Tumorigenesis in Prostate Cancer *In-vitro* and *In-vivo*. *Iran J Pharm Res* 2019;18:241-253.
- 26- Marmur J, Anderson W, Matthews L, Berns K, Gajewska E, Lane D, et al. The effects of ultraviolet light on the biological and physical chemical properties of deoxyribonucleic acids. *J Cell Physiol* 1961: 58.
- 27- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 2007;23:2947-8.
- 28- Schein CH. Repurposing approved drugs on the pathway to novel therapies. *Med Res Rev* 2020;40:586-605.
- 29- Dougan G, Dowson C, Overington J; Next Generation Antibiotic Discovery Symposium Participants. Meeting the discovery challenge of drug-resistant infections: progress and focusing resources. *Drug Discov Today* 2019;24:452-61.
- 30- Ser HL, Tan LTH, Tan WS, Yin WF, Chan KG. Whole-genome sequence of bioactive streptomycete derived from mangrove forest in Malaysia, *Streptomyces* sp. MUSC 14. *Progress In Microbes & Molecular Biology* 2021;1; a0000195. doi: a0000195.
- 31- Law JW, Law LN, Letchumanan V, Tan LT, Wong SH, Chan KG, et al. Anticancer Drug Discovery from Microbial Sources: The Unique Mangrove Streptomycetes. *Molecules* 2020;25:5365.
- 32- Kalyani BS, Krishna PS, Sreenivasulu K. Screening and identification of novel isolate *Streptomyces* sp., NLKPB45 from Nellore coastal region for its biomedical applications. *Saudi J Biol Sci* 2019;26:1655-1660.
- 33- Obeidat M. Cytotoxicity of n-Butanol extracts of streptomycetes against human breast cancer cells. *Int J Pharmacol* 2017;13:969-79.
- 34- Sagar S, Esau L, Holtermann K, Hikmawan T, Zhang G, Stingl U, et al. Induction of apoptosis in cancer cell lines by the Red Sea brine pool bacterial extracts. *BMC Complement Altern Med* 2013;13:344.

- 35- Schulz D, Nachtigall J, Geisen U, Kalthoff H, Imhoff JF, Fiedler HP, et al. Silvalactam, a 24-membered macrolactam antibiotic produced by *Streptomyces* sp.Tu 6392. *J Antibiot (Tokyo)* 2012;65:369-72.
- 36- Chiu CF, Chiu SJ, Bai LY, Feng CH, Hu JL, Lin WY, et al. A macrolide from *Streptomyces* sp. modulates apoptosis and autophagy through Mcl-1 downregulation in human breast cancer cells. *Environ Toxicol* 2021;13.
- 37- Rajivgandhi GN, Ramachandran G, Li JL, Yin L, Manoharan N, Kannan MR, et al. Molecular identification and structural detection of anti-cancer compound from marine *Streptomyces akiyoshiensis* GRG 6 (KY457710) against MCF-7 breast cancer cells. *J King Saud Univ Sci* 2020;32:3463-9.
- 38- Elkhateeb WA, Mohamed MA, Fayad W, Emam M, Nafady IM, Daba GM. Molecular Identification, Metabolites profiling, Anti-breast cancer, Anti-colorectal cancer, and antioxidant potentials of *Streptomyces zaomyceticus* AA1 isolated from a remote bat cave in Egypt. *Res J Pharm Technol* 2020;13:3072-80.
- 39- Kumar P, Chauhan A, Kumar M, Kuanr B.K, Kundu A, Solanki R , et al. In vitro and in silico anticancer potential analysis of *Streptomyces* sp. extract against human lung cancer cell line, A549. *3 Biotech.* 2021;11: 254.

Optimized preconcentration of Imatinib using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC-UV

Pegah Poormand¹, Mahnaz Qomi^{2,3,4}, Javad Hosseini⁴

¹ Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Active Pharmaceutical Ingredients Research Center (APIRC), Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

³ Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Chemistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁴ Department of Applied Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Chemistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Imatinib is an antineoplastic agent acting as a tyrosine kinase inhibitor to treat cancer such as lymphoblastic leukemia. The dosage of the anticancer drugs plays a critical role in the survival of the patients. For this reason, the patient's plasma and urine samples should be monitored to obtain the necessary information regarding the toxicity of the drug. In this study, the applicability of preconcentration and dispersive liquid-liquid microextraction for extraction of trace amount of Imatinib in aqueous samples, before a determination by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), was evaluated.

Materials and methods: The targeted drug was extracted from an aqueous sample with pH= 11 (the donor phase) into an extraction solvent (n-octanol) in the dispersive solution (acetone) as an acceptor phase, which has been dispersed in the sample solution. Different variables on extraction efficiency were studied and optimized by chemometrics design and the Taguchi method. The variables were the donor phase's pH, type of extraction solvent, type of dispersive solvent, speed stirring, extraction time, and extraction temperature.

Results: The optimum conditions of the test were as pH of donor phase:11, type of extraction solvent: n-octanol, type of dispersive solvent: acetone, speed stirring: 500rpm, extraction time: 45min, extraction temperature: 65 centigrade.

Conclusion: The developed method was simple, rapid, sensitive, and suitable for determining trace amounts of Imatinib in aqueous samples.

Keywords: High-performance liquid chromatography, Dispersive liquid-liquid microextraction, Preconcentration, Imatinib.

Cited as: Poormand P, Qomi M, Hosseini J. Optimized preconcentration of Imatinib using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC-UV. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): 377-387.

Correspondence to: Mahnaz Qomi

Tel: +98 9126335396

E-mail: Mahnaz.qomi@gmail.com

ORCID ID: 0000-0001-7264-871X

Received: 9 May 2020; **Accepted:** 4 Aug 2021

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی

دوره ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۳۷۷ تا ۳۸۷

پیش تغلیظ داروی ایماتینیب به روش میکرواستخراج فاز مایع با استفاده از روش مایع-مایع پخشی با طراح کمومتری و اندازه‌گیری به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در مقادیر ناچیز

پگاه پورمند^۱، مهناز قمی^{۲،۳،۴}، جواد حسینی^۴^۱ گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران^۲ مرکز تحقیقات مواد اولیه دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران^۳ گروه شیمی دارویی، دانشکده شیمی دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران^۴ گروه شیمی کاربردی، دانشکده شیمی دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: ایماتینیب، به عنوان مهارکننده تیروزین کیناز، در درمان سرطان‌هایی مانند لوسمی لنفوبلاستی استفاده می‌شود. دوز داروهای ضد سرطان نقش حیاتی در بقای بیماران دارد. به همین دلیل، نمونه‌های پلاسما و ادرار بیمار باید برای اطمینان از اطلاعات لازم در مورد سمیت دارو به دست آید. در این مطالعه، کاربرد میکرواستخراج مایع و مایع پراکنده و مایع پراکنشی برای استخراج مقدار ایماتینیب در نمونه‌های آبی قبل از تعیین کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: داروی هدف از نمونه‌های آبی با $pH=11$ (فاز دهنده) به یک حلال استخراج (n-octanol) در محلول پراکنده (استون) به عنوان یک فاز گیرنده استخراج شد که در محلول نمونه پراکنده شد. به منظور دستیابی به کارایی بالای استخراج، اثرات متغیرهای مختلف بر بهره‌وری استخراج، با استفاده از روش تاگوجی مورد بررسی و بهینه‌سازی شد. متغیرها عبارت از pH فاز دهنده، نوع حلال استخراج، نوع حلال پراکنده، سرعت، زمان استخراج و دمای استخراج بودند.

یافته‌ها: شرایط مطلوب آزمون عبارت از pH فاز دهنده (۱۱)، نوع حلال استخراج (n-octanol)، نوع پراکنده (استون)، سرعت چرخش ($rpm 500$)، زمان استخراج (۴۵ دقیقه)، و درجه حرارت (۶۵ درجه سانتی‌گراد) بودند.

نتیجه‌گیری: روش توسعه یافته ساده، سریع، حساس و مناسب برای تعیین مقدار ردیابی ایماتینیب در نمونه‌های آبی است.

واژگان کلیدی: کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، میکرواستخراج مایع-مایع پراکنده، ایماتینیب.

مقدمه

که منجر به کاهش رشد سلولی یا آپوپتوز در برخی انواع سلول‌های سرطانی می‌شود. استفاده از این دارو به عنوان درمان خط اول استاندارد در بیماران فاز مزمن CML (Chronic myelogenous leukemia) و کریز بلاست و به عنوان خط دوم برای فاز حاد CML که با وجود درمان قبلی با اینترفرون α پیشرفت کرده تصریح شده است. همچنین در درمان تومورهای استرومایی گوارشی نیز مفید است (۱، ۲).

ایماتینیب با نام تجاری Gleevec عامل آنتی-نئوپلاستیک و مهارکننده رشته تیروزین کینازی انکوپروتئین Bcr-Abl است و از فسفریلاسیون کینازی سوستر با ATP جلوگیری می‌کند

آدرس نویسنده مسئول: تهران، مرکز تحقیقات مواد اولیه دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد

اسلامی، مهناز قمی (email: Mahnaz.qomi@gmail.com)

ORCID ID: 0000-0001-7264-871X

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۲/۲۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۵/۱۳

سایر مواد شیمیایی به کار رفته از شرکت‌های Merck و Sigma Aldrich خریداری شدند و همگی دارای درجه خلوص تجزیه‌ای بودند.

تهیه محلول‌ها

محلول استاندارد اولیه ایماتینیب با غلظت (mg/l) ۱۰۰ ppm با توزین پودر استاندارد و به حجم رساندن توسط متانول در بالن به دست آمد. استانداردهای ثانویه از طریق رقیق کردن استاندارد اولیه در آب بدون یون تهیه شدند. همچنین محلول‌های استاندارد کاری روزانه با رقیق‌سازی مناسب محلول‌های استاندارد با آب بدون یون تا غلظت مورد نظر، تهیه شدند. تمامی محلول‌های استاندارد در یخچال در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و هر روز به صورت تازه تهیه شدند.

تجهیزات دستگاهی

اندازه‌گیری دارو توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) ساخت شرکت Yongline کره جنوبی صورت گرفت. این دستگاه مجهز به دو پمپ مدل YL9110 با چهار ورودی حلال، آشکارساز UV مدل ۹۱۲۰ محل تزریق دستی با حجم لوپ ۱۰ μ L بود. جهت ثبت کروماتوگرام و اندازه‌گیری سطح زیر پیک از نرم‌افزار Autochro3000 استفاده شد.

جداسازی در ستون C_{18} به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر درونی ۴/۶ میلی‌متر پر شده با ذرات به ابعاد ۵ میکرومتر صورت گرفت.

تنظیم pH محلول‌ها توسط دستگاه pH متر مدل AZ ۸۶۵۰۲ ساخت کشور تایوان انجام گرفت.

جهت استخراج ظروف شیشه‌ای ته مخروطی ۱۵ میلی‌لیتری استفاده شد. جهت تزریق محلول استخراج به داخل محلول نمونه از میکروسرنگ‌های ۱۰۰ میکرولیتری ساخت شرکت هامیلتون آمریکا و سوئیس استفاده شد.

عمل هم‌زدن محلول آنالیت توسط دستگاه vortexer با گستره چرخش ۰-۲۵۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت. جهت اندازه‌گیری و برداشتن حجم‌های متفاوت از پی‌پت‌های حبابدار، پی‌پت مدرج و نیز سرنگ هامیلتون ۱۰۰ میکرولیتری استفاده شد.

هم‌چنین از مجموعه فیلتراسیون شامل کیف، فیلترهای استات سلولز و تفلون، ارلن خلاء و پمپ خلاء جهت فیلتراسیون حلال‌های مورد استفاده در HPLC به کار گرفته شد.

روش استخراج

مراحل استخراج به اختصار در زیر آمده است:

- ۱- ۱۰ میلی‌لیتر از محلول آبی نمونه با غلظت معین و pH مشخص درون یک ظرف شیشه‌ای ته مخروطی ریخته شد.
- ۲- برای تنظیم دمای محلول فاز دهنده ظرف شیشه‌ای حاوی محلول فاز دهنده را درون حمام آب گرم قرار گرفت.

تهوع و استفراغ، احتباس مایعات همراه با ادم قوزک و دور چشم، اسهال، میالژی، نارسایی احتقانی قلب، کرامپ عضلانی، خونریزی دستگاه گوارش، سرکوب مغز استخوان، سردرد، دردهای استخوانی، راش پوستی و تب از عوارض جانبی این دارو هستند (۳).

استفاده هم‌زمان از داروهای مهارکننده CYP3A4 مثل کتوکونازول، ایتراکونازول، کلاریترومایسین، اریترومایسین باعث کاهش متابولیسم و افزایش غلظت ایماتینیب می‌شود. ایماتینیب با مهار CYP3A4 باعث افزایش غلظت داروهای که توسط CYP3A4 متابولیزه می‌شود، به خصوص HMG-CoA ردوکتازها مثل سیمواستاتین، می‌شود. باتوجه به اینکه وارفارین توسط CYP2C9 و CYP3A4 متابولیزه می‌شود، بیمارانی که نیاز به دریافت آنتی‌کوآگولانت دارند، باید از فرم استاندارد پپارین یا LMWH (Low Molecular Weight Heparin) استفاده کنند. ایماتینیب با کاهش کلیرانس کبدی باعث کاهش غلظت استامینوفن می‌شود. مصرف هم‌زمان این دارو با آنتی‌کوآگولانت‌ها، NSAID، مهارکننده‌های پلاکت و عوامل ترومبولیتیک باعث افزایش احتمال خونریزی و ترومبوسایتوپنی می‌شود (۱، ۳، ۴).

برای درمان CML با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم در روز شروع می‌شود که می‌توان تا ۶۰۰ میلی‌گرم و ۸۰۰ میلی‌گرم در روز افزایش داد. روش میکرواستخراج فاز مایع با استفاده از روش مایع-مایع پخشی این امکان را فراهم می‌کند تا بتوان با استفاده از این روش آسان و ارزان و با مصرف حجم کمی از حلال آلی، مقادیر اندک این دارو را در نمونه‌های آبی و بیولوژیک به دست آورد (۵).

مواد و روشها

مواد شیمیایی و تجهیزات دستگاهی

مواد شیمیایی، استانداردها و نمونه‌های حقیقی

استاندارد داروی ایماتینیب (پودر جامد) با درجه خلوص بالا از شرکت Merck آلمان تهیه شد. حلال متانول با درجه خلوص HPLC از شرکت Merck آلمان خریداری شد. حلال استفاده شده در استخراج از شرکت Merck آلمان خریداری شد و آب بدون یون (Deionized water) جهت استفاده در دستگاه HPLC و نیز سایر آزمایشات توسط دستگاه تولیدکننده آب بدون یون Aquamax ساخت کشور کره جنوبی تهیه شد.

متحرک بر زمان بارداری و نیز قدرت جداسازی آنالیت‌ها بررسی شد که نتایج آن در بخش بعدی آورده شده است (۱۴-۱۲).

بهینه‌سازی شرایط استخراج

در استخراج مایع-مایع پخشی، عوامل متعددی بر میزان استخراج و نیز میزان پیش تغلیظ آنالیت تأثیرگذار هستند. لذا جهت رسیدن به شرایط بهینه تأثیر عوامل متعددی نظیر نوع حلال استخراج‌کننده، نوع حلال پخش‌شونده، حجم حلال استخراج‌کننده، حجم حلال پخش‌شونده، pH فاز گیرنده، pH فاز دهنده، قدرت یونی فاز دهنده، سرعت همزدن محلول، دمای استخراج و همچنین زمان استخراج بر راندمان استخراج مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام بهینه‌سازی در مورد ایماتینیب از غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر در محلول آبی استفاده شد. جهت مطالعه نتایج استخراج از مساحت پیک‌های آنالیت در کروماتوگرام استفاده گردید.

اثر pH فاز دهنده

به منظور بهینه‌سازی اثر pH فاز دهنده، pH در محدوده ۹-۱۱ تنظیم شد.

اثر حجم حلال استخراج‌کننده

اثر حجم حلال استخراج‌کننده در محدوده ۲۰ تا ۴۰ بر کارایی استخراج مطالعه شد.

اثر قدرت یونی فاز دهنده

اثر قدرت یونی بر راندمان استخراج ایماتینیب در محدوده (w/v) ۳۰-۰ نمک NaCl بررسی شد.

اثر هم زدن محلول آنالیت

اثر همزدن محلول در محدوده ۲۵۰-۷۵۰ دور بر دقیقه بر راندمان استخراج آنالیت بررسی شد.

اثر زمان استخراج

اثر زمان استخراج بر راندمان استخراج از ۲۰ تا ۶۰ ثانیه مورد بررسی قرار گرفت.

اثر دما

اثر دمای فاز دهنده بر راندمان استخراج از ۲۵-۶۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شد.

ارزیابی کارایی روش استخراج

ارقام شایستگی

برای بررسی قابلیت کاربرد عملی روش پیشنهادی، تعدادی پارامتر که بیانگر کارایی روش استخراجی هستند، تحت عنوان ارقام شایستگی، از قبیل فاکتور پیش تغلیظ (PF: Relative Preconcentration Factor)، تکرارپذیری (RSD: Relative Standard Deviation)، حد تشخیص (LOD: Limit of

۳- حجم مشخصی از مخلوط حلال استخراج‌کننده و پخش‌کننده را به ظرف حاوی نمونه اضافه کردیم و جهت جلوگیری از تبخیر حلال استخراج‌کننده و پخش‌کننده از درپوش مناسب بر روی ظرف استخراج‌کننده استفاده شد.

۴- محلول برای مدت زمان مشخص توسط دستگاه vortexer هم زده شد.

۵- ظرف حاوی نمونه به دستگاه سانتریفیوژ منتقل شد.

۶- حلال استخراج‌کننده در انتهای ظرف ته مخروطی جمع شده و توسط سرنگ هامیلتون جمع‌آوری و به دستگاه HPLC تزریق شد (۵، ۶).

میکرواستخراج مایع-مایع پخشی

در میکرواستخراج مایع-مایع همانطور که از عنوانش پیداست، در فرآیند استخراج دو فاز شامل فاز محلول آنالیت (دهنده) و فاز حاوی مخلوط حلال استخراج‌کننده و حلال پخش‌شونده که استخراج درون آن انجام می‌شود (فاز گیرنده)، درگیر هستند. در طی یک استخراج، آنالیت مورد نظر تحت شرایط مناسب وارد فاز گیرنده می‌شود (۷، ۸).

اصول تئوری

در DLLME به طور معمول، محلول پخش‌شونده شامل حلال پخش‌شونده و حلال استخراج‌کننده، به سرعت به نمونه آبی که شامل آنالیت موردنظر می‌باشد، تزریق می‌شود. سپس ترکیب حاصل به آرامی هم زده شده و در نهایت یک محلول کدر که حاوی قطره‌های ریز حلال استخراج‌کننده که در محلول نمونه پراکنده شده است، در لوله آزمایش ایجاد می‌شود. بنابراین سطح تماس بسیار بزرگی بین فاز آبی و حلال استخراج به وجود می‌آید؛ در نتیجه آنالیت به سرعت به داخل فاز استخراج، استخراج می‌شود. سپس فاز استخراج با سانتریفیوژ جدا می‌شود و آنالیت در فاز رسوب‌گذاری شده، غنی‌سازی می‌شود. کل فاز آلی استفاده شده در این فرآیند در حد میکرولیتر است. گفتنی است که باید حلال استخراج، غیرقابل اختلاط با آب و حلال پخش‌شونده قابل اختلاط با حلال‌های آبی و حلال استخراج باشد (۹-۱۱).

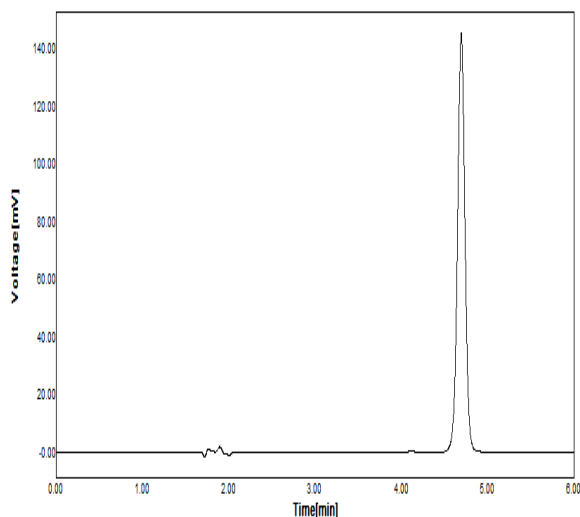
مراحل بهینه‌سازی

جهت بررسی اثر پارامترها در میزان استخراج آنالیت از روش بهینه‌سازی کمومتری به روش تاگوچی استفاده شد.

بهینه‌سازی شرایط جداسازی

به منظور دستیابی به زمان‌های جداسازی کوتاه و جلوگیری از مصرف زیاد حلال و نیز تفکیک مناسب پیک‌های آنالیت در کروماتوگرام، اثر ترکیب فاز متحرک و نیز سرعت جریان فاز

عوامل متعددی بر استخراج به روش مایع-مایع پخشی تأثیرگذار هستند که عبارتند از: نوع حلال استخراج کننده، حجم حلال استخراج کننده، نوع حلال پخش شونده، حجم حلال پخش شونده، pH فاز دهنده، زمان استخراج، سرعت هم‌زدن، قدرت یونی فاز دهنده و دما. برای رسیدن به ماکزیمم کارایی استخراج جهت دستیابی به حساسیت و تکرارپذیری بالا، مطالعه نحوه تأثیر هر کدام از عوامل فوق به منظور بهینه‌سازی ضروری است.



نمودار ۱. کروماتوگرام حاصل از تزریق مستقیم ۱۰۰ ppm محلول آبی ایماتینیب. ستون: ۱۸C به طول ۲۵ سانتی‌متر با قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر و قطر ذرات ۵ میکرومتر. دستگاه HPLC ساخت شرکت Younglin کره جنوبی؛ فاز متحرک: بافر فسفات و استو نیتریل به نسبت ۳۰/۷۰ طول موج: ۲۶۸ نانومتر، زمان بازداری: ۴/۶ دقیقه

نوع حلال استخراج کننده

انتخاب حلال مناسب جهت دستیابی به حداکثر استخراج و به منظور رسیدن به حساسیت خوب و گزینش‌پذیری و دقت بالا حائز اهمیت است. حلالی که انتخاب می‌شود بایستی واجد شرایط زیر باشد:

- ۱- گزینش‌پذیری خوبی برای استخراج آنالیت مورد نظر داشته باشد.
- ۲- باید حلالیت آن در آب کم باشد.
- ۳- در مجاورت حلال پخش شونده متشکل از قطرات ریز باشد.
- ۴- سازگار با رفتار کروماتوگرافی باشد.
- ۵- چگالی آن متفاوت با فاز آبی باشد که امکان جداسازی را فراهم آورد.
- ۶- در دسترس و مقرون به صرفه باشد.

(Detection) و حد شناسایی (Limit of Quantification :LOQ). جهت استخراج دارو از نمونه‌های آبی تحت شرایط بهینه بررسی و تعیین شدند و نتایج مربوط به این قسمت در بخش بعدی آورده شده است (۱۵-۱۸).

منحنی درجه‌بندی (Calibration curve)

در این تحقیق منحنی درجه‌بندی در نمونه‌های آبی تهیه شد. جهت رسم منحنی محلول‌های استاندارد به غلظت‌های ۰/۵، ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر از نمونه تهیه شدند. سپس استخراج تحت شرایط بهینه از محلول‌های استاندارد تهیه شده انجام و سطح زیر پیک به دست آمده بر حسب غلظت اولیه نمونه در فاز دهنده رسم شد. نتایج مربوط به این قسمت در بخش بعدی آورده شده است (۱۹).

تعیین فاکتور پیش‌تغلیظ (PF)

برای تعیین میزان پیش‌تغلیظ ابتدا نیاز به تهیه منحنی درجه‌بندی (کالیبراسیون) تزریق مستقیم است. بدین منظور محلول‌های استاندارد ایماتینیب به غلظت‌های ۰/۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر در آب دیونیزه تهیه شدند. سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر یک از استانداردها به دستگاه HPLC تزریق و سطح زیر پیک بر حسب غلظت رسم شد. در ادامه برای تعیین فاکتور پیش‌تغلیظ، شیب منحنی کالیبراسیون پس از تغلیظ به شیب منحنی کالیبراسیون تزریق مستقیم تقسیم شد. نتایج مربوط به این قسمت در بخش بعدی آورده شده است.

تعیین تکرارپذیری (RSD)

برای تعیین دقت یا تکرارپذیری روش، استخراج سه بار از محلول استاندارد ۱ میلی‌گرم بر لیتر نمونه در یک روز کاری (Within-day RSD or intra-day RSD) (با توجه به شرایط بهینه) و ۹ تکرار در طول یک هفته (Between-day RSD or inter-day RSD) انجام شد و میزان انحراف استاندارد نسبی تعیین شد. نتایج مربوط به این قسمت در بخش بعدی آورده شده است.

نتیجه‌گیری

نتایج مراحل بهینه‌سازی

نتایج بهینه‌سازی شرایط جداسازی

به منظور دستیابی به جداسازی مناسب و پیک‌های متقارن، شرایط جداسازی در دستگاه کروماتوگرافی بهینه‌سازی شد. (نمودار ۱). نوع و نسبت حلال‌ها در فاز متحرک و همچنین سرعت جریان‌های فاز متحرک آزمایش شد و در نهایت شرایط جداسازی به دست آمد (۲۰، ۲۱).

بهینه‌سازی شرایط استخراج

جدول ۱. سطوح مربوط به فاکتورهای بررسی شده در طراحی آزمایش

| (-1) | (0) | (+1) | |
|------|-----|------|-------------------------------|
| ۹ | ۱۰ | ۱۱ | pH فاز دهنده |
| ۲۰ | ۳۰ | ۴۰ | حجم حلال استخراجی (میکرولیتر) |
| ۲۵۰ | ۵۰۰ | ۷۵۰ | دور همزن |
| ۲۰ | ۴۰ | ۶۰ | زمان (ثانیه) |
| ۲۵ | ۴۵ | ۶۵ | دما (سانتی‌گراد) |
| ۰ | ۱۵ | ۳۰ | قدرت یونی |

جدول ۲. آزمایشات طراحی شده جهت شناسایی فاکتورهای مهم تأثیرگذار بر روی نتایج DLLME برای جداسازی و اندازه‌گیری ایماتینیب به روش تاگوچی

| شماره آزمایش | pH فاز دهنده | حجم حلال استخراجی (میکرولیتر) | زمان (ثانیه) | دما (سانتی‌گراد) | قدرت یونی | دور همزن | area |
|--------------|--------------|-------------------------------|--------------|------------------|-----------|----------|------|
| ۱ | ۹ | ۲۰ | ۲۰ | ۲۵ | . | ۲۵۰ | ۱۷۵ |
| ۲ | ۹ | ۳۰ | ۴۰ | ۴۵ | ۱۵ | ۵۰۰ | ۴۹۲ |
| ۳ | ۹ | ۴۰ | ۶۰ | ۶۵ | ۳۰ | ۷۵۰ | ۲۱۱ |
| ۴ | ۱۰ | ۲۰ | ۲۰ | ۴۵ | ۱۵ | ۷۵۰ | ۹۸ |
| ۵ | ۱۰ | ۳۰ | ۴۰ | ۶۵ | ۳۰ | ۲۵۰ | ۳۱۵ |
| ۶ | ۱۰ | ۴۰ | ۶۰ | ۲۵ | . | ۵۰۰ | ۹۲۰ |
| ۷ | ۱۱ | ۲۰ | ۴۰ | ۲۵ | ۳۰ | ۵۰۰ | ۴۳۰ |
| ۸ | ۱۱ | ۳۰ | ۶۰ | ۴۵ | . | ۷۵۰ | ۱۷۱۰ |
| ۹ | ۱۱ | ۴۰ | ۲۰ | ۶۵ | ۱۵ | ۲۵۰ | ۵۹۰ |
| ۱۰ | ۹ | ۲۰ | ۶۰ | ۶۵ | ۱۵ | ۵۰۰ | ۷۴۰ |
| ۱۱ | ۹ | ۳۰ | ۲۰ | ۲۵ | ۳۰ | ۷۵۰ | ۲۲۵ |
| ۱۲ | ۹ | ۴۰ | ۴۰ | ۴۵ | . | ۲۵۰ | ۶۲۰ |
| ۱۳ | ۱۰ | ۲۰ | ۴۰ | ۶۵ | . | ۷۵۰ | ۱۳۰ |
| ۱۴ | ۱۰ | ۳۰ | ۶۰ | ۲۵ | ۱۵ | ۲۵۰ | ۷۲۱ |
| ۱۵ | ۱۰ | ۴۰ | ۲۰ | ۴۵ | ۳۰ | ۵۰۰ | ۱۹۵ |
| ۱۶ | ۱۱ | ۲۰ | ۶۰ | ۴۵ | ۳۰ | ۲۵۰ | ۹۸ |
| ۱۷ | ۱۱ | ۳۰ | ۲۰ | ۶۵ | . | ۵۰۰ | ۱۴۲۰ |
| ۱۸ | ۱۱ | ۴۰ | ۴۰ | ۲۵ | ۱۵ | ۷۵۰ | ۳۰۲ |

بین دو فاز به وجود آید به این ترتیب امکان مهاجرت سریع آنالیت‌ها از فاز آبی به فاز آلی فراهم شود که این شرایط با استفاده از حلال پخش‌کننده مناسب تحقق می‌یابد. حلال‌های متداول مانند استن، استونیتریل و متانول مورد آزمون قرار گرفت. بیشترین بازده استخراج با استفاده از استن به عنوان حلال پخشی به دست آمد. بنابراین استن برای آزمون‌های بعدی انتخاب شد. در نمودار ۳ بررسی اثر نوع حلال پخش‌کننده بر میزان استخراج نشان داده شده است.

بدین منظور جهت انتخاب حلال استخراج‌کننده مناسب برای استخراج ایماتینیب، از حلال‌های مختلفی از جمله کلروفرم، دی‌کلرومتان و کلروبنزن استفاده شد و نتایج آن در نمودار ۲ آورده شده است. باتوجه به نتایج بدست آمده کلروفرم به عنوان حلال بهینه انتخاب شد.

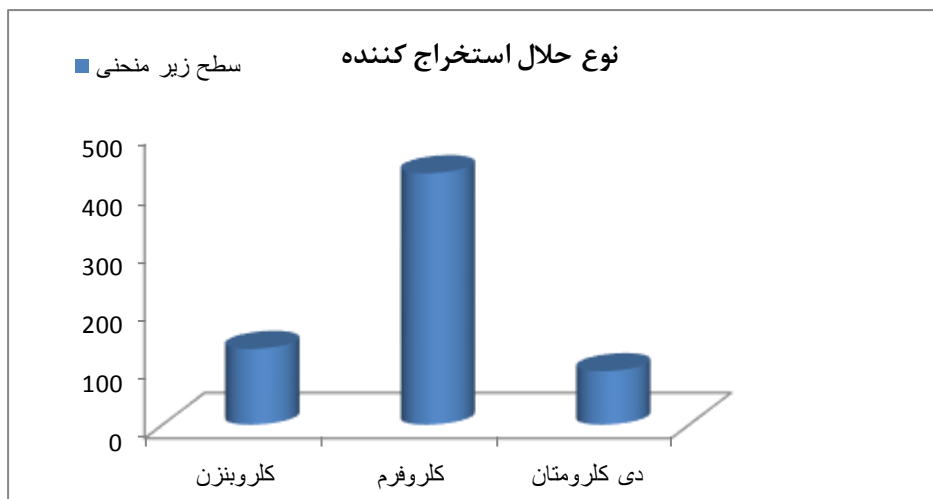
نوع حلال پخش‌کننده

در فرایند DLLME حلال پخش‌کننده باید هم در حلال استخراج‌کننده (فاز آلی) و هم در محلول نمونه (فاز آبی) قابل امتزاج باشد. لازم است که حلال استخراجی به قطرات بسیار ریز در فاز آبی پراکنده شود تا سطح تماس زیادی

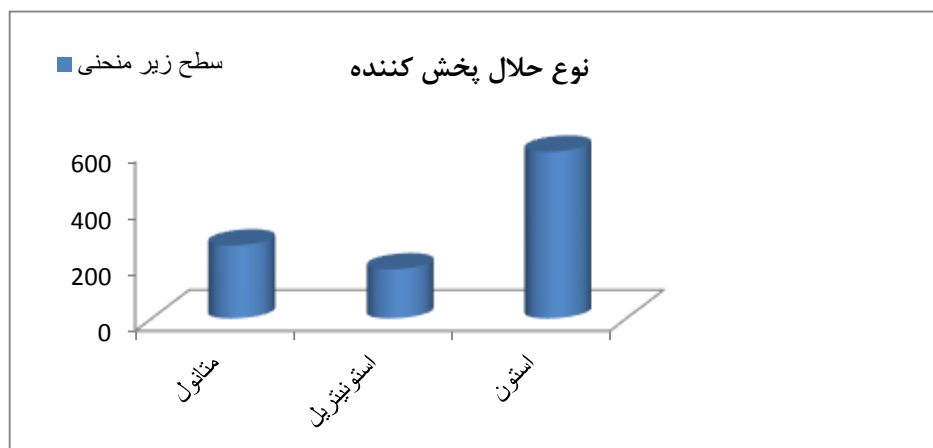
حجم حلال پخش کننده

ثابت و معادل مقدار بهینه (۱/۵ میلی لیتر) در نظر گرفتیم.

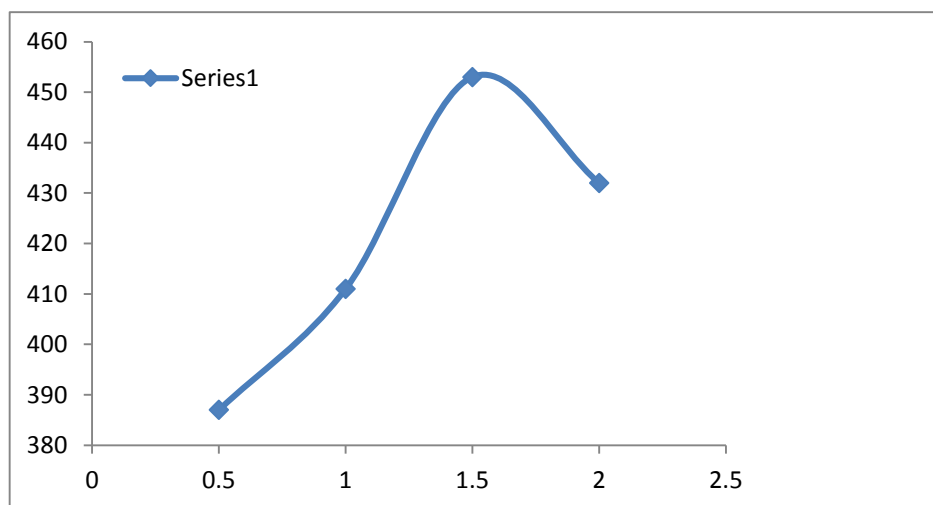
باتوجه به نتایج حاصل از آزمایشات انجام گرفته (نمودار ۴) حجم حلال پخش کننده تاثیر چشم گیری بر میزان استخراج نداشت، در نتیجه مقدار آن را در آزمایشات پیش رو



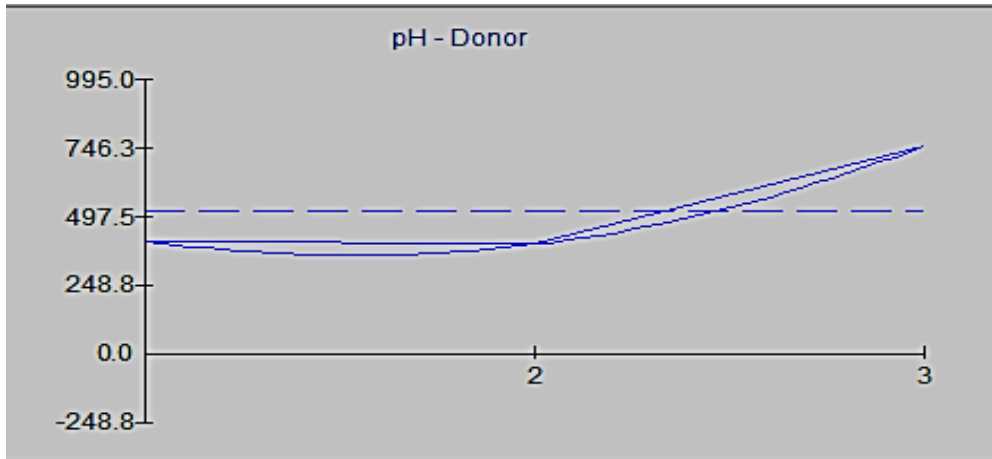
نمودار ۲. بررسی اثر نوع حلال استخراج کننده



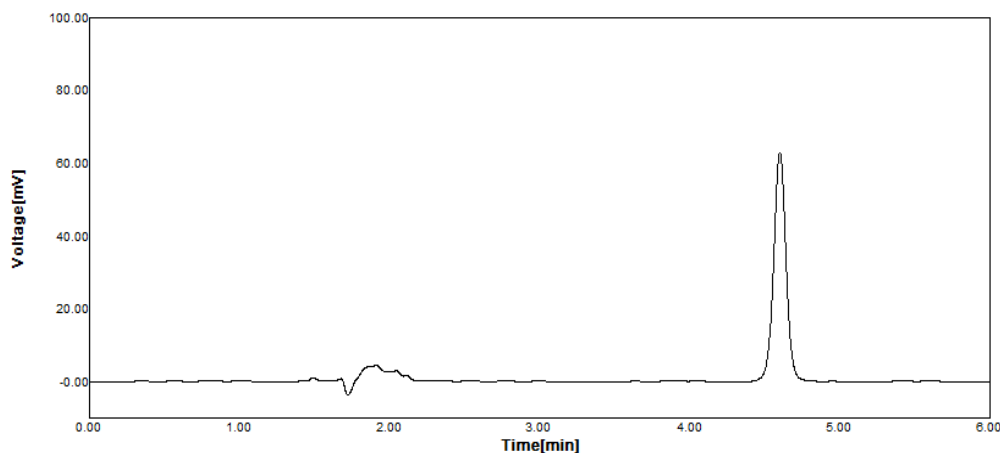
نمودار ۳. بررسی اثر نوع حلال پخش کننده بر میزان استخراج



نمودار ۴. بررسی اثر حجم حلال پخش کننده بر میزان استخراج



نمودار ۵. اثر pH فاز دهنده بر میزان استخراج



نمودار ۶. کروماتوگرام حاصل از استخراج داروی ایماتینیب با غلظت ۱ ppm در شرایط بهینه استخراج

طراحی آزمایش

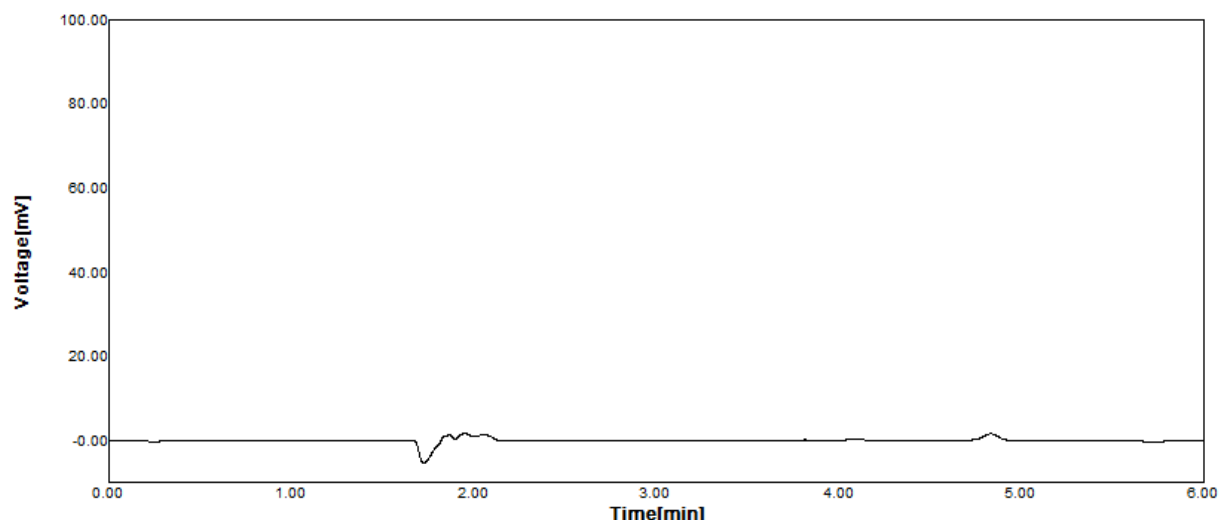
از آن جایی که فاکتورهای مختلفی می‌توانند بر روی میزان و کارایی استخراج تأثیر بگذارند، به منظور دستیابی به فاکتور تغلیظ بالا، اثر این فاکتورها باید بررسی و بهینه شود. pH فاز دهنده، حجم حلال استخراج‌کننده، قدرت یونی، دما، زمان استخراج و سرعت هم‌زدن از جمله فاکتورهایی هستند که باید میزان تأثیر آن‌ها بر روی پاسخ آزمایشات بررسی شود. در این پژوهش طراحی آزمایش به روش تاگوچی و با استفاده از نرم‌افزار Qualitek-4 انجام گرفت. روش تاگوچی با استفاده از آرایه‌های متعامد (Orthogonal Arrays) تعداد آزمایش‌ها را بسیار کاهش داده و موجب صرفه‌جویی در زمان و انرژی و کاهش هزینه‌ها خواهد شد. آرایه‌های متعامد مورد نظر به روش خاصی از بین تعداد کل آزمایش‌ها در روش فاکتوریل کامل، انتخاب می‌شوند. روش تاگوچی ادعا نمی‌کند که جواب بهینه حتماً در آزمایش‌های منتخب وجود دارد، بلکه با استفاده از محاسبات مربوط به آزمایش‌های آرایه می‌توان

شرایط بهینه را تعیین کرد. در پایان با انجام آزمایش تأییدکننده (Confirming Test) می‌توان صحت آنالیزها را مشخص کرد.

در این تحقیق ۶ فاکتور ذکر شده در ۳ سطح مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). طراحی انجام شده شامل ۱۸ آزمایش به همراه نتایج به کمک نرم‌افزار Qualitek-4 برای داروی ایماتینیب در جدول ۲ آورده شده است. نتایج ارائه شده براساس سطح نسبی زیر پیک گونه‌ها است.

اثر pH فاز دهنده بر میزان استخراج

در روش استخراج DLLME، نیروی پیش برنده استخراج گرادیان pH است. پس بهینه‌سازی pH یکی از مهم‌ترین آزمایشات است. برای افزایش میزان استخراج با توجه به ساختار و PKa دارو (PKa دارو ۸٫۹ است)، pH فاز دهنده باید به گونه‌ای تنظیم شود که بتواند آنالیت مورد نظر را به طور موثر دیونیزه کند (pH بالاتر از PKa) و به دنبال آن با کاهش حلالیت در آب، باعث افزایش استخراج آنالیت به حلال آلی شود. حال با توجه به این موضوع و آگاهی داشتن



نمودار ۷. کروماتوگرام حاصل از استخراج داروی ایماتینیب با غلظت ۱ ppm به صورت مستقیم

جدول ۳. تکرار پذیری روش

| LOD (ng mL ⁻¹) | LOQ (ng mL ⁻¹) | Linearity (ng mL ⁻¹) | R ² | PF | RSD% | |
|----------------------------|----------------------------|----------------------------------|----------------|----|-------|-------|
| | | | | | Intra | Inter |
| ۵ | ۱۵ | ۱۵-۵۰۰۰ | ۰/۹۹۸۴ | ۹۰ | ۴/۸ | ۶/۳ |

محلول، تعادل بین این دو فاز سریع تر برقرار می شود و در این تحقیق برای هم زدن محلول از vortexer استفاده شد. اثر سرعت چرخش بر میزان استخراج در محدوده ی ۷۵۰-۲۵۰ دور در دقیقه بررسی شد. نمودار ۷ تأثیر این عامل را به خوبی نشان می دهد. در این روش وقتی سرعت چرخش خیلی بالا می رود، باعث ایجاد حباب در محلول می شود که منجر به کاهش انتقال آنالیت به داخل قطرات حلال استخراج کننده و در نهایت کاهش کارایی، تکرارپذیری و دقت کار می شود. سرعت ۵۰۰ دور بر دقیقه به عنوان سرعت چرخش بهینه انتخاب شد.

اثر قدرت یونی فاز دهنده بر میزان استخراج

در این تصویر اثر افزایش نمک به فاز دهنده بر روی راندمان استخراج بررسی شد. به طور کلی هنگامی که نمک به آب اضافه می شود، دو پدیده به طور هم زمان اتفاق می افتد: پدیده اول که به اثر Salting-out معروف است به این صورت روی می دهد که مولکول های آب در اطراف مولکول های یونی نمک، کره های آبپوشی تشکیل می دهند و این موضوع باعث کاهش مولکول های آب برای آبپوشی مولکول های آنالیت شده و نتیجه آن رانش مولکول های آنالیت به سمت حلال آلی و در نتیجه افزایش کارایی استخراج است. پدیده دوم بر هم کنش الکتروستاتیکی مولکول های آنالیت و نمک است که این بر هم کنش باعث

از میزان دیونیزه شدن دارو در pH های مختلف می توان به افزایش کارایی استخراج کمک کرد. در pH=۱۱ راندمان استخراج به حداکثر مقدار خود می رسد. این مسأله نشانگر این است که در این pH، آنالیت بیشتر به فرم مولکولی وجود دارد؛ لذا انتقال به فاز آلی به سهولت روی می دهد (نمودار ۵).

اثر حجم حلال استخراج کننده بر میزان استخراج

حجم حلال استخراج کننده استفاده شده می تواند بر میزان کارایی و همچنین بازه استخراج موثر باشد. لذا حجم حلال استخراج کننده در گستره ۲۰-۴۰ میکرولیتر از کلروفورم مورد مطالعه قرار گرفت. همان طور که در نمودار ۶ مشاهده می شود با افزایش حجم حلال استخراج کننده تا حد متوسط میزان استخراج افزایش می یابد و در ادامه در حجم های بالاتر سطح زیر پیک ها در کروماتوگرام با کاهش مواجه می شود. لذا بیشترین کارایی در حد متوسط حجم حلال استخراج کننده به دست می آید.

اثر سرعت هم زدن محلول آنالیت

میکرواستخراج DLLME بر مبنای برقراری تعادل بین فاز آلی و آبی استوار است. سرعت کلی استخراج در مرحله انتقال آنالیت در فصل مشترک فاز دهنده- فاز آلی محدود می شود. هم زدن محلول معمولاً برای بهتر کردن کینتیک و کاهش زمان استخراج به کار می رود چرا که با هم زدن

رسیدن به تعادل کاهش یابد. در این تحقیق اثر دما بر راندمان استخراج در محدوده ۲۵ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شد.

با بررسی اثر افزایش دما به طور مستقل، راندمان استخراج افزایش می‌یابد.

شرایط بهینه استخراج داروی ایماتینیب به روش DLLME

نتایج تکرار پذیری روش (RSD) در جدول ۳ آورده شده است.

بحث

هدف ما در این پژوهش ارائه روش ساده‌تر، مقرون به صرفه‌تر، سریع‌تر و سازگارتر با محیط زیست بود که براساس بررسی صورت گرفته روش DLLME واجد این شرایط است، به طوری که:

۱- این روش قابلیت استفاده در صنعت برای اندازه‌گیری ایماتینیب در فرم‌های دارویی را دارد.

۲- این روش می‌تواند در آینده برای مطالعات و کارهای کلینیکی، بالینی و فارماکولوژی استفاده شود.

طبق مطالعه‌ای که انجام شد شرایط بهینه جهت بالاترین میزان استخراج این دارو از نمونه آبی مشخص شد که می‌توان از این داده‌ها و نتایج در جهت انجام مطالعات فارماکوکینتیک و بالینی در آینده استفاده کرد.

کاهش تحرک مولکول‌های آنالیت، در نتیجه کاهش کارایی استخراج می‌شود. از سوی دیگر اضافه کردن نمک می‌تواند باعث افزایش ویسکوزیته محلول نمونه و برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی در محلول شده که منجر به کاهش حرکت آنالیت از فاز دهنده به حلال می‌شود. به طور کلی افزودن نمک بسته به ماهیت آنالیت ممکن است باعث افزایش، کاهش و یا عدم تغییر راندمان استخراج شود.

در این تحقیق اثر افزایش نمک، با افزودن نمک NaCl در محدوده ۰-۳۰٪ وزنی - حجمی بر روی راندمان استخراج بررسی شد. از روی نتایج نشان داده شده می‌توان مشاهده کرد که افزودن نمک به طور چشم‌گیری موجب کاهش استخراج دارو شده است.

اثر زمان استخراج بر میزان استخراج

استخراج و بازیافت آنالیت تحت تأثیر زمان هم خوردن نمونه است که منجر به تسهیل انتقال آنالیت از فاز دهنده به حلال آلی و در نهایت فاز گیرنده می‌شود. در این تحقیق اثر زمان استخراج از ۲۰ تا ۶۰ ثانیه مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج نشان می‌دهد که با افزایش زمان، میزان استخراج افزایش می‌یابد.

اثر دما بر میزان استخراج

در این مرحله اثر دما بر روی راندمان استخراج آنالیت مورد مطالعه قرار گرفت. انتظار می‌رود که افزایش دما باعث افزایش فاکتور تغلیظ به دلیل افزایش ضریب انتشار آنالیت به درون قطرات حلال آلی شود و از سوی دیگر زمان

REFERENCES

- Larson RA, Druker B J, Guilhot F, O'Brien SG, Riviere GJ, Krahnke T, et al. Imatinib Pharmacokinetics and Its Correlation with Response and Safety in Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia: A Subanalysis of the IRIS Study. *Blood* 2008; 111: 4022-4028.
- Christoforidis JB, DeAngelo DJ, D'Amico DJ. Resolution of Leukemic Retinopathy Following Treatment with Imatinib Mesylate for Chronic Myelogenous Leukemia. *Am J Ophthalmol* 2003;135:398-400.
- Verboom MC, Kloth JSL, Swen JJ, Sleijfer S, Reyners AKL, Steeghs N, et al. Genetic polymorphisms in ABCG2 and CYP1A2 are associated with imatinib dose reduction in patients treated for gastrointestinal stromal tumors. *Pharmacogenomics J* 2019;19:473-479.
- Suttorp M, Bornhäuser M, Metzler M, Millot F, Schleyer E. Pharmacology and Pharmacokinetics of Imatinib in Pediatric Patients. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2017; 11 :219-231.
- Saraji M, Boroujeni MK. Recent Developments in Dispersive Liquid-Liquid Microextraction. *Anal Bioanal Chem* 2013; 406 :2027-2066.
- Tehrani MS, Givianrad MH, Mahoor N. Surfactant-Assisted Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Followed by High-Performance Liquid Chromatography for Determination of Amphetamine and Methamphetamine in Urine Samples. *Anal Methods* 2012;4 :1357.
- Amoli-Diva M, Taherimaslak Z, Allahyari M, Pourghazi K, Manafi MH. Application of dispersive liquid-liquid microextraction coupled with vortex-assisted hydrophobic magnetic nanoparticles based solid-phase extraction for

- determination of aflatoxin M1 in milk samples by sensitive micelle enhanced spectrofluorimetry. *Talanta* 2015;134:98-104.
8. Ahmadi-Jouibari T, Fattahi N, Shamsipur M. Rapid extraction and determination of amphetamines in human urine samples using dispersive liquid-liquid microextraction and solidification of floating organic drop followed by high performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* 2014;94:145-51.
9. Amiri Pebdani A, Dadfarnia S, Haji Shabani AM, Khodadoust S, Talebianpoor MS. Modified dispersive liquid-phase microextraction based on sequential injection solidified floating organic drop combined with HPLC for the determination of phenobarbital and phenytoin. *J Sep Sci* 2018;41:509-517.
10. Kiszkiel-Taudul I, Starczewska B. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction of Famotidine and Nizatidine from Water Samples. *J Chromatogr Sci* 2019;57:93-100.
11. Rezaee M, Khalilian F. A novel method for the determination of trace thorium by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop. *Quim Nova* 2016; 39: 167-171.
12. Ebrahimzadeh H, Mollazadeh N, Asgharinezhad AA, Shekari N, Mirbabaei F. Multivariate optimization of surfactant-assisted directly suspended droplet microextraction combined with GC for the preconcentration and determination of tramadol in biological samples. *J Sep Sci* 2013;36:3783-90.
13. Ghasemi E. Optimization of solvent bar microextraction combined with gas chromatography mass spectrometry for preconcentration and determination of tramadol in biological samples. *J Chromatogr A* 2012;1251:48-53.
14. Wang Q, Wong CH, Chan HYE, Lee WY, Zuo Z. Statistical Design of Experiment (DoE) based development and optimization of DB213 in situ thermosensitive gel for intranasal delivery. *Int J Pharm* 2018;539:50-57.
15. Darvish M, Qomi M, Akhgari M, Raoufi P. Determination of Trace Amounts of Methamphetamine in Biological Samples by Hollow Fiber Liquid-Phase Microextraction Followed by High Performance Liquid Chromatography. *Biosci Biotechnol Res Asia* 2015;12:587-597.
16. Emadzadeh S, Qomi M, Saadat M, Piroozi F. Three-Phase Hollow Fiber Liquid-Phase Micro Extraction for Determination and Analysis of Terazosin in Biological Fluids Via High Performance Liquid Chromatography at Trace Levels. *Curr Anal Chem* 2016;12:489-495.
17. Charmahali G, Qomi M, Akhavan S, Chaharmahali M, Tafti F. Determination of Trace Amounts of Risperidone in Human Urine Sample by Hollow Fiber Liquid-Phase Microextraction Combined with High Performance Liquid Chromatography. *Biosci Biotechnol Res Asia* 2015;12 : 539-548.
18. Faridi N, Ghasemi N, Qomi M, Ramezani M. Selective Method for Determination and Microextraction of Imatinib at Trace Levels: A Possible Dose Monitoring Technique in Cancer Patients. *Curr Anal Chem* 2018;14:495-503.
19. Rezaee R, Qomi M, Piroozi F. Hollow-Fiber Micro-Extraction Combined with HPLC for the Determination of Sitagliptin in Urine Samples. *J Serbian Chem Soc* 2015;80: 1311-1320.
20. Ghorbani M, Bagherian A. Optimization of astrazon blue adsorption onto sulfonated styrene-co-divinylbenzene resin by experimental design methodology. *Nashrieh Shimi va Mohandesi Shimi Iran (NSMSI)* 2016;35:25-35. [In Persian]
21. Asadollahi BM, Aghakhani AI. Application of solid phase microextraction and chemometrics in analysis of volatile components in cinnamon extract. *Nashrieh Shimi va Mohandesi Shimi Iran (NSMSI)* 2017;96:105-113. [In Persian]

Role of Propolis as a pharmaceutical candidate on interleukin-1 β proinflammatory cytokine expression in Alzheimer's rat

Maryam Saeidi, *Fatemeh Rouhollah*

Department of Cellular and Molecular Sciences, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: One of the important factors that play a key role in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) is inflammatory processes leading to impaired expression of inflammatory cytokines such as interleukin-6, TNF- α , and interleukin-1 β (IL-1 β). Propolis, as a therapeutic compound, has anti-inflammatory and antioxidant properties. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of this compound on changes in IL-1 β expression levels in AD rats.

Materials and methods: 42 adult male Wistar rats were divided into four groups, including control, sham, Alzheimer, and propolis. Cellular changes in brain tissue was evaluated by preparing histopathologic slides and effect of propolis on changes in IL-1 β expression levels were investigated using Real-Time PCR method.

Results: Histopathologic investigations in the studied groups showed a significant difference between scopolamine-treated group compared to control and sham groups in terms of changes in the IL-1 β expression levels and cellular damage; whereas there was no difference between the propolis-treated and scopolamine-treated groups in this regard; only-morphological difference in the organization of neurons were observed. The results of Real-Time PCR showed that the IL-1 β expression level was significantly different in the propolis-treated group from the Alzheimer's group ($p < 0.05$), indicating that propolis significantly decreased gene expression.

Conclusion: The results of the present study showed that propolis could be considered as an effective drug candidate for the AD treatment considering its anti-inflammatory property and effect on the decrease of IL-1 β expression.

Keywords: *Alzheimer's disease, Interleukin-1 beta, Propolis, Wistar rats.*

Cited as: Saeidi M, Rouhollah M. Role of propolis as a pharmaceutical candidate on interleukin-1 β proinflammatory cytokine expression in Alzheimer's rat. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): 388-396.

Correspondence to: Fatemeh Rouhollah

Tel: +98 9121941027

E-mail: Frouhollah@iautmu.ac.ir

ORCID ID: 0000-0001-5243-129x

Received: 27 Dec 2020; **Accepted:** 28 Aug 2021

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۳۸۸ تا ۳۹۶

بررسی نقش پروپولیس (بره موم) به عنوان یک کاندیدای دارویی در بیان ژن سیتوکین پیش التهابی اینترلوکین β -1 در موش دچار آلزایمر

مریم سعیدی، فاطمه روح الله

گروه سلولی مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: از عوامل مهمی که در پاتوژنز آلزایمر نقش دارد، فرایندهای التهابی است که از طریق اختلال در بیان سایتوکاین‌های التهابی ایجاد می‌شود. برای کاهش این فرآیندها و مهار عملکرد برخی از سایتوکاین‌های التهابی از ترکیبات دارویی مختلف استفاده می‌شود. پروپولیس خاصیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی دارد. در این پژوهش تاثیر پروپولیس بر میزان بیان ژن اینترلوکین β -1 ($IL-1\beta$) در موش‌های مبتلا بررسی شد.

روش بررسی: ۴۲ سر موش بزرگ آزمایشگاهی ویستار نر در چهار گروه کنترل، شم، آلزایمر و گروه دریافت کننده داروی پروپولیس طبقه‌بندی شدند. برای القای بیماری از اسکوپولامین استفاده شد. اسکوپولامین در نمک (0.9 NaCl) در غلظت ۰/۲ میلی گرم در کیلوگرم حل شد و به صورت صفاقی تزریق شد. پروپولیس نیز بعد از آماده سازی در سه غلظت ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده شد. ارزیابی تغییرات سلولی بافت مغز از طریق لام‌های هیستوپاتولوژی و تاثیر پروپولیس بر بیان تغییرات ژن اینترلوکین-1 بتا با *Real-Time PCR* انجام شد.

یافته‌ها: در بررسی هیستوپاتولوژیکی، تغییرات سلولی در گروه تیمار شده با اسکوپولامین نسبت به گروه‌های کنترل و شم مشهود بود اما با گروه دریافت کننده پروپولیس مشابه بود و تفاوت مورفولوژی در سازمان دهی سلول‌ها مشاهده شد. نتایج روش *Real-Time PCR* نشان داد، بیان ژن $IL-1\beta$ در گروه تیمار شده با پروپولیس در مقایسه با گروه آلزایمر اختلاف معنی‌داری دارد ($p < 0.05$) دارد.

نتیجه‌گیری: پروپولیس با کاهش بیان $IL-1\beta$ می‌تواند به عنوان کاندید دارویی در درمان بیماری آلزایمر در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: بیماری آلزایمر، پروپولیس، اینترلوکین-1 بتا، موش‌های ویستار.

مقدمه

شد و یکی از شایع‌ترین علت زوال عقل در سالمندان به شمار می‌رود (۱). در حال حاضر، ۴۴ میلیون نفر در سراسر جهان مبتلا به فراموشی هستند و تخمین زده شده که تا سال ۲۰۵۰ این آمار ۳ برابر افزایش یابد (۲). مهم‌ترین ریسک فاکتور در بیماری آلزایمر سن است. علاوه بر این، فاکتورهای متعددی همچون وجود سابقه خانوادگی بیماری، اختلالات شناختی خفیف، بیماری‌های قلبی-عروقی، میزان تحصیلات، و همچنین آسیب‌های تروماتیک مغزی در احتمال بروز آن نقش دارند. شواهد حاکی از آن است که این بیماری لزوما ناشی از پیری و افزایش سن نیست و شانس تشخیص آن در افراد بالای ۸۵ سال یک نفر در هر سه نفر است. بسیاری از

بیماری آلزایمر (Alzheimer disease) یک اختلال پیش رونده است و در مغز که حافظه و عملکرد شناختی را کنترل می‌کند اتفاق می‌افتد و به تدریج حافظه و توانایی یادگیری، تفکر، ارتباط برقرار کردن و انجام فعالیت‌های روزانه از بین می‌رود. این بیماری در سال ۱۹۰۷ توسط Alois Alzheimer مطرح

آدرس نویسنده مسئول: تهران گروه سلولی مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، فاطمه روح الله (email: Frouhollah@iautmu.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0001-5243-129x

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۱۰/۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۶/۶

هوپرزین-A بدون داشتن هیچگونه عوارضی می‌تواند اثرات سودمندی بر روی حافظه کوتاه-مدت گذاشته و به دنبال آن سبب بهبود عملکرد شناختی و حافظه در بیماران مبتلا به آلزایمر شود (۱۳). پروپولیس کلمه‌ای یونانی است که از دو بخش پرو به معنی جلو و پولیس به معنی دفاع تشکیل شده است که در کل به معنی دفاع از شهر است. این ماده توسط زنبورها از مواد صمغی گیاهان و درختان جمع‌آوری شده و برای دفاع در درون کندو زنبورها به کار می‌رود (۱۶). بیش از ۳۰۰ نوع ترکیب شیمیایی در پروپولیس وجود دارد که از جمله آن می‌توان به سینامیک اسید و مشتقات آن، استروئیدهای متنوع، آمینواسیدها، آلئیدها و کتون‌ها اشاره کرد. علاوه بر این مواد معدنی بسیاری نیز در پروپولیس شناسایی شده است. مطالعات گسترده‌ای بر روی پروپولیس صورت گرفته که نشان می‌دهد این ترکیب می‌تواند به عنوان یک ضد التهاب قوی بر علیه التهابات حاد و مزمن عمل کند. این ترکیب علاوه بر خاصیت ضدالتهابی، دارای خاصیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی نیز است. خاصیت ضد التهابی پروپولیس به دلیل حضور فلاونوئیدها در ساختار آن است که همان طور که گفته شد موجب مهار آنزیم COX، لیبواکسیژناز و همچنین کاهش رها سازی پروستاگلاندین E2 و در نهایت مهار التهاب می‌شود (۱۷، ۱۸). از آنجایی که در بیماری آلزایمر التهاب نقش اساسی در پاتوژنز و تخریب نورونی دارد و همچنین یکی از عوامل ایجادکننده التهاب سایتوکاین‌های التهابی هستند، در این پژوهش میزان تغییرات IL-1β را به عنوان نماینده سایتوکاین‌های التهابی، در ۴ گروه آزمایشی روی موش بزرگ آزمایشگاهی و به کمک روش Real-time PCR و روش هیستوپاتولوژی مورد بررسی قرار دادیم. داروی ضد التهابی پروپولیس که بومی ایران است نیز جهت بررسی تاثیر خاصیت ضدالتهابی آن در بافت مغز موشهای مبتلا به آلزایمر استفاده شد و در نهایت تاثیر این دارو بر روند بیماری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

نحوه آماده سازی پروپولیس اتانولی و اسکوپولامین

جهت تهیه عصاره هیدرو الکلی پروپولیس، بره موم مورد استفاده از کندوهای زنبور عسل واقع در نواحی شمالی کوه‌های سبلان جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها در اسرع وقت به آزمایشگاه دانشکده منتقل و تا زمان عصاره گیری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. مقدار ۲۵ گرم از آن در ۱۰۰

اختلالات مولکولی در بیماری آلزایمر تشخیص داده شده و بررسی‌ها نشان داده این بیماری ناشی از یک سری ضایعات مولکولی و ژنتیکی همچون اختلالات پروتئینی، اختلال سیناپتیک و التهاب است (۳، ۴). التهاب از عواملی است که نقش اساسی در بروز بیماری آلزایمر دارد و از دید پاتولوژیک در نواحی آسیب‌پذیر مغز در بیماری آلزایمر رخ داده به طوری که بافت‌های دژنره شده و رسوبات نامحلول غیرطبیعی مواد از محرک‌های کلاسیک التهاب به شمار می‌روند. به همین ترتیب، در مغز مبتلا به آلزایمر نورون‌ها، نوریت‌ها، پپتیدهای آمیلوئید β نامحلول و تنگ‌های نوروفیبریلی محرک‌های التهاب را فراهم می‌کنند (۵). اینترلوکین-۱β (IL-1β)، اینترلوکین-۶ و TNF-α از جمله سایتوکاین‌های التهابی هستند که در بروز التهاب نقش دارند. اینترلوکین-۱β یک بتا یک سایتوکاین تنظیم‌کننده ایمنی است که بیش از حد در ناحیه قشری مغز آسیب‌دیده AD بیان می‌شود. IL-1β و پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید β هر دو به طور قابل توجهی در افرادی که اختلال شناختی ناشی از صرع دارند افزایش می‌یابد، به طوری که ممکن است این افراد را در معرض بروز تغییرات پاتولوژیک زودرس آلزایمر قرار دهد (۷). امروزه از داروهای شیمیایی و طبیعی گوناگون برای کاهش التهاب و کنترل بیماری آلزایمر استفاده می‌شود. داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs) از طریق مهار آنزیم سیکلواکسیژناز (Cyclooxygenase(COX)) مانع از تولید ایکوزانوئیدها، ترکیباتی که نقش مهم در ایمنی و التهاب سلول‌ها ایفا می‌کنند، می‌شوند. مطالعات نشان داده که سطح mRNA پروتئین COX به طور قابل توجهی در مناطق درگیر بافت مغز AD بالا است. در نتیجه دیده شده که NSAID ها با مهار این آنزیم، التهاب پایداری که در بافت مغز AD موجود است را کاهش می‌دهند. از طرف دیگر NSAID ها می‌توانند به طور مستقیم بر تولید پپتیدهای آمیلوئید β تاثیر بگذارند، اگرچه ترکیبات NSAID تاثیرات ضد التهابی قابل توجهی را در آزمایشات پایه‌ای نشان داده‌اند اما متأسفانه در آزمایشات بالینی در بیماران AD خیلی اثربخش نبودند (۱، ۸). در حال حاضر تنها داروی در دسترس تائید شده توسط سازمان غذا و داروی آمریکا مهارکننده های استیل کولین استراز شامل ریواستیگمین (Rivastigmine) و گالانتامین (Galantamine) و دونیزیل و رسپتور آنتاگونیست N-متیل D-آسپاراتات (مانانتین) برای بهبود علائم آلزایمر استفاده می‌شوند (۹-۱۲). هوپرزین A (Huperzine A) یک آلکالوئید و ترکیب گیاهی است و مهارکننده انتخابی استیل کولین استراز است.

Test) و Locomotion Test انجام شده و بافت مغز در همان روز خارج می‌شود. در این مرحله اگر موش بر اثر تزریق دارو به آنزایمر مبتلا شده باشد به یاد نمی‌آورد که در محیط تاریک دچار شوک شده و دوباره در مرحله PAL Test از محیط روشن وارد محیط تاریک می‌شود.

۴. گروه آزمایش ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم اسکوپولامین دریافت شده (۰,۰۰۲ میلی‌گرم در کیلوگرم IP) + پروپولیس (۱۵-۲۰-۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم رت). در این گروه تزریق اسکوپولامین در طی دوهفته انجام شد و طی این مدت از داروی پروپولیس به صورت خوراکی نیز برای بررسی اثر آن در بهبود بیماری استفاده شد. گروه ۴ دارای ۳ زیرگروه بود که در هر زیر گروه ۷ عدد موش رت و یستار بعد از دریافت اسکوپولامین تحت تیمار با پروپولیس با دوز مربوطه بودند.

همه آزمایشات در مرحله نور بین ساعت ۹:۰۰ تا ۱۵:۰۰ انجام شد. گروه‌های آزمایشی شامل ۷ حیوان بود و هر حیوان فقط یک بار آزمایش شد. تمام مراحل مطابق با دستورالعمل‌های نهادی برای مراقبت و استفاده از حیوانات انجام شده است (کد اخلاق IR.IAU.PS.REC.1398.005).

مطالعات هیستوپاتولوژیکی و بررسی‌های میکروسکوپی

برای بررسی این که موش‌های ویستار، مبتلا به آنزایمر شده‌اند یا خیر از قسمت هیپوکمپ بافت مغز لام تهیه شد و با مشاهده تغییرات سلولی و مشاهده پلاک‌های آمیلوئیدی متوجه شدیم که موش‌ها مبتلا به شبه آنزایمر شده‌اند. نمونه بافت مغزی پس از کشته شدن حیوان با رعایت موازین اخلاقی جدا شد، سپس در یک فیکساتیو بافر، جهت فیکس شدن قرارداد شد. در نهایت بافت‌ها روی لام گذاشته شدند و رنگ آمیزی نمونه‌ها با روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) انجام شد (۲۱). هرگونه تغییر سلولی در گروه‌های مختلف توسط میکروسکوپ نوری (Olympus BX51; Olympus, Tokyo, Japan) بررسی شد. مراحل به این ترتیب انجام شد: ۱- ثابت کردن: وقتی بافت زنده را درون فیکساتیو یا ثابت‌کننده قرار می‌دهیم. بلافاصله سلول‌ها می‌میرند و فرصتی برای فعالیت و عمل آنزیم‌ها باقی نمی‌ماند. در نتیجه ساختار طبیعی بافت حفظ می‌گردد. ۲- آبگیری: در طی این مرحله آب از بافت‌های ثابت شده برداشته می‌شود. ماده‌ای که از آن به عنوان گیرنده آب استفاده می‌شود اتانول است. ۳- پاساژ بافت: پس از ثابت کردن بافت‌ها و آبگیری، آن‌ها را برای آغستگی در پارافین آماده می‌کنیم. پارافین می‌تواند سختی لازم را برای میکروتومی (برش) به بافت بدهد. ۴- شفاف سازی: برای شفاف سازی از زایلین بهره می‌گیریم. ۵- نفوذ و آغستگی: بافت‌ها بعد از شفاف کردن به یک حمام پارافین مذاب برای نفوذ و آغستگی

میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت در یک ظرف در بسته و در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس محلول حاصل، در دمای اتاق دو بار فیلتر (کاغذ واتمن شماره ۴ برای جداسازی قطعات درشت) شد. مایع حاصله در دستگاه روتاری (تقطیر در شرایط خلا)، در آنکوباتور ۳۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس عصاره به دست آمده جهت تهیه دوز مورد نظر در این مطالعه با الکل ۱۰ درصد رقیق شد و تا زمان استفاده در ظرف شیشه‌ای تیره رنگ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۹).

القای آنزایمر

در مطالعه حاضر از اسکوپولامین هیدروبروماید (سیگما، آمریکا) استفاده شد. اسکوپولامین که آنتاگونیست گیرنده‌های موسکارینی است، باعث اختلال موقت در حافظه فضایی شده و مدلی شبیه بیماری آنزایمر ایجاد می‌کند. اسکوپولامین در نمک (0.9% NaCl) در غلظت‌های نهایی ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم حل شد و به صورت داخل صفاقی به مدت ۱۴ روز تزریق شد (۲۰).

آماده سازی حیوانات

در این پژوهش از موش‌های نژاد ویستار (از حیوان خانه انستیتو پاستور واقع در گرمدره کرج خریداری شد) در محدوده وزنی ۲۸۰-۲۲۰ گرمی استفاده شد، که به تعداد ۷ عدد در هر قفس با یک برنامه ۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی و دمای حدود ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند و حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موش‌ها یک هفته قبل از شروع آزمایش به طور تصادفی در چهار گروه (۷ نفر) به شرح زیر توزیع شدند:

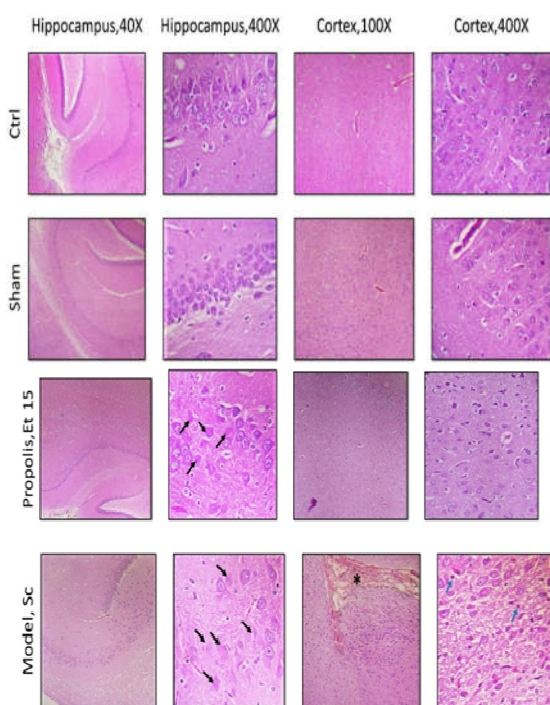
۱. کنترل: بدون دریافت هیچ درمانی. در این گروه موش‌ها جهت تطابق با محیط به مدت دو هفته در محیط آزمایشگاه نگه داری شدند. سپس PAL training روی موش‌ها انجام شد و موش‌ها در شاتل باکس قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت و انجام PALtest بافت مغز برای انجام مراحل بعدی برداشت شد.

۲. کنترل سرم نمکی (Sham): محلول نمکی دریافت شده (۱۸ میکرولیتر در هر گرم ۱۸۰ گرم موش صحرائی).

در این گروه نیز به مدت دو هفته در یک زمان مشخص به موش‌ها نرمالین سالین تزریق می‌شود و بعد از دو هفته PAL training انجام شده و موش‌ها در شاتل باکس قرار می‌گیرند و ۲۴ ساعت بعد بافت مغز خارج می‌شود.

۳. گروه آزمایش ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم اسکوپولامین دریافت کرد (۰,۰۰۲ میلی‌گرم در کیلوگرم IP). در این گروه داروی اسکوپولامین به صورت داخل صفاقی روزانه (به مدت ۱۴ روز) به موش‌ها تزریق شد. بعد از دو هفته مرحله PAL training و بعد از ۲۴ ساعت مرحله PAL Test (Passive Avoidance Learning)

اینفیلتراسیون سلول‌های التهابی و دمیالیناسیون مشهود بود. بررسی هیستوپاتولوژیک بافت مغز گروه دریافت کننده پروپولیس اتانولی با غلظت ۱۵ میلی گرم همراه با دژنراسیون نورونی متعدد و نکروز ناحیه هیپوکمپ تشابه نزدیکی به گروه اسکوپولامین داشت و سلول‌های ناحیه CA1 نرمال بودند (شکل ۱).



شکل ۱. بخش‌های هیستوپاتولوژی مغز در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (ctrl کنترل، Sham، Sc اسکوپولامین، اسکوپولامین و پروپولیس ۱۵ mg/kg). و رنگ آمیزی شده با روش هماتوکسیلینو اتوزین؛ پیکان‌های باریک: عصب‌های پیرامیدال CA1: ستاره‌ها: هایپریمی و خون ریزی منتهی، پیکان‌های آبی: انفیلتراسیون سلول‌های التهابی.

ارزیابی اثر هیستوپاتولوژیک پروپولیس با غلظت ۲۰ میلی گرم همانند غلظت ۱۵ میلی گرم شباهت نزدیک به گروه Sc (اسکوپولامین) همراه با دژنراسیون نورونی متعدد و نکروز ناحیه هیپوکمپ را نشان داد (شکل ۲). در غلظت ۲۵ میلی گرم پروپولیس نیز نتایج مشابه با غلظت ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد.

جهت قالب‌گیری منتقل می‌گردد. در این هنگام پارافینیه جای زایلین به داخل بافت انتشار می‌یابد. ۶- قالب‌گیری: در این مرحله بافت آغشته شده به پارافین توسط یک قالب سخت احاطه می‌شود. سپس این مجموعه در دمای اتاق قرار داده و پارافین داخل آن منجمد می‌شود. ۷- میکروتومی: این کار توسط دستگاه میکروتوم صورت می‌گیرد. این دستگاه برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون فراهم می‌کند. ۸- رنگ آمیزی: رنگ آمیزی برش‌ها برای تمایز ساختمان داخلی بافت‌ها و اجزای سلولی جهت تشخیص، همچنین مطالعات خصوصیات فیزیکی و ارتباط بافت‌ها و اجزای سلولی لازم است. لام‌های تهیه شده طبق فرآیند فوق هر کدام جداگانه بررسی شدند و هرگونه تغییر سلولی در گروه‌های مختلف بررسی شد.

بررسی بیان IL-1β

در این مطالعه، RNA سلول‌های مغزی موش توسط محلول تریزول به روش دستی استخراج شد. پس از استخراج RNA سنتز cDNA توسط کیت BioFact انجام شد. برای تکثیر هر قطعه ژنتیک جفت پرایمر اختصاصی برای هر ژن نیاز است که شامل پرایمر مستقیم (Forward) و معکوس (Reverse) است. ژن β-Actin به عنوان ژن کنترل و نرمالیزه کردن میزان بیان ژن‌های هدف انتخاب شد. هر کدام از این پرایمرها توسط نرم افزار Master Runner V6.5 طراحی شدند. جهت آماده سازی نمونه‌ها Reaction Mix ساخته شد. ترکیب Reaction Mix به میکروتیوب‌های ۰/۲ انتقال داده شد و میکروتیوب‌ها کوتاه مدت spin شدند و آب دیونیزه و پرایمرها اضافه شد و سپس با دستگاه ریل تایم سنجش انجام شد.

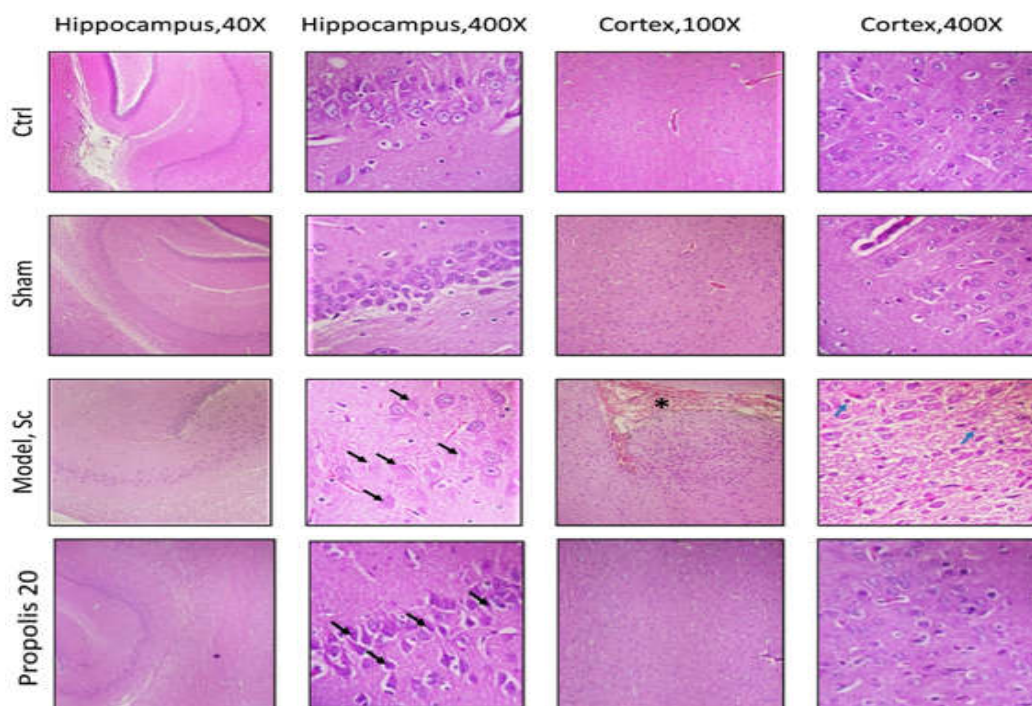
تحلیل آماری

نتایج به دست آمده حاصل از مقایسه در گروه‌های مورد مطالعه، با استفاده از آزمون آماری One way ANOVA با استفاده از نرم افزار Prism نسخه ۸ تحلیل شد.

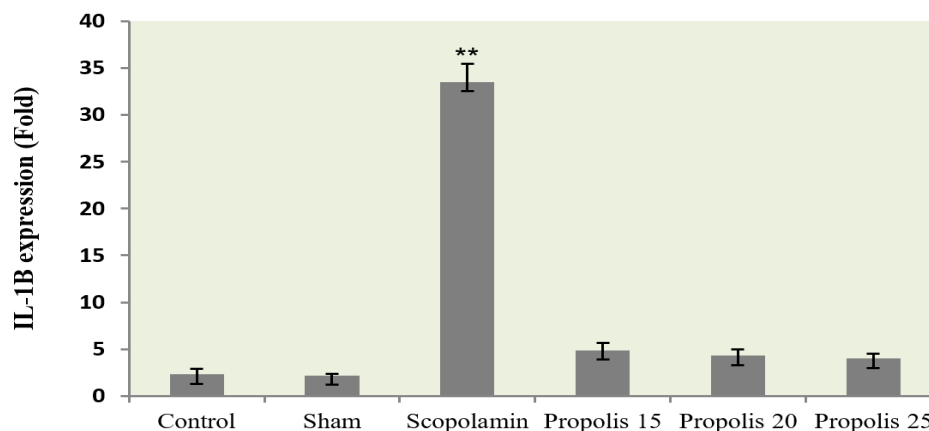
یافته‌ها

بررسی هیستوپاتولوژیک بافت مغز

هیچ تغییرات هیستوپاتولوژیک قابل توجهی در گروه کنترل و شم دیده نشد. در حالی که در بررسی هیستوپاتولوژیک و ارزیابی تغییرات سلولی هیپوکمپ در گروه اسکوپولامین (میتلا به آلزایمر)، علایم مرفولوژیک نکروز شامل تورم سیتوپلاسمی نورون‌ها، واکوئولاسیون متعدد و تعداد بیشماری سلول‌های تاریک و نکروتیک مشاهده شد. همچنین در کورتکس، پرخونی و خونریزی مننژال،



شکل ۲. بخش‌های هیستوپاتولوژی مغز در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (ctrl کنترل، Sham، Sc اسکوپولامین، اسکوپولامین و پروپولیس ۲۰ mg/kg). و رنگ آمیزی شده با روش هماتوکسیلینو انوزین؛ پیکان‌های باریک: عصب‌های پیرامیدال CA1. ستاره‌ها: هایپرمی و خون ریزی مننژ، پیکان‌های آبی: انفیلتراسیون سلول‌های التهابی.



شکل ۳. میزان تغییرات بیان ژن IL-1β (به دست آمده با روش Real time PCR) در سه غلظت پروپولیس ۱۵-۲۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به کمک تست One-Way-ANOVA در نرم افزار Prism تحلیل شد و مقادیر به دست آمده ($P < 0.05$) نشان دهنده معنی‌دار بودن نتایج از نظر آماری در مقایسه به گروه کنترل است.

فرایند التهابی افزایش یافته است. در حالی که نتایج گروه دریافت کننده پروپولیس با غلظت ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان داد که میزان بیان IL-1β در این گروه نسبت به گروه اسکوپولامین کاهش قابل توجهی دارد. در نتیجه می‌توان گفت که پروپولیس با کاهش میزان بیان IL-1β خاصیت ضد التهابی خود را القا می‌کند. همچنین،

بررسی میزان بیان ژن IL-1β

میزان بیان ژن IL-1β در گروه اسکوپولامین بسیار بیشتر از گروه کنترل و گروه شم بود و اختلاف معنی داری بین گروه اسکوپولامین با گروه های شم و کنترل وجود داشت ($p < 0.05$). این نتیجه نشان داد که میزان بیان این سایتوکاین تحت تاثیر آلزایمر القا شده در گروه سوم بر اثر

میزان بیان ژن IL-1 β بین گروه دریافت کننده پروپولیس اتانولی 15 میلی گرم بر کیلوگرم و گروه‌های شم و کنترل نیز بررسی شد و اختلاف معنی‌داری بین این گروه و گروه کنترل مشاهده نشد.

همچنین میزان بیان ژن IL-1 β بین گروه دریافت کننده پروپولیس اتانولی با غلظت 20 و 25 میلی گرم بر کیلوگرم نشان داد که غلظت بالاتر پروپولیس سبب کاهش میزان بیان IL-1 β شده است، اما تفاوت معنی‌داری میان سه غلظت مشاهده نشد (شکل 3).

بحث

پروپولیس به دلیل اینکه غنی از ترکیبات فنولی است دارای خاصیت حفاظت کننده سیستم عصبی است و از نورون‌ها در برابر استرس اکسیداتیو و التهاب محافظت می‌کند و همچنین دارای خاصیت ضد التهابی و آنتی اکسیدانی است. در مطالعه‌ای که در سال 2018 توسط Tiyo و همکارانش تحت عنوان "ترکیب دو داروی دونپزیل و پروپولیس نسبت به مونوتراپی این داروها موجب بهبود حافظه در *Drosophila melanogaster* می‌شود" انجام گرفت، مشاهده شد که تیمار مگس‌های دروزوفیل با ترکیب Propolis و Donepezil موجب بهبود حافظه طولانی مدت و کوتاه‌مدت می‌شود، به طوری که هریک از این داروها به تنهایی اثرات بهبودی خفیفی را نشان دادند (21). همچنین، در مطالعه Sadhana در سال 2017 که بر روی تاثیر پروپولیس هندی رویموش‌های مبتلا به آلزایمر انجام شده بود، در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک و رفتاری مشاهده شد که پروپولیس هندی سبب بهبود عملکرد رفتاری در مدل‌های موشی مبتلا به آلزایمر شده است. همچنین پروپولیس توانست به صورت وابسته به دوز سبب مهار آنزیم استیل کولین استراز و همچنین افزایش مونوآمینهای مغز در مقایسه با گروه کنترل شود (22). در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک و ارزیابی تغییرات سلول‌های بافت هیپوکمپ در این مطالعه، در گروه اسکوپولامین (مبتلا به آلزایمر)، علائم مورفولوژیکی مانند نکروز و تورم سیتوپلاسمی نورون‌ها، واکوئولاسیون متعدد و تعداد بیشمار سلول‌های تاریک و نکروتیک مشاهده شد. از طرف دیگر در کورتکس، پرخونی و خونریزی منژال، اینفیلتراسیون سلول‌های التهابی و دمیلیناسیون مشهود بود. بررسی هیستوپاتولوژیک بافت مغز گروه دریافت کننده پروپولیس اتانولی با غلظت 15 میلی گرم بر کیلوگرم همراه با دژنراسیون نورونی متعدد و

نکروز ناحیه هیپوکمپ مشابه گروه اسکوپولامین بود. در یافته‌های هیستوپاتولوژیک گروه پروپولیس اتانولی 15 میلی گرم آسیب‌های مشابهی با گروه اسکوپولامین (گروه مبتلا به آلزایمر) مشاهده شد و در غلظت‌های 20 و 25 میلی گرم بر کیلوگرم نیز آسیب‌های مشابهی وجود داشت. در مطالعه‌ای که در سال 2017 توسط Van صورت گرفت، فعالیت آستروسیت‌ها را که از مدل‌های موشی ترنسژنیک مبتلا به آلزایمر استخراج شده بود، بررسی کردند. در این مطالعه مشاهده شد که میزان بیان IL-1 β به عنوان یک سایتوکین التهابی در این سلول‌ها در مقایسه با سلول‌های سالم افزایش یافته است. همچنین تیمار سلول‌ها با ترکیب پانتتین که دارای خاصیت ضدالتهابی و محافظت کننده عصبی است توانسته بود الگوهای پاتولوژیک را در آنها کاهش دهد (23). نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از این بود که میزان بیان IL-1 β در گروه کنترل و گروه شم تفاوتی نداشته و نسبت به بیان ژن مرجع افزایش یا کاهشی را نشان نداده است. در حالی که میزان بیان IL-1 β در گروه آلزایمر نسبت به گروه کنترل و شم افزایش چشمگیری داشته است که این نتیجه مطالعات مذکور را در این زمینه تایید می‌کند که در بیماری آلزایمر به دلیل افزایش فرایند التهابی میزان بیان سایتوکین التهابی IL-1 β در مغز افزایش می‌یابد. میزان بیان IL-1 β در گروه‌هایی که دریافت کننده داروی پروپولیس اتانولی بودند به طور قابل توجهی کاهش یافته که نشان می‌دهد تحت تاثیر خاصیت ضدالتهابی پروپولیس میزان بیان سایتوکین التهابی در این گروه کاهش یافته است.

نتایج مولکولی این پژوهش هم‌راستا با نتایج مطالعات فوق است، به طوری که آلزایمر توانسته سبب القای افزایش سایتوکین التهابی IL-1 β شده و داروهای ضدالتهابی مانند پروپولیس می‌توانند بیان ژن این سایتوکین را به طور چشمگیری کاهش دهند. در نتیجه با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش و همچنین مطالعات پیشین، می‌توان گفت ترکیبات مختلفی به ویژه ترکیبات گیاهی و ارگانیک با طیف وسیعی از خواص و ویژگی‌های خود در حیطه درمان بسیاری از بیماری‌ها به ویژه بیماری‌های نورودژنراتیو و عصبی می‌توانند به کار گرفته شوند (24). پروپولیس نیز به عنوان یک ترکیب طبیعی خواص بیشماری دارد که از آن می‌توان به طور گسترده در حیطه درمان و پزشکی استفاده کرد. در مطالعه‌ای که به آن پرداخته شد نقش ضد التهابی پروپولیس و تاثیر آن بر سرکوب التهاب در بیماری آلزایمر از طریق کاهش سایتوکین التهابی و کاهش تغییرات سلولی، قابل توجهی و

بسیار واضح است. هرچند که مطالعات بیشتری در این زمینه
مورد نیاز است تا شاید بتوان در آینده‌ای نه چندان دور از این
ترکیب در کنار ترکیبات موثر دیگر به عنوان یک رژیم درمانی
مفید در بیماری آلزایمر بهره برد.

REFERENCES

- Rubio-Perez JM, Morillas-Ruiz JM. A review: inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines. *ScientificWorldJournal* 2012;2012:756357.
- Prince M, Albanese E, Guerchet M, Prina M. World Alzheimer Report 2014: dementia and risk reduction: an analysis of protective and modifiable factors. *Alzheimer's Disease International* 2014.
- Alzheimer's Association. 2015 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia: J Alzheimers Dis* 2015;11:332-84.
- Querfurth HW, LaFerla FM. Mechanisms of disease. *N Engl J Med* 2010; 362:329-44.
- Schmid AW, Lynch MA, Herron CE. The effects of IL-1 receptor antagonist on beta amyloid mediated depression of LTP in the rat CA1 in vivo. *Hippocampus* 2009; 19:670-76.
- Su F, Bai F, Zhang Z. Inflammatory cytokines and Alzheimer's disease: a review from the perspective of genetic polymorphisms. *Neurosci Bull* 2016; 32:469-80.
- Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM, et al. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2000; 21:383-421.
- Rao PP, Kabir SN, Mohamed T. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): progress in small molecule drug development. *Pharmaceuticals (Basel)* 2010;3:1530-49.
- Anand R, Gill KD, Mahdi AA. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology* 2014;76:27-50.
- Alzheimer's Association. 2014 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia: J Alzheimers Dis* 2014;10:e47-92.
- Auld DS, Kornecook TJ, Bastianetto S, Quirion R. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to β -amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. *Prog Neurobiol* 2002;68:209-45.
- Farlow MR, Miller ML, Pejovic V. Treatment options in Alzheimer's disease: maximizing benefit, managing expectations. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2008; 25:408-22.
- Simunkova M, Alwasel SH, Alhazza IM, Jomova K, Kollar V, Rusko M, et al. Management of oxidative stress and other pathologies in Alzheimer's disease. *Arch Toxicol* 2019; 22:1-23.
- Ha GT, Wong RK, Zhang Y. Huperzine A as potential treatment of Alzheimer's disease: an assessment on chemistry, pharmacology, and clinical studies. *Chem Biodivers* 2011;8:1189-204.
- Polinsky RJ. Clinical pharmacology of rivastigmine: a new-generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *Clin Ther* 1998;20:634-47.
- Bemanian MH, Farhoudi A, Pourpak Z, Gharagozlou M, Movahedi M, Nabavi M, et al. Systemic and local reactions of bee venom immunotherapy in Iran. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology (IJAAI)* 2007;6:203-6.
- Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, et al. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia* 2002;73:S53-63.
- Farooqui T, Farooqui AA. Beneficial effects of propolis on human health and neurological diseases. *Front Biosci (Elite Ed)* 2012;4:779-93.
- Lahouel M, B.K, Kebsa W, Alyane M. Polyphenolic fractions of Algerian propolis reverses doxorubicin induced acuterenal oxidative stress. *African J Pharm Pharmacology (AJPP)*. 2010; 4: 712-720.
- Lindner MD, Hogan JB, Hodges DB Jr, Orié AF, Chen P, Corsa JA, Leet JE, Gillman KW, Rose GM, Jones KM, Gribkoff VK. Donepezil primarily attenuates scopolamine-induced deficits in psychomotor function, with moderate effects on simple conditioning and attention, and small effects on working memory and spatial mapping. *Psychopharmacology (Berl)* 2006;188:629-40.
- Cardiff RD, Miller CH, Munn RJ. Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections. *Cold Spring Harb Protoc* 2014; 2: 655-8.
- Ayikobua ET, Semuyaba I, Eze DE, Kalange M, Nansunga M, Okpanachi AO, et al. Combined Donepezil and Ethanolic Extract of Propolis Improved Memory Better Than Donepezil and Propolis Monotherapy in Wild Type *Drosophila melanogaster*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine (eCAM)*. 2018;2018.

23. Nanaware S, Shelar M, Sinnathambi A, Mahadik KR, Lohidasan S. Neuroprotective effect of Indian propolis in β -amyloid induced memory deficit: impact on behavioral and biochemical parameters in rats. *Biomed Pharmacother* 2017;93:543-53.

24. van Gijssel-Bonnello M, Baranger K, Benech P, Rivera S, Khrestchatisky M, de Reggi M, et al. Metabolic changes and inflammation in cultured astrocytes from the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease: alleviation by pantethine. *PLoS One* 2017;12:e0175369.

Study on the effect of acetyl L-carnitine on cognitive and cellular disorders resulting from lipopolysaccharide-induced inflammation in male rats: emphasis on AKT / mTOR cell pathways and inflammation in the hippocampus

Nida Jamali-Raeufy¹, Motahareh Zeinivand², Fahimeh Alizadeh³, Soraya Mehrabi⁴

¹ Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

³ MSc, Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background: The brain in exposure to irritating factors may lead to production of some chemical factors and proinflammatory cytokines and neuroinflammation. Over time, the chronic neuroinflammation will cause some cognitive disorders and neurodegenerative diseases. The present study studied the effect of acetyl L - carnitine on cognitive and cellular disorders derived from lipopolysaccharide (LPS)- induced inflammation, with emphasis on cellular pathways in the hippocampus of male rat.

Materials and methods: In this study, we used LPS with dose of 500 µg/kg of animal's weight regarding to the previous studies. Acetyl L carnitine was prescribed with three doses of 30, 60 and 100 mg/kg among rats received LPS. Passive avoidance behavior was used to assess learning and memory, and biochemical and molecular methods were used for mTOR, p-AKT, and inflammatory factors.

Results: Acetyl L carnitine improved passive avoidance memory as well as working memory in a dose-dependent manner. It also prevented the death of hippocampal neurons by inhibiting neuroinflammation by reducing the expression of IL-6 and IL-1B and increasing the levels of mTOR and AKT-p.

Conclusion: The present study showed that acetyl L-carnitine can reduce the destructive effects of lipopolysaccharide, which appears to be through increased levels of mTOR and AKT.

Keywords: *Neuroinflammation, Lipopolysaccharide (LPS), Memory, Acetyl L carnitine.*

Cited as: Jamali-Raeufy N, Zeinivand M, Alizadeh F, Mehrabi S. Study on the effect of acetyl L-carnitine on cognitive and cellular disorders resulting from lipopolysaccharide-induced inflammation in male rats: emphasis on AKT / mTOR cell pathways and inflammation in the hippocampus. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): 397-405.

Correspondence to: Nida Jamali-Raeufy

Tel: +98 88622709-021

E-mail: jamali.n@iums.ac.ir

ORCID ID: 0000-0003-2416-0335

Received: 15 May 2021; **Accepted:** 5 Aug 2021

مطالعه اثر استیل ال کارنیتین بر اختلال شناختی و سلولی منتج از التهاب القا شده به وسیله لیپوپولی ساکارید در موش صحرایی نر: با تاکید بر مسیرهای سلولی AKT / mTOR و التهاب در هیپوکامپ

نیدا جمالی رئوفی^۱، مطهره زینی وند^۲، فهیمه علیزاده^۳، ثریا مهرابی^۴

^۱ دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
^۲ استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه
^۳ کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
^۴ استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

چکیده

سابقه و هدف: مغز در مواجهه با عوامل محرک باعث ایجاد تغییر در نورون‌ها و تولید عوامل شیمیایی و سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌شود و التهاب عصبی مزمن به بروز اختلالات شناختی و بیماری‌های نورودژنراتیو می‌انجامد. مطالعه حاضر به بررسی اثر استیل ال کارنیتین بر اختلالات شناختی و سلولی منتج از التهاب القا شده به وسیله لیپوپولی ساکارید (LPS) با تاکید بر مسیر mTOR در هیپوکامپ موش صحرایی نر پرداخت.

روش بررسی: در این مطالعه برای ایجاد مدل التهابی شناخت از LPS با دوز ۵۰۰ µg/kg حیوان و برای بررسی اثر استیل ال کارنیتین نیز از سه دوز ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ mg/kg در رت‌های دریافت کننده LPS استفاده شد. رفتار اجتنابی غیر فعال برای بررسی یادگیری و حافظه، روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی برای میزان mTOR و p-AKT و فاکتورهای التهابی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج مطالعه نشان داد که استیل ال کارنیتین در مدل التهابی ناشی از تزریق درون صفاقی LPS، به صورت وابسته به دوز موجب بهبود حافظه غیرفعال اجتنابی شد. همچنین با مهار التهاب نورونی از طریق کاهش بیان IL-6 و IL-1B و افزایش میزان mTOR و p-AKT توانست از مرگ نورون‌های هیپوکامپ جلوگیری کند.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که استیل ال کارنیتین می‌تواند موجب کاهش اثرات مخرب لیپوپولی ساکارید شود که به نظر می‌رسد از طریق افزایش میزان mTOR و AKT باشد.

واژگان کلیدی: التهاب عصبی، لیپوپولی ساکارید (LPS)، حافظه، استیل-ال-کارنیتین.

مقدمه

یکی از علایم برجسته بیماری‌های نورودژنراتیو مانند بیماری پارکینسون و بیماری آلزایمر، التهاب و فعال سازی میکروگلیا است (۱). بیماری‌های دژنراتیو و کشنده سیستم عصبی با

افزایش سن، تغییر در سبک زندگی، تغذیه، شرایط فیزیولوژیکی و محیطی همراه است. میکروگلیاها اصلی‌ترین سلول‌های ایمنی مغز در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک هستند که در التهاب عصبی فعال می‌شوند (۲). میکروگلیاها سلول‌های ایمنی ذاتی ساکن در بافت مغز هستند که می‌توانند در پاسخ به عوامل سیتوتوکسیک مانند فاکتور نکروز تومور آلفا (TNFα)، سوپراکسید و اکسید نیتریک فعال شوند. اگرچه فعال شدن میکروگلیا برای دفاع از میزبان مهم است، اما فعال

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، نیدا جمالی رئوفی (email: jamali.n@iums.ac.ir)
ORCID ID: 0000-0003-2416-0335
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۲/۲۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۴/۱۴

عصبی در نظر گرفته شود. در این مطالعه، ما برای ارزیابی اثرات محافظتی استیل ل کارنیتین در مدل التهاب القا شده به وسیله لیپو پلی ساکارید و کشف مکانیسم‌های احتمالی آن برای اعمال این حفاظت پرداختیم.

مواد و روشها

جهت انجام این تحقیق از ۵۶ سر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۳۰ گرم استفاده شد. حیوانات از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه شدند و با کد اخلاق IR.IUMS.FMD.REC 1395.29779 این کار تایید شد. در این مطالعه حیوانات در شرایط کنترل شده از نظر نور و دما با دسترسی کافی به آب و غذا نگهداری می‌شدند. همه آزمایشات مطالعه بر اساس قوانین و دستورالعمل‌های توصیه شده توسط انستیتوی ملی بهداشت آمریکا (NIH) انجام شد.

موش‌ها به طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند (n=۸ حیوان در هر گروه):

۱- گروه کنترل: در این گروه موش‌های سالم مورد بررسی قرار گرفتند.

۲- گروه کنترل دریافت کننده Acetyl-L-carnitine: در این گروه Acetyl-L-carnitine با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به مدت شش روز به موش‌های سالم تزریق شد.

۴- گروه لیپو پلی ساکارید: در این گروه برای ایجاد التهاب، لیپو پلی ساکارید به میزان ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم به فرم داخل صفاقی یک بار به حیوانات تزریق شد.

۵- گروه لیپو پلی ساکارید دریافت کننده Acetyl-L-carnitine: در این گروه Acetyl-L-carnitine با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به مدت شش روز بعد از تزریق لیپو پلی ساکارید تزریق شد.

۶- گروه لیپو پلی ساکارید دریافت کننده Acetyl-L-carnitine: در این گروه Acetyl-L-carnitine با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به مدت شش روز بعد از تزریق لیپو پلی ساکارید تزریق شد.

۷- گروه لیپو پلی ساکارید دریافت کننده Acetyl-L-carnitine: در این گروه Acetyl-L-carnitine با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به مدت شش روز بعد از تزریق لیپو پلی ساکارید تزریق شد.

۸- گروه لیپو پلی ساکارید دریافت کننده دگزامتازون (به عنوان کنترل مثبت): دگزامتازون به میزان ۱۰۰ میکروگرم به ازای

شدن بیش از حد میکروگلیا سمیت عصبی دارد (۳) و التهاب عصبی ایجاد می‌کند. لیپوپلی ساکارید (LPS) نوعی اندوتوکسین از باکتریهای گرم منفی است. همچنین لیپو پلی ساکارید آندوتوکسین پایدار و قوی است که قادر است آسیب سلول‌های عصبی دوپامینرژیک را فقط در حضور میکروگلیال افزایش دهد.

LPS یکی از عواملی است که باعث القای التهاب می‌شود. التهاب القا شده توسط LPS موجب تجمع پروتئین‌های یوبیکوئیتینه شده می‌شود که با مهار پروتئازوم‌ها موجب القای تخریب نورونی می‌شود (۴). در مدل Neuroinflammation القا شده توسط LPS، میکروگلیاها فعال شده و موجب مقاومت در مقابل آسیب نورونی می‌شوند که برابند آن تغییر (Long term potential:LTP) و اختلال عملکرد شناختی خواهد بود (۵). بنابراین التهاب عصبی وابسته به سنتز و ترشح مولکولهای نورواکتیو، به خصوص مولکول‌های تولید شده از سلول‌های گلیال فعال شده شامل سایتوکاین‌ها TNF- α و IL- β ، رادیکال‌های آزاد واکنشی اکسیژن و نیتروژن، آمینواسیدهای تحریکی و پروتئازها است (۶). اتوفازای موجب تجمع چندین مسیر سیگنالینگ جهت تنظیم رشد سلولی، تکثیر سلولی، حرکت سلولی و بقای سلولی می‌شود که از آن جمله می‌توان AMP Kinase (AMPK)، Serine/Threonine

Target of rapamycin kinase – mammalian و protein (mTOR) را نام برد (۷). استیل ال کارنیتین (ALC) یک پپتید محلول در آب است که در میتوکندری یافت می‌شود. این آندوژن فرم استیل شده کارنیتین است که به طور طبیعی در بدن تولید می‌شود. گاهی به عنوان مکمل غذایی استفاده می‌شود. ALC باعث تحریک سوخت و ساز بدن توسط میتوکندری‌ها، تثبیت غشای میتوکندری و افزایش عرضه انرژی به سایر اندامک‌ها می‌شود (۸). در صدمات حاد طناب نخاعی که در نتیجه اختلال در فعالیت میتوکندری و التهاب عصبی و همچنین تشکیل سایتوکاین‌های التهابی، گلوتامات و پروکسی نیتريت و رادیکال‌های سوپراکسید در بافت آسیب دیده تولید می‌شود (۹). مشخص شده است که درمان فوری با آنتی اکسیدان‌های ALC و NAC، باعث کاهش التهاب عصبی، افزایش جوانه زدن آکسون‌ها، کاهش بیان پروتئین BAX (پروتئین پیش آپوپتوز) و کاهش آپوپتوز، کاهش فعالیت میکروگلیاها، کاهش مرگ زودرس نورون‌های حرکتی و به تاخیر افتادن تحلیل نورون‌های حسی و مهار ROS می‌شود (۱۰). بنابراین با توجه به مطالعات فوق، استیل ال کارنیتین می‌تواند به عنوان کاندید مناسبی برای درمان التهاب

کیلوگرم وزن به صورت داخل صفاقی به مدت شش روز تزریق شد.

تست رفتاری

بررسی رفتار اجتنابی غیر فعال با استفاده از Shuttle Box

برای بررسی رفتار اجتنابی غیر فعال، از یک دستگاه با ابعاد ۲۰×۸۰×۲۰ سانتی متر (شامل باکس) دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک استفاده شد. میله‌های فلزی موجود در کف محفظه تاریک برای شوک دادن به پای حیوان به کار گرفته شدند. برای اعمال تحریک از یک دستگاه استیمولاتور استفاده شد که تک تحریکی با شدت ۱ میلی آمپر و به مدت ۱ ثانیه اعمال می‌کرد. در این مطالعه روش بررسی رفتار اجتنابی غیر فعال به شرح زیر بود:

الف) سازش: در این مرحله، قبل از آغاز آزمایش، هر حیوان برای دو روز متوالی و دست کم به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار داده شد.

ب) اکتساب: در این مرحله (روز سوم)، حیوان در محفظه روشن قرار داده می‌شد، درب گیوتینی (ارتباط دهنده محفظه روشن و تاریک) باز می‌شد، به محض باز کردن در کورنومتر به کار انداخته می‌شد و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود، یادداشت می‌شد که مدت زمان این تاخیر اولیه، به عنوان تاخیر اولیه یا IL نامیده می‌شود. بعد از آن در گیوتینی پایین آورده می‌شد و یک تک شوک به حیوان وارد می‌آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه حیوان به قفس منتقل می‌شد. در این مرحله موش‌های دارای تاخیر اولیه بیشتر از ۶۰ ثانیه از آزمایش حذف شدند.

ج) نگهداری اطلاعات: این مرحله ۲۴ ساعت پس از مرحله دوم در روز چهارم انجام شد. این مرحله مشابه مرحله پیشین بود با این تفاوت که وقتی حیوان به محفظه تاریک وارد می‌شد، هیچ گونه شوکی دریافت نمی‌کرد؛ در این مرحله تاخیر در حین عبور یا STL (مدت زمانی که طول می‌کشد که حیوان وارد محفظه تاریک شود) اندازه‌گیری شد. زمان قطع آزمایش (Cut off) نیز ۳۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

تهیه هموزن بافتی

پس از اتمام مطالعات رفتاری، موش‌ها را با کتامین و زایلازین بیهوش، سر آنها را با گیوتین جدا کرده و مغزشان را از حفره جمجمه خارج کردیم و بر روی یخ منجمد قرار دادیم تا هنگام آزمایشات اصلی به فریزر ۸۰- درجه منتقل کرد. برای تهیه بافت هموزن، پس از جداسازی هیپوکمپ، آن را وزن کرده و ۱۰ برابر وزن آن محلول بافر فسفات (PBS) به آن اضافه کرده و با استفاده از دستگاه هموزنایزر (۵۰۰۰ دور در دقیقه) بر روی یخ

هموزنیزه کردیم. پس از سانتریفیوژ کردن محلول هموزنیزه شده، محلول رویه که شفاف‌تر بود را جدا کرده و برای سنجش فاکتورهای مورد نظر مورد استفاده قرار دادیم. بخش رسوب کرده زیرین دور ریخته شد.

ارزیابی فاکتور التهابی (IL-6, IL-1B)، MTOR و P-AKT با استفاده از کیت الایزا

IL-6, IL-1B, MTOR و P-AKT با استفاده از روش‌های ایمون جذب متصل به آنزیم (ELISA) در منطقه هیپوکامپ طبق دستورالعمل سازنده تعیین شد (Ulm ZellBio GmbH، آلمان). به طور خلاصه، نمونه‌ها و استانداردها به داخل چاه‌هایی که از قبل با آنتی بادی‌های مخصوص IL-6, IL-1B و MTOR و P-AKT و مارک‌های اتوفاژی پوشش داده شده‌اند، پیپت داده شدند. سپس، چاه‌ها شسته و آنتی بادی‌های متصل به آنزیم مخصوص IL-1B, IL-6, نشانگرهای MTOR و P-AKT به چاه‌ها اضافه شدند. سپس، سه بار چاه‌ها شسته شدند. پس از آخرین شستشو، اسپیراسیون برای از بین بردن باقی مانده بافر شستشو انجام شد. صفحه در مقابل حوله های کاغذی تمیز و هر آنزیم آنتی بادی غیرمستقیم معکوس شد. معرف حذف شد. سرانجام، یک محلول سوپسترا شامل حجم مساوی معرف A و B به چاه‌ها اضافه شد و محلول با استفاده از دستگاه ریزپلاک با سرعت ۴۵۰ نانومتر خوانده شد.

تحلیل آماری

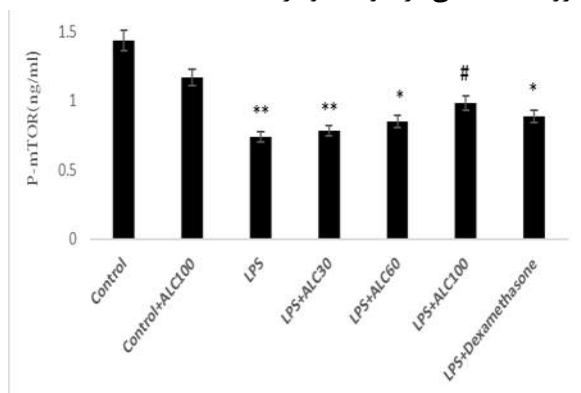
تمام داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان می‌شوند. تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار آماري GraphPad Prism-5 انجام شد. تحلیل داده‌ها با ANOVA یک طرفه انجام شد و به دنبال آن آزمون توکی برای مقایسه تفاوت بین سه یا چند گروه انجام شد.

یافته‌ها

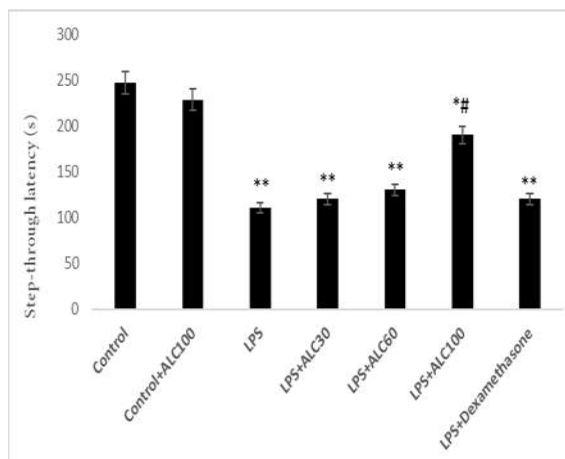
اثرات استیل-ال-کارنیتین بر میزان حافظه و یادگیری

در مورد نتایج حاصل از آزمون اجتنابی غیر فعال، کاهش قابل توجهی در STL در موش‌های گروه LPS در مقایسه با گروه کنترل و کنترل + دگزاتازون مشاهده شد. درمان با بالاترین غلظت استیل-ال-کارنیتین (ALC-100) به طور معنی‌داری STL را در مقایسه با گروه LPS افزایش داد، در حالی که سایر دوزهای استیل-ال-کارنیتین (ALC30, ALC60) و دگزاتازون نتوانستند این اثر را اعمال کنند (نمودار ۱).

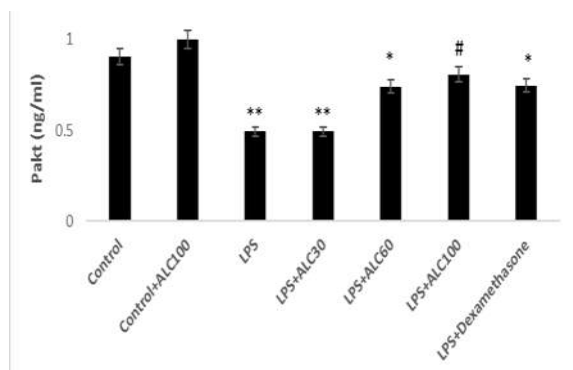
افزایش میزان p AKT شدند، اما این افزایش در مقایسه با گروه LPS معنی دار نبود (نمودار ۳).



نمودار ۲. مقایسه میانگین فعالیت پروتئین p- m TOR بین گروه‌های مختلف. نتایج بر اساس Mean \pm SEM گزارش شده‌اند. * $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل، # $P < 0.05$ در مقایسه با گروه LPS



نمودار ۱. مقایسه میانگین تاخیر در حین عبور (STL) در گروه‌های مختلف مطالعه. نتایج بر اساس Mean \pm SEM گزارش شده‌اند. * $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل، # $P < 0.05$ در مقایسه با گروه LPS



نمودار ۳. مقایسه میانگین فعالیت مسیر سیگنالینگ p AKT بین گروه‌های مختلف مطالعه. نتایج بر اساس Mean \pm SEM گزارش شده‌اند. * $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل، # $P < 0.05$ در مقایسه با گروه LPS

بررسی میزان IL-6 در بافت هیپوکمپ

به منظور تأیید بیشتر اثر محافظتی استیل-ال-کارنیتین در التهاب عصبی ناشی از LPS، بیان IL-6 در گروه‌های مختلف آزمایشی بررسی شد. LPS به طور قابل توجهی بیان IL-6 را در بافت مغز موش افزایش داد. پس از درمان با کمترین دوز آزمایش شده استیل-ال-کارنیتین (ALC 30) بیان IL-6 حیوانات مورد مطالعه را در مقایسه با گروه LPS تغییر نداد. اگرچه دوز آزمایش شده میانی استیل-ال-کارنیتین (ALC-60) به طور قابل توجهی بیان IL-6 را کاهش داد، بالاترین دوز آزمایش شده از استیل-ال-کارنیتین (ALC-100) بیشترین تأثیر را در کاهش بیان IL-6 اعمال کرد. بین بالاترین دوز آزمایش شده از استیل-ال-

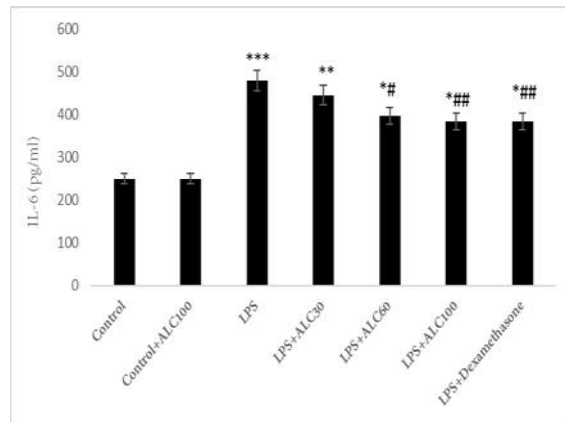
اثرات استیل-ال-کارنیتین بر میزان m TOR

برای بررسی اثرات استیل-ال-کارنیتین روی مسیر سیگنالینگ عصبی ایجاد شده توسط LPS، میزان m TOR بافت هیپوکمپ اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که میزان m TOR پس از تجویز داخل صفاقی یک دوز واحد LPS به مدت ۶ روز در مقایسه با گروه کنترل و کنترل + دگزامتازون کاهش قابل توجهی دارد. میزان m TOR پس از درمان با دوز بالای استیل-ال-کارنیتین (ALC-100) در مقایسه با گروه LPS به طور معنی داری افزایش یافت. اگرچه کمترین دوز و دوز متوسط استیل-ال-کارنیتین (ALC-60) باعث افزایش میزان m TOR شدند اما این افزایش در مقایسه با گروه LPS معنی دار نبود (نمودار ۲).

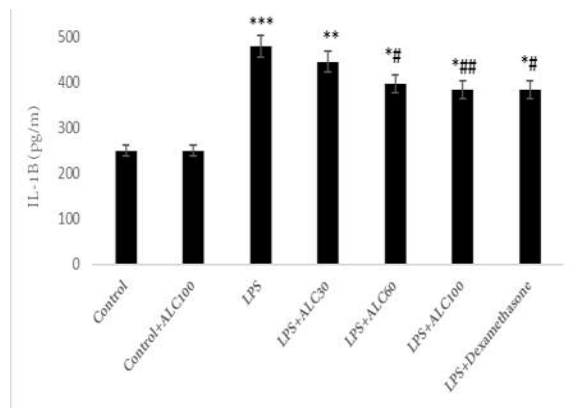
بررسی اثرات استیل-ال-کارنیتین بر میزان p AKT

بافت هیپوکمپ برای بررسی اثرات استیل-ال-کارنیتین روی مسیر سیگنالینگ عصبی ایجاد شده توسط LPS، میزان p AKT بافت هیپوکمپ اندازه گیری شد. میزان p AKT پس از تجویز داخل صفاقی یک دوز واحد LPS به مدت ۶ روز در مقایسه با گروه کنترل و کنترل + دگزامتازون کاهش قابل توجهی را نشان داد. میزان p AKT پس از درمان با دوز بالای استیل-ال-کارنیتین (ALC-100) در مقایسه با گروه LPS به طور معنی داری افزایش یافت. اگرچه کمترین دوز و دوز متوسط استیل-ال-کارنیتین (ALC-60) باعث

کارنیتین (ALC-100) و گروه دگزامتازون تفاوت معنی داری وجود نداشت (نمودار ۴).



نمودار ۴. مقایسه میانگین IL-6 بین گروه‌های مورد مطالعه. نتایج بر اساس Mean ± SEM گزارش شده‌اند. * $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل، # $P < 0.05$ و ## $P < 0.01$ در مقایسه با گروه LPS



نمودار ۵. مقایسه میانگین IL-1B بین گروه‌های مورد مطالعه میزان IL-1B در گروه‌های مورد مطالعه. * $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل، # $P < 0.05$ و ## $P < 0.01$ در مقایسه با گروه LPS

بررسی میزان IL-1B در بافت هیپوکامپ

به منظور تأیید بیشتر اثر محافظتی استیل-ال-کارنیتین در التهاب عصبی ناشی از LPS، بیان IL-1B در گروه‌های مختلف آزمایشی بررسی شد. LPS به طور قابل توجهی بیان IL-1B را در بافت مغز موش افزایش داد. پس از درمان با کمترین دوز آزمایش شده استیل-ال-کارنیتین (ALC-30) بیان IL-1B حیوانات مورد مطالعه را در مقایسه با گروه LPS تغییر نداد. اگرچه دوز آزمایش شده میانی استیل-ال-کارنیتین (ALC-60) به طور قابل توجهی بیان

IL-1B را کاهش داد، بالاترین دوز آزمایش شده از استیل-ال-کارنیتین (ALC-100) بیشترین تأثیر را در کاهش بیان IL-1B اعمال کرد. بین بالاترین دوز آزمایش شده از استیل-ال-کارنیتین (ALC-100) و گروه دگزامتازون تفاوت معنی داری وجود نداشت (نمودار ۵).

بحث

نتایج ما در این تحقیق نشان داد که استیل ال کارنیتین به صورت وابسته به دوز منجر به از بین بردن اثرات مخرب ناشی از تزریق LPS به عنوان ماده تولید کننده التهاب عصبی و از بین برنده حافظه و یادگیری در رت از طریق مهار عوامل ایجاد کننده التهاب عصبی و همچنین بهبود فاکتورهای التهابی در رت‌های دریافت کننده استیل ال کارنیتین می‌شود.

تخریب حافظه با القای LPS به عنوان یک ابزار تحقیقاتی مناسب برای توضیح مکانیسم پاتولوژی بسیاری از اختلالات نورودژنراتیو مانند آلزایمر (۱۱)، پارکینسون (۱۲)، MS (۱۳) و غیره همراه با تغییرات رفتاری مرتبط در بسیاری از تحقیقات مورد استفاده قرار گرفته است. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که تزریق LPS به داخل مغز منجر به التهاب نواحی مختلف مغزی از جمله نواحی مانند هیپوکامپ که با حافظه و یادگیری در ارتباطند، می‌شود و در نتیجه سبب از دست رفتن حافظه می‌شود (۱۴). در این مطالعه ما از آزمون‌های رفتاری رفتار اجتنابی غیر فعال استفاده کردیم. در تمام آزمون‌های رفتاری نشان دادیم که استفاده از LPS منجر به از بین رفتن حافظه در موش‌هایی شد که آن ماده را دریافت کردند. این اثر در بسیاری از تحقیقات انجام شده در این زمینه نیز مورد تأیید است، به عنوان مثال Anaigoudari و همکارانش در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که استفاده از LPS با دوز ۱ mg/kg باعث کاهش تأخیر در ورود رت‌ها به اتاق تاریک می‌شود (۱۵). نتایج مشابهی نیز در استفاده از LPS مشاهده شده است، به طوری Sun و همکارانش در سال ۲۰۱۵ با تزریق ۵۰۰ ug/kg به صورت درون صفاقی در رت‌های نژاد Sprugo duoly نشان دادند که تجویز LPS منجر به اختلال شناختی معنی‌داری نسبت به رت‌های کنترل می‌شود (۱۶، ۱۷).

در این گزارش نشان دادیم که استیل ال کارنیتین می‌تواند اختلال در به خاطر سپاری و به خاطر آوری را در موش‌هایی که LPS دریافت کرده‌اند را بهبود بخشد. نتایج ما در این مطالعه نشان داد که تجویز استیل ال کارنیتین با دوزهای ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم می‌تواند باعث افزایش تأخیر

هانتیگتون و ALS هستند که التهاب در پیشرفت این بیماری‌ها نقش مهمی ایفاء می‌کند (۲۳). بر اساس مطالعات انجام شده مشخص شده است که اتوفازی ممکن است فعالیت میکروگلیاها را نیز تحت تاثیر قرار دهد (۲۴). فعالیت میکروگلیاها در اثر ورود محرک‌های آندوژن یا اگزوژن نقش کلیدی را در بیماری‌های نورودژنراتیو ایفاء می‌کند. تحت تاثیر LPS فعالیت اتوفازی به واسطه فعال شدن Beclin-1, ILC3 ممکن است با تغییر مسیر سیگنالینگ mTOR و یا مستقل از آن صورت بگیرد که این مسئله ممکن است مربوط به بافت و محل تهیه نمونه از آن، نوع بیماری (۲۷-۲۵)، زمان تزریق LPS و سپس اندازه گیری بیان این پروتئین‌ها در نمونه بافتی تهیه شده، و یا در ارتباط با سایر مسیرهای اتوفازی مانند Tyrosine Kinase (RTK)/Phosphoinositide 3-(kinase/Phosphoinositide-dependent kinase-1 (PDK1 باشد. همان گونه که François و همکارانش در مطالعه‌ای بر روی موش سوری نشان دادند، تزریق LPS در زمان‌های مختلف می‌تواند مستقل از مسیر mTOR فاکتورهای التهابی را در کورتکس مغز و هیپوکامپ تغییر دهد (۲۸).

التهاب عصبی عمدتاً از طریق فعالیت استروسیت‌ها و میکروگلیاها ایجاد شده (۲۹) و باعث تکثیر میکروگلیاهای فعال شده در برخی از نقاط مغز شده و همچنین باعث افزایش نسخه برداری فاکتورهایی مانند NFκB و افزایش ایجاد سیتوکاین‌های سیتوتوکسیک مانند IL-6 و اینترلوکین B۱ می‌شود. حذف رادیکال‌های آزاد و کلات شدن آهن می‌تواند از فعالیت لیبوپولی ساکارید و آهن آزاد القاء کننده NFκB جلوگیری کند. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که تزریق LPS منجر به افزایش سایتوکین‌های پیش التهابی و یا واسطه‌های آن مانند TNF-α, IL-1B, TLR4, IL-6 از سلول‌های گلیا شود (۳۰, ۳۰). از دست رفتن حافظه یکی از مهم‌ترین علائم بیماری‌های نورودژنراتیو همچون بیماری آلزایمر و برخی دیگر از بیماری‌های مرتبط با التهاب مغزی مانند پارکینسون است (۳۱, ۳۲). از آنجایی که کاهش mTOR، فرایندهای حافظه وابسته به هیپوکامپ را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳۳)، تضعیف بخش یادگیری و حافظه در مطالعات ما نیز ممکن است به دلیل کاهش بیان mTOR, PAKT باشد. یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که LPS به طور موثری باعث افزایش سطح IL-1B, TNF-α و IL-6 و mTOR در ناحیه هیپوکامپ رت‌ها می‌شود که بیانگر آسیب جدی نورون‌های این ناحیه پس از تزریق LPS است. این نتایج در استفاده از LPS مشابه

در ورود حیوان اتاق تاریک در آزمون رفتاری اجتنابی غیرفعال شود، با این حال استفاده از دوز ۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم به طور معنی‌داری این تاخیر را افزایش داده و نشان دهنده اثر استیل ال کارنیتین به صورت وابسته به دوز است (۱۸, ۱۹). همچنین مطالعات نشان دادند که استفاده از دوز ۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم بهترین پاسخ را در مقایسه با دو دوز دیگر استیل ال کارنیتین دارد. zarezadeh و همکارانش در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که گارلیک فعال می‌تواند موجب بهبود حافظه در استفاده از آزمون‌های رفتاری مشابه با پژوهش ما باشد. می‌توان گفت که استیل ال کارنیتین با تعدیل پلاستیسیته سیناپسی و متاپلاستیسیته منجر به تعدیل اثر LPS می‌شود. اثرات مثبت استیل ال کارنیتین به دلیل اثرات مثبت آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و خواص تغییر استیل کولین استرازی آن است (۲۰). بر اساس یافته‌های مطالعات دیگران می‌توان نتیجه گرفت که تعدیل مسیرهای مختلف سلولی به ویژه مسیرهای سیگنالینگ التهابی توسط عوامل دارویی را می‌توان به عنوان روش معتبری برای درمان بیماری‌ها در نظر گرفت و آن را مورد مطالعه و بررسی قرار داد.

گزارش شده که mTOR نقش پیچیده‌ای را در شروع، ادامه و خاتمه اتوفازی بازی می‌کند. از طرفی اتوفازی می‌تواند وابسته به mTOR و یا مستقل از آن صورت گیرد. از سوی دیگر mTOR نقش ضروری در تنظیم رشد و تکثیر سلول، طول عمر، عملکردهای نورونی، پلاستیسیته سیناپسی و شکل گیری حافظه دارد؛ چنان چه در مطالعه‌ای مروری که در سال ۲۰۱۹ توسط Zhou و همکارانش صورت گرفت، نقش سیگنالینگ mTOR و اتوفازی در درمان بیماری پارکینسون بررسی شد (۲۱). از آنجایی که سیگنالینگ mTOR تنظیم کلیدی در سنتز پروتئین، تکثیر سلولی و بقاء آن دارد و مهار mTOR منجر به دژنراسیون پیشرفته نورونی می‌شود، لازم است فعالیت سیگنالینگ mTOR برای نقش حفاظتی آن در نورون دوباره بازگردد (۲۲). در مطالعه ما استفاده از استیل ال کارنیتین باعث افزایش میزان بیان mTOR و Akt شد که ممکن است از طریق مکانیسمی مشابه سبب فعال شدن سیگنالینگ mTOR و پروتئین‌های مربوط به مسیر سیگنالینگ آن در نورون‌های هیپوکامپ گشته و باعث حفاظت نورونی یا رژنراسیون آنها شده باشد. البته تعیین مکانیسم دقیق آن نیاز به مطالعه بیشتری دارد. از نگاهی دیگر مطالعات نشان می‌دهند که تغییرات اتوفازی و التهاب عصبی دو نشانه رایج بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر، پارکینسون،

کیلوگرم می‌تواند موجب کاهش بیان $\text{NF-}\kappa\text{B}$ ، $\text{TNF-}\alpha$ و IL-6 در نورون‌های دوپامینرژیک در رت‌های مدل پارکینسون ۶-HDO شود و بدین ترتیب به عنوان یک عامل محافظت کننده نورونی عمل کند (۳۱). یافته‌های این مطالعه نشان داد که استیل ال کارنیتین به صورت وابسته به دوز و با دوز موثر ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن حیوان در مدل التهاب ناشی از تزریق درون صفاقی لیپوپلی ساکارید (LPS)، موجب بهبود حافظه فضایی و حافظه غیرفعال اجتنابی و همچنین حافظه کاری می‌شود. استیل ال کارنیتین از طریق مهار التهاب نورونی با کاهش بیان IL-6 و IL-1B و افزایش بیان فاکتورهای اتوفازی mTOR و AKT می‌تواند از مرگ نورن‌های هیپوکامپ جلوگیری کند. با توجه به یافته‌های به دست آمده می‌توان گفت که استیل ال کارنیتین می‌تواند یک ترکیب پیشگیری کننده از بیماری‌های التهاب نورونی باشد.

نتایج سایر محققین در استفاده از آن به عنوان یک ماده ایجاد کننده التهاب عصبی است (۲۰، ۳۴). نتایج ما نشان داد که استفاده از استیل ال کارنیتین با دوزهای ۱۰۰ و ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم برای IL-6، mTOR و PAKT سبب تغییر معنی داری در بیان آنها می‌شود. به نظر می‌رسد که استیل ال کارنیتین با مهار خاصیت نوروتوکسیکی LPS مانع از بیان این فاکتورهای التهابی می‌شود. در تائید یافته‌های ما Ahmed و همکارانش در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که استیل ال کارنیتین (با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم / کیلوگرم) می‌تواند موجب کاهش بیان IL-6، IL-1B در موش‌های مدل آلزایمری با AIC3 شود (۳۵). Blanca و همکارانش در سال ۲۰۱۶ اثر کارنیتین و ال کارنیتین را بر کاهش اثر LPS در نسخه برداری فاکتور $\text{NF}\kappa\text{B}$ نشان دادند (۳۶). همچنین در مطالعه‌ای دیگر Afshin Majd و همکارانش در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که استیل ال کارنیتین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم /

REFERENCES

1. Ransohoff RM. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science* 2016;353:777-83.
2. Gavilán MP, Revilla E, Pintado C, Castaño A, Vizuete ML, Moreno González I, et al. Molecular and cellular characterization of the age-related neuroinflammatory processes occurring in normal rat hippocampus: potential relation with the loss of somatostatin GABAergic neurons. *J Neurochem* 2007;103:984-96.
3. Poustchi F, Amani H, Ahmadian Z, Niknezhad SV, Mehrabi S, Santos HA, et al. Combination therapy of killing diseases by injectable hydrogels: from concept to medical applications. *Adv Healthc Mater* 2021;10:2001571.
4. Pintado C, Gavilán MP, Gavilán E, García-Cuervo L, Gutiérrez A, Vitorica J, et al. Lipopolysaccharide-induced neuroinflammation leads to the accumulation of ubiquitinated proteins and increases susceptibility to neurodegeneration induced by proteasome inhibition in rat hippocampus. *J neuroinflammation* 2012;9:1-10.
5. Cunningham C. Microglia and neurodegeneration: the role of systemic inflammation. *Glia* 2013;61:71-90.
6. Gahtan E, Overmier JB. Inflammatory pathogenesis in Alzheimer's disease: biological mechanisms and cognitive sequeli. *Neurosci Biobehav Rev* 1999;23:615-33.
7. Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan K-L. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol* 2011;13:132-41.
8. Pillich RT, Scarsella G, Risuleo G. Reduction of apoptosis through the mitochondrial pathway by the administration of acetyl-L-carnitine to mouse fibroblasts in culture. *Exp Cell Res* 2005;306:1-8.
9. Hall ED. Antioxidant therapies for acute spinal cord injury. *Neurotherapeutics* 2011;8:152-67.
10. Karalija A, Novikova LN, Kingham PJ, Wiberg M, Novikov LN. The effects of N-acetyl-cysteine and acetyl-L-carnitine on neural survival, neuroinflammation and regeneration following spinal cord injury. *Neuroscience* 2014; 269:143-51.
11. Bagyinszky E, Van Giau V, Shim K, Suk K, An SSA, Kim S. Role of inflammatory molecules in the Alzheimer's disease progression and diagnosis. *J Neurol Sci* 2017;376:242-54.
12. Rocha EM, De Miranda B, Sanders LH. Alpha-synuclein: pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2018;109:249-57.
13. Koudriavtseva T, Mainero C. Neuroinflammation, neurodegeneration and regeneration in multiple sclerosis: intercorrelated manifestations of the immune response. *Neural Regen Res* 2016;11:1727.
14. Hsing C-H, Hung S-K, Chen Y-C, Wei T-S, Sun D-P, Wang J-J, et al. Histone deacetylase inhibitor trichostatin a ameliorated endotoxin-induced neuroinflammation and cognitive dysfunction. *Mediat Inflamm* 2015;2015:163140.
15. Anaeigoudari A, Soukhtanloo M, Reisi P, Beheshti F, Hosseini M. Inducible nitric oxide inhibitor aminoguanidine, ameliorates deleterious effects of lipopolysaccharide on memory and long term potentiation in rat. *Life Sci* 2016;158:22-30.

16. Song X, Zhou B, Zhang P, Lei D, Wang Y, Yao G, et al. Protective effect of silibinin on learning and memory impairment in LPS-treated rats via ROS–BDNF–TrkB pathway. *Neurochem Res* 2016;41:1662-72.
17. Sun J, Zhang S, Zhang X, Zhang X, Dong H, Qian Y. IL-17A is implicated in lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and cognitive impairment in aged rats via microglial activation. *J Neuroinflammation* 2015;12:1-12
18. Khalili M, Alavi M, Esmail-Jamaat E, Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Trigonelline mitigates lipopolysaccharide-induced learning and memory impairment in the rat due to its anti-oxidative and anti-inflammatory effect. *Int Immunopharmacol* 2018;61:355-62.
19. Czerniawski J, Miyashita T, Lewandowski G, Guzowski JF. Systemic lipopolysaccharide administration impairs retrieval of context–object discrimination, but not spatial, memory: evidence for selective disruption of specific hippocampus-dependent memory functions during acute neuroinflammation. *Brain Behav Immun* 2015;44:159-66.
20. Zarezadeh M, Baluchnejadmojarad T, Kiasalari Z, Afshin-Majd S, Roghani M. Garlic active constituent s-allyl cysteine protects against lipopolysaccharide-induced cognitive deficits in the rat: possible involved mechanisms. *Eur J Pharmacol* 2017;795:13-21.
21. Zhu Z, Yang C, Iyaswamy A, Krishnamoorthi S, Sreenivasmurthy SG, Liu J, et al. Balancing mtor signaling and autophagy in the treatment of parkinson's disease. *Int J Mol Sci* 2019;20:728.
22. Domanskyi A, Geißler C, Vinnikov IA, Alter H, Schober A, Vogt MA, et al. Pten ablation in adult dopaminergic neurons is neuroprotective in Parkinson's disease models. *FASEB J* 2011;25:2898-910.
23. Tan C-C, Yu J-T, Tan M-S, Jiang T, Zhu X-C, Tan L. Autophagy in aging and neurodegenerative diseases: implications for pathogenesis and therapy. *Neurobiol Aging* 2014;35:941-57.
24. Su P, Zhang J, Wang D, Zhao F, Cao Z, Aschner M, et al. The role of autophagy in modulation of neuroinflammation in microglia. *Neuroscience* 2016;319:155-67.
25. Zhang S, Xue Z-F, Huang L-P, Fang R-M, He Y-P, Li L, et al. Dynamic expressions of Beclin 1 and tyrosine hydroxylase in different areas of 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonian rats. *Cell Mol Neurobiol* 2013;33:973-81.
26. Weis S, Toniazzo A, Ander B, Zhan X, Careaga M, Ashwood P, et al. Autophagy in the brain of neonates following hypoxia–ischemia shows sex-and region-specific effects. *Neuroscience* 2014;256:201-9.
27. Pérez-Rodríguez D, Anuncibay-Soto B, Llorente IL, Pérez-García CC, Fernández-López A. Hippocampus and cerebral cortex present a different autophagic response after oxygen and glucose deprivation in an ex vivo rat brain slice model. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2015;41:e68-e79.
28. François A, Terro F, Quellard N, Fernandez B, Chassaing D, Janet T, et al. Impairment of autophagy in the central nervous system during lipopolysaccharide-induced inflammatory stress in mice. *Mol Brain* 2014;7:56.
29. Bales KR, Du Y, Dodel RC, Yan G-M, Hamilton-Byrd E, Paul SM. The NF-κB/Rel family of proteins mediates Aβ-induced neurotoxicity and glial activation. *Brain Res Mol* 1998;57:63-72.
30. Hedde JR, Hanks AN, Schmidt CJ, Hughes ZA. The isozyme selective phosphodiesterase-4 inhibitor, ABI-4, attenuates the effects of lipopolysaccharide in human cells and rodent models of peripheral and CNS inflammation. *Brain Behav Immun* 2017;64:285-95.
31. Afshin-Majd S, Bashiri K, Kiasalari Z, Baluchnejadmojarad T, Sedaghat R, Roghani M. Acetyl-L-carnitine protects dopaminergic nigrostriatal pathway in 6-hydroxydopamine-induced model of Parkinson's disease in the rat. *Biomed Pharmacother* 2017;89:1-9.
32. Ownby RL. Neuroinflammation and cognitive aging. *Curr Psychiatry Rep* 2010;12:39-45
33. Okun E, Barak B, Saada-Madar R, Rothman SM, Griffioen KJ, Roberts N, et al. Evidence for a developmental role for TLR4 in learning and memory. *PloS One* 2012;7:e47522.
34. Joshi R, Garabadu D, Teja GR, Krishnamurthy S. Silibinin ameliorates LPS-induced memory deficits in experimental animals. *Neurobiol Learn Mem* 2014;116:117-31.
35. Ahmed HH. Modulatory effects of vitamin E, acetyl-L-carnitine and α-lipoic acid on new potential biomarkers for Alzheimer's disease in rat model. *Exp Toxicol Pathol* 2012;64:549-56.
36. Blanca AJ, Ruiz-Armenta MV, Zambrano S, Miguel-Carrasco JL, Arias JL, Arévalo M, et al. Inflammatory and fibrotic processes are involved in the cardiotoxic effect of sunitinib: protective role of L-carnitine. *Toxicol Lett* 2016;241:9-18.

Determination of hemolysine genes frequency in antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from wound and urine samples of patients

Mina Aghsafi¹, Zahra Tahmasebi Fard²

¹ MSc of Microbial Biotechnology, Department of Biology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

² Associated Professor of Cellular and Molecular Biology, Department of Biology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

Abstract

Background: *Staphylococcus aureus* is a pathogenic bacterium that can target host cell membranes with virulence factors such as toxins and peptides. This study was evaluated the frequency of *alpha*, *beta*, and *delta* hemolysine genes in antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients' urine and wound samples.

Materials and methods: This cross-sectional study was performed on 100 antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* (tetracycline, penicillin, gentamicin, co-trimoxazole, tobramycin, and ciprofloxacin) isolated from wound and urine samples of patients who referred to medical diagnostic laboratories. Then, their antibiotic susceptibility was determined by the disk diffusion method based on CLSI instruction. After examining the MIC and MBC of the samples, a single colony culture was performed for the samples and their DNA was extracted by using a commercial kit. By designing specific primers, hemolysine *alpha*, *beta*, and *delta* genes were amplified in the samples. The results were analyzed by statistical software.

Results: In isolated *Staphylococcus aureus*, the highest antibiotic resistance was related to co-trimoxazole with 63% and the highest sensitivity to penicillin with 53%. There was a statistically significant relationship between resistance to tetracycline and co-trimoxazole antibiotics and age, and also ciprofloxacin showed greater resistance in women than men. The frequency of hemolysine genes was 91% for *HLA*, 96% for *HLB*, and 99% for *HLD*.

Conclusion: Penicillin antibiotic with 53% sensitivity seems to be a better candidate than other antibiotics and the high abundance of hemolysine genes should be considered as an important concern in the medical community.

Keywords: *Alpha hemolysine*, *Beta hemolysine*, *Delta hemolysine*, *Staphylococcus aureus*.

Cited as: Aghsafi M, Tahmasebi Fard Z. Determination of hemolysine genes frequency in antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from wound and urine samples of patients. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): 406-412.

Correspondence to: Zahra Tahmasebi Fard

Tel: +98 9122266686

E-mail: ztahmasebi@riau.ac.ir

ORCID ID: 0000-0002-9104-6308

Received: 10 Aug 2021; **Accepted:** 15 Sep 2021

تعیین فراوانی ژن‌های همولیزین آلفا، بتا و دلتا در استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک جدا شده از نمونه‌های زخم و ادرار بیماران

مینا آقاصفی^۱، زهرا طهماسبی فرد^۲

کارشناس ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، گروه زیست‌شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران
دانشیار زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست‌شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

چکیده

سابقه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس یکی از باکتری‌های پاتوژن است که با فاکتورهای ویروالانس نظیر توکسین‌ها و پپتیدها می‌تواند غشاء سلول‌های میزبان را هدف قرار دهد. در این تحقیق میزان فراوانی ژن‌های همولیزین آلفا، بتا و دلتا در استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های جدا شده از نمونه‌های ادرار و زخم بیماران مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه ۱۰۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک (تتراسایکلین، پنی‌سیلین، جنتامایسین، کوتریموکسازول، توبرامایسین و سیپروفلوکساسین) از نمونه‌های زخم و ادرار بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی به کمک تست‌های تشخیصی جداسازی شد. سپس حساسیت آنتی‌بیوتیکی آنها به روش دیسک دیفیوژن بر اساس جدول CLSI تعیین شد. بعد از بررسی MIC و MBC نمونه‌ها، کشت تک کلنی برای نمونه‌ها انجام گرفت و با استفاده از کیت تجاری، DNA آنها استخراج شد. با طراحی پرایمرهای اختصاصی، ژن‌های همولیزین آلفا، بتا و دلتا در نمونه‌ها تکثیر شدند و نتایج حاصله با آزمون‌های آماری تحلیل شد.

یافته‌ها: در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین مقاومت در برابر کوتریموکسازول با ۶۳٪ و بیشترین حساسیت به پنی‌سیلین با ۵۳٪ دیده شد. بین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کوتریموکسازول و سن رابطه آماری معنی‌داری دیده شد و همچنین سیپروفلوکساسین در زنان مقاومت بیشتری نسبت به مردان نشان داد. فراوانی ژن‌های همولیزین در hla ۹۱٪، hnb ۹۶٪ و hld ۹۹٪ مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین با ۵۳٪ حساسیت، کاندید بهتری نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌هاست و فراوانی زیاد ژن‌های همولیزین باید به عنوان یک نگرانی مهم در جامعه پزشکی در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: آلفاهمولیزین، بتاهمولیزین، دلتا همولیزین، استافیلوکوکوس اورئوس.

مقدمه

(کنترل شود. از دلایل مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، می‌توان عناصر متحرک ژنتیکی از جمله پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و کاست کروموزومی استافیلوکوکی یا جهش در ژن‌های کروموزومی را در نظر گرفت. باکتری‌ها با فعال کردن مکانیسم‌هایی از جمله غیرفعال سازی دارو، تغییرات آنزیمی در محل اتصال دارو، پس زدن دارو و جابجایی دارو برای محافظت از هدف آن، عمل می‌کنند. کاملاً واضح است که استافیلوکوکوس اورئوس به همراه سایر باکتری‌ها توانایی فوق العاده‌ای در ایجاد مقاومت در برابر هر آنتی‌بیوتیکی را دارند (۱).

اهداف اصلی آنتی‌بیوتیک‌ها برای اثرگذاری بر روی استافیلوکوک‌ها عبارتند از غشاء سلول، ریبوزوم و اسیدهای نوکلئیک. در اهداف درمانی جدید تلاش می‌شود تا با پروتئازهای خاصی، ماشین تقسیم سلولی (مثل FtsZ & ClpP

آدرس نویسنده مسئول: رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن، گروه زیست‌شناسی، زهرا طهماسبی

فرد (email: ztahmasebi@riau.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0002-9104-6308

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۴/۱۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۶/۲۴

فراوانی ژنهای همولیزین الف، بتا و دلتا در جدایه‌ها به کمک تکنیک‌های کشت، تست‌های بیوشیمیایی و واکنش زنجیرهای پلیمرز (PCR) بود.

مواد و روشها

در این مطالعه توصیفی، از مجموع ۲۴۰ بیمار مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های شهر تهران (در طی شش ماه از اردیبهشت تا مهر ماه سال ۱۳۹۷)، بعد از کسب اجازه به منظور رعایت اصول اخلاقی و امانت و صداقت در پژوهش، نمونه‌گیری شد (IR.IAU.PS.REC.1397.024) تا از نمونه‌های اخذ شده، تعداد ۱۰۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شود.

نمونه گیری و انجام تست های تشخیصی

ابتدا ۲۴۰ نمونه گرفته شده برای غنی سازی در محیط کشت بلاد آگار (شرکت مرک، آلمان) کشت داده شدند و جهت خالص سازی باکتری، از محیط کشت کروم آگار (شرکت مرک، آلمان) اختصاصی استافیلوکوکوس اورئوس استفاده شد. با توجه به اینکه برخی از سویه‌های استافیلوکوکوس در کروم آگار قادر به ایجاد کلنی‌های آبی، سفید یا بی‌رنگ هستند، پس از طی دوره انکوباسیون، کلنی‌های تک و خالص این باکتری برای تأیید نهایی با روشهای استاندارد میکروبیولوژی، نظیر رنگ آمیزی گرم و تستهای بیوشیمیایی تشخیصی از قبیل تست همولیز، تست کاتالاز، تخمیر مانیتول، تست کواگولاز و تست DNase ارزیابی شدند. سپس تست‌های حساسیت آنتی بیوتیکی، طبق دستورالعمل موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (2017) (CLSI) و به روش دیسک دیفیوژن آگار انجام گرفت. برای هر نمونه باکتری، سوسپانسیون نیم مک فارلند تهیه شد و به محیط مولر هینتون آگار تلقیح شد و دیسک‌ها با فاصله مناسب از یکدیگر قرار داده شدند تا پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت قرارگیری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، بررسی شوند. دیسک‌های آنتی بیوتیکی شامل تتراسایکلین ۳۰ میکروگرم، پنی سیلین ۱۰ یونیت، جنتامایسین ۱۰ میکروگرم، کوتریموکسازول ۲۳/۷۵/۱/۲۵ میکروگرم، توبرامایسین ۱۰ میکروگرم و سیپروفلوکساسین ۳۰ میکروگرم از شرکت پادتن طب تهیه شدند. تست‌ها دوبار تکرار شدند و با اندازه گیری قطر هاله‌ها، میزان مقاومت یا حساسیت باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌ها بر اساس جدول CLSI تعیین شد.

به منظور استخراج DNA از جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس از کیت استخراج DNA (GENE ALL, Korea) استفاده شد.

درک رابطه پیچیده بین میزبان با میکروب‌های همزیست و عوامل بیماری‌زای مهاجم، بینش مهمی را برای طراحی منطقی داروها فراهم می‌کند. باکتری‌ها می‌توانند از طریق سیگنال‌های شبه هورمونی با یکدیگر ارتباط برقرار کرده و با تداخل در مسیرهای سیگنالینگ سلول به سلول ویروولانس باکتری را کنترل می‌کنند (۲). استافیلوکوک اورئوس‌ها به خاطر داشتن فاکتورهای متعدد بیماری‌زا، تشکیل کلنی‌های پایدار و تهاجم به سیستم ایمنی، یکی از باکتری‌های به شدت بیماری‌زا هستند که می‌توانند عفونت‌های نکروزه کننده با واکنش‌های التهابی گسترده و تخریب بافت را ایجاد کنند. همه استافیلوکوکوس اورئوس‌ها توانایی ترشح فاکتورهای ویروولانس لیز کننده سلول‌ها نظیر همولیزین‌ها را دارند (۳). از جمله پپتیدهای آسیب زنده به غشاء، همولیزین‌های آلفا، بتا، گاما و دلتا هستند که توسط استافیلوکوکوس اورئوس تولید می‌شوند (۴). همولیزین آلفا از مهم‌ترین فاکتورهای ویروولانس استافیلوکوکوس اورئوس است (۵، ۶) که با تشکیل منافذی در غشا سلول، اجازه انتقال به مولکول‌های کوچک نظیر یون‌های K^+ و Ca^{2+} را می‌دهد و منجر به مرگ نکروتیک سلول‌های هدف می‌شود (۷). گاما همولیزین نیز منفذی در غشاء تشکیل می‌دهد، ولی بر خلاف آلفا همولیزین برای عملکرد خود به دو پلی پپتید دیگر نیز نیاز دارد. دو جزء پلی پپتیدی به نام‌های F و S در کروماتوگرافی به ترتیب با سرعت بالا و پایین از هم جدا می‌شوند. این همولیزین به خاطر لیز کردن گلبول‌های سفید در یوکاریوت‌ها به نام "لکوسیدین" نیز شناخته می‌شود (۸). بتا همولیزین، در غشاء سلول منفذ ایجاد نمی‌کند، بلکه با فعالیت آنزیمی اسفنگومیلیناز، اسفنگومیلین غشاء سلول را هیدرولیز می‌کند (۹). فعالیت آنزیمی بتا همولیزین جهت عملکرد همولیتیکی آن مورد نیاز است و در مورد گلبول‌های قرمز فعالیت لیز کنندگی آن در دمای پایین آغاز می‌شود (۷). دلتا همولیزین‌ها هم پپتیدهای کوچک دوگانه دوست با ساختار آلفا هلیکس هستند که با مکانیسم‌های متفاوتی فعالیت همولیتیکی خود را اعمال می‌کنند (۱۰).

مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهند که عوامل ویروولانس با نژاد خاصی از استافیلوکوکوس اورئوس مرتبط نیستند و شیوع بالای همولیزین‌ها نیز بیانگر نقش آنها در بیماری‌های خاص انسان است و همچنین فاکتور کلیدی در کلنی‌زایی و یا ایجاد بیماری به حساب می‌آید (۸).

هدف از این مطالعه، جداسازی و تشخیص باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها و ارزیابی

روش آماری

اطلاعات دموگرافیکی بیماران، نتایج تست حساسیت آنتی بیوتیکی و فراوانی ژن‌های همولیزین در نمونه‌ها، به کمک نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ تحلیل شد و ارتباط آماری معنی‌دار با $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از ۱۰۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده، ۵۸ نمونه از زنان و ۴۲ نمونه از مردان جدا شد. ۹۱٪ نمونه‌ها سن بالای ۶۰ را داشتند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که بیشترین مقاومت در برابر کوتریموکسازول با ۶۳٪ و بیشترین حساسیت به پنی‌سیلین با ۵۳٪ دیده شد. الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها در جدول ۲ آورده شده است.

نتایج به دست آمده رابطه آماری معنی‌داری بین سن و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کوتریموکسازول را نشان داد و بیانگر آن که با افزایش سن، میزان مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها نیز افزایش پیدا می‌کند. اما رابطه‌ای بین سن و مقاومت به آنتی بیوتیک‌های دیگر وجود نداشت. در بررسی رابطه بین جنسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تنها ارتباط معنی‌دار بین جنسیت و مقاومت به

آنالیز کمی و کیفی DNAهای استخراج شده با دستگاه نانودراپ (Denovix, Italy) و ژل آگاروز ۱٪ ارزیابی شد.

برای انجام واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر، در هر میکروتیوب ۱۰ μL ماستر میکس (Amplicon, Denmark) ۱ μL از پرایمرهای رفت و برگشت ۱۰ μL ، ۱۰ μL از هر نمونه DNA استخراج شده (۱۰۰ ng) و ۱۲ μL آب مقطر دیونیزه اضافه شد. سپس واکنش PCR در دستگاه Thermal cycler (پندرف آلمان) با برنامه حرارتی شامل واسرشت شدن در ۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ سیکل حرارتی شامل ۹۴ درجه ۳۰ ثانیه، ۵۴ درجه ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه ۵۰ ثانیه و در آخر یک مرحله طولیل سازی نهایی به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. در انتها محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱٪ در کنار کنترل‌های مثبت و منفی الکتروفورز شدند.

جهت کنترل کیفی از استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923) استفاده شد و بعد از تایید تکثیر DNAهای استخراج شده با پرایمرهای اختصاصی 23srRNA، فراوانی فاکتورهای ویروالاس همولیزین آلفا، بتا و دلتا در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس به روش PCR ارزیابی شد. توالی پرایمرها در جدول ۱ آورده شده است. آنالیز کیفی محصولات PCR نیز بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ انجام گرفت و تعدادی از محصولات PCR تعیین توالی شدند تا با بلاست کردن آنها در سایت NCBI تطابق و همپوشانی آنها تایید شود.

جدول ۱. جفت پرایمرهای استفاده شده در پژوهش

| ژن | پرایمر | توالی پرایمر در جهت 5'→3' | سایز قطعه تکثیر شده (جفت باز) |
|---------|--------|---------------------------|-------------------------------|
| 23srRNA | رفت | ACGGAGTTACAAAGGACGAC | |
| | برگشت | AGCTCAGCCTTAACGAGTAC | ۱۲۵۰ |
| HLA | رفت | AAATTGGGGACCATAACGACA | |
| | برگشت | AGCGAAGTCTGGTGAAAACC | ۱۵۷ |
| HLB | رفت | TGCTGGACATGATCGAAAAA | |
| | برگشت | TTTGATTGAGGGTCCCATGT | ۲۱۳ |
| HLD | رفت | TTGGGACGGCTTAATAACTCA | |
| | برگشت | GGAGTGATTTCAATGGCACA | ۱۷۲ |

جدول ۲. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بیماران

| آنتی بیوتیک | درصد فراوانی جدایه‌های مقاوم | درصد فراوانی جدایه‌های حدواسط | درصد فراوانی جدایه‌های حساس |
|----------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| تتراسایکلین | ۵۰٪ | ۳۱٪ | ۱۹٪ |
| پنی‌سیلین | ۱۶٪ | ۳۱٪ | ۵۳٪ |
| جنتامایسین | ۱۴٪ | ۳۷٪ | ۴۹٪ |
| کوتریموکسازول | ۶۳٪ | ۲۸٪ | ۹٪ |
| توبرامایسین | ۲۶٪ | ۳۱٪ | ۴۳٪ |
| سیپروفلوکساسین | ۲۸٪ | ۳۱٪ | ۴۱٪ |

بحث

استافیلوکوکوس اورئوسها توانایی گسترش مقاومت نسبت به عوامل ضد میکروبی را دارند و فاکتورهای بیماری‌زای متعددی را ترشح می‌کنند که منجر به واکنش‌های التهابی در بدن می‌شوند (۱۱). در چند دهه اخیر، فعالیت‌های همولیتیکی و لکوتوکسیسیته استافیلوکوک اورئوس بسیار مورد توجه محققین بوده، اما با این وجود ماهیت مولکولی عوامل دخیل در بیماری‌زایی این باکتری‌ها، در حال شناسایی است. شناسایی گیرنده‌های میزبان برای این سموم آسیب رساننده به غشاء، احتمالاً در مورد عملکردهای فیزیولوژیکی خاص این عوامل، بینش جدیدی را ایجاد می‌کند و علاوه بر این، نقش همولیزین‌ها در ایجاد تعادل بین همزیستی و عفونت نیز مشخص خواهد شد (۱۲).

استافیلوکوکوس‌ها به عنوان بخشی از فلور نرمال، ایجاد کننده بیماری‌های فرصت طلب و عفونت‌های سیستمیک هستند. مهم‌ترین راهکار برای مقابله با افزایش شیوع عفونت‌های مرتبط با این باکتری‌ها شناسایی و درمان به موقع بیماری است (۱۳)، اما مقاومت آنتی بیوتیکی یکی از مهم‌ترین مشکلات برای سلامت عمومی در همه جای دنیا به حساب می‌آید که استفاده از داروهای ضد میکروبی در درمان بیماری‌های عفونی را محدود می‌کند (۱۴).

توانایی آنتی بیوتیک‌ها در تغییر دادن فنوتیپ‌های میکروارگانیسم‌ها و ایجاد قدرت بیماری‌زایی بالا نشان دهنده عوارض سوء مصرف آنهاست. استفاده بیش از حد، نه تنها در ایجاد مقاومت در برابر دارو و از بین رفتن میکروبیوتای میزبان دخیل است بلکه سبب انتخاب ارگانیسم‌هایی با شدت بیماری‌زایی بالا می‌شود (۱۵). در این مطالعه میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در استافیلوکوکوس اورئوس‌های موجود در زخم و ادرار مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس فراوانی ژن‌های همولیزین در جدایه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها ارزیابی شد. نتایج نشان داد که جدایه‌ها سطح بالایی از مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های کوتریموکسازول ۶۳٪، تتراسایکلین ۵۰٪، سیپروفلوکساسین ۲۸٪، توبرامایسین ۲۶٪ و کمترین مقاومت‌ها را آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین ۱۶٪ و جنتامایسین ۱۴٪ از خود نشان دادند.

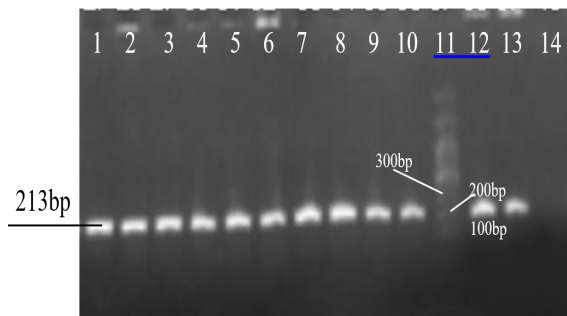
نوربخش و همکارانش در سال ۲۰۱۵ الگوی مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از بیمارستان‌های اصفهان را برای آنتی‌بیوتیک‌های متی‌سیلین (۹۰/۲٪)، اریترومایسین (۸۹/۷٪)، سیپروفلوکساسین (۸۹/۵٪)، پنی

سیپروفلوکساسین مشاهده شد و زنان مقاومت بیشتری نسبت مردان داشتند.

توزیع فراوانی فاکتورهای ویروالانس همولیزین نیز نشان داد که همولیزین آلفا در ۹۱٪ نمونه‌ها (شکل ۱)، همولیزین بتا در ۹۶٪ نمونه‌ها (شکل ۲) و همولیزین دلتا در ۹۹٪ نمونه‌ها (شکل ۳) مثبت بودند.



شکل ۱. نتایج حاصل از تکثیر ژن همولیزین آلفا در نمونه‌ها. چاهک ۱ کنترل منفی، چاهک ۲ و ۱۱ نمونه‌های منفی، چاهک ۳ تا ۱۰ نمونه‌های مثبت، چاهک ۱۲: کنترل مثبت و چاهک ۱۳: مارکر 100bp



شکل ۲. نتایج حاصل از تکثیر ژن همولیزین بتا در نمونه‌ها. چاهک ۱-۱۰: نمونه‌های مثبت، چاهک ۱۱ مارکر 100bp، چاهک ۱۲: کنترل مثبت، چاهک ۱۳ نمونه مثبت و چاهک ۱۴ نمونه منفی



شکل ۳. نتایج حاصل از تکثیر ژن همولیزین دلتا در نمونه‌ها. چاهک ۱: کنترل منفی، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک ۳-۱۲: نمونه‌های مثبت، چاهک ۱۳ مارکر 100bp

همولیزین آلفا (HLA) در ۹۱٪ نمونه‌ها، همولیزین بتا (HLB) در ۹۶٪ و همولیزین دلتا (HLD) در ۹۹٪ نمونه‌ها مثبت بودند. حضور هر سه ژن در بیشتر جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک نشان دهنده نقش این ژن‌ها در بیماری‌زایی است. در راستای نتایج حاضر، در مطالعه امینی و همکارانش در سال ۲۰۱۹، از ۵۹ نمونه تهیه شده از زخم کودکان، فراوانی ژن HLA ۷۱/۲٪، HLB ۵۷/۶٪ و HLD ۹۶/۶٪ گزارش شد. در بررسی دیگری که نمونه‌ها از پای عفونی افراد دیابتی توسط آقای رسولی و همکارانش تهیه شده بود، از ۳۰ نمونه در ۱۴ مورد استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شد که دارای ژن HLA به میزان ۱۰۰٪ و HLG ۶۴/۲٪ بودند (۲۰). علاوه بر نمونه‌های انسانی در بررسی دیگری استافیلوکوکوس اورئوس از ورم پستان گاو، گوسفند و بز جدا شد و از ۴۵ نمونه مثبت، فراوانی ژن HLA ۳۵/۵٪، HLB ۲۰٪، هر دو ژن با هم ۱۷/۷۸٪، و HLD ۲۶/۶۷٪ مشاهده شد (۲۱).

در مطالعه Nasaj و همکارانش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شیوع ژن‌های همولیزین در استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز منفی بررسی شد و نتایج نشان داد که بیشترین فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر سفوکسیتین در ۴۹ جدایه (۵۳/۸٪) و کمترین مقاومت در برابر نوویوسین در ۵ جدایه (۵/۵٪) مشاهده شد. هیچ یک از جدایه‌ها به ونکومایسین مقاوم نبودند. شیوع ژن‌های hla، hla_yidD، hld و hlb به ترتیب ۸۷،۹٪، ۶۲،۶٪، ۵۶٪ و ۴۷،۳٪ بود (۲۲).

سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی، مقاومت بالایی نسبت به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها داشتند و ارتباط معنی‌داری بین سن و مقاومت آنتی‌بیوتیکی تتراسایکلین و کوتریموکسازول برقرار بود و با افزایش سن میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی افزایش می‌یافت. همچنین ارتباط معنی‌داری بین جنس و مقاومت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین برقرار بود و میزان مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها در زنان بیشتر از مردان بود، اما با مقایسه حضور ژن‌های همولیزین و ارتباط آنها با مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سن و جنس رابطه معنی‌داری دیده نشد.

عفونت با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بسیار شایع است. با توجه به پتانسیل بالا در بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی و اهمیت بالینی توکسین‌های این باکتری از لحاظ بیماری‌زایی، شناسایی و بررسی آنها با تکنیک‌های مولکولی و استفاده از روش‌های درمانی مناسب برای کنترل عفونت ضروری به نظر می‌رسد.

سیلین (۸۸٪)، تتراسایکلین (۸۲/۴٪) و جنتامایسین (۷۵/۸٪) و کمترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های نیتروفورانئوتین (۲٪) و ونکومایسین (۱۰٪) گزارش کردند (۱۶).

پرهیزگاری و همکارانش در سال ۲۰۱۳ الگوی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیمارستان‌های اهواز را به صورت ۳۷/۲٪ مقاوم به متی‌سیلین گزارش کردند و از این تعداد سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین، نسبت به کلرامفنیکل ۳/۳۸٪، ریفامپین ۴۵/۷۶٪، نورفلوکساسین ۸۹/۸۳٪، جنتامایسین ۸۹/۸۳٪، سیپروفلوکساسین ۹۱/۵۲٪، آزیترومایسین ۸۸/۱۳٪، کوتریموکسازول ۸۶/۴۴٪ بود و تمام سویه‌ها نسبت به ونکومایسین و نیتروفورانئوتین حساس گزارش شدند (۱۷).

در مطالعه Akhi و همکارانش در سال ۲۰۱۵، از زخم‌های پای افراد دیابتی در تبریز، ۳۵٪ استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده مقاوم به متی‌سیلین بودند. همچنین مقاومت به سیپروفلوکساسین در جدایه‌های مورد مطالعه ۵۳/۸٪، مقاومت به آموکسی کلاو ۳۰/۷۶٪ و مقاومت به تتراسایکلین ۴۶/۱۵٪ بود و ۱۰۰٪ جدایه‌ها نسبت به ونکومایسین حساس بودند (۱۸).

با توجه به متفاوت بودن نتایج حاصل از مطالعات انجام شده در مناطق مختلف کشور و تغییر الگوی مقاومت در طول زمان، بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های بالینی هر منطقه، امری ضروری خواهد بود. همچنین افزایش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، به دلیل مصرف روز افزون و بی‌رویه آن در مناطق مختلف دنیا و موقعیتهای جغرافیایی متفاوت نیز دیده شده است. به طوری که در مطالعه Shittu و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در نیجریه، حساسیت ۶۸ جدایه بالینی استافیلوکوکوس اورئوس در بالاترین سطح مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تیکوپلانین، ونکومایسین، ریفامپیسین، موپیروسین (۱۰۰٪) و سولفامتوکسازول-تری متوپریم (۷۲٪) و تتراسایکلین (۵۵٪) گزارش شد (۱۹). در بررسی Yilmaz و همکارانش در سال ۲۰۱۷ از ترکیه، ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به پنی‌سیلین در ۸۳/۵٪، آمپی‌سیلین ۷۷/۳٪، اریترومایسین ۶۳/۹٪، تتراسایکلین ۱۶/۵٪، کلیندامایسین ۶/۲٪ و جنتامایسین ۶/۲٪ موارد مشاهده شد (۱۴).

همولیزین‌ها از مهم‌ترین فاکتورهای بیماری‌زا در باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد کننده عفونت هستند که در مطالعه حاضر نیز فراوانی بالایی داشتند. به طوری که

تشکر و قدردانی

از پرسنل آزمایشگاه‌ها و بیمارانی که در انجام این طرح همکاری داشتند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

REFERENCES

1. Foster TJ. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiol Rev* 2017;41: 430-449.
2. Curtis, MM, Sperandio V. A complex relationship: the interaction among symbiotic microbes, invading pathogens, and their mammalian host. *Mucosal Immunol* 2011;4: 133-8.
3. Kebaier Ch, Chamberland RR, Allen IC, Gao X, Broglie PM, Hal JD, Jania C, et al. *Staphylococcus aureus* alpha-hemolysin mediates virulence in a murine model of severe pneumonia through activation of the NLRP3 inflammasome. *J Infect Dis* 2012;205:807-17.
4. Wiseman, GM. The hemolysins of *Staphylococcus aureus*. *Bacteriol Rev* 1975;39:317-44.
5. Wilke GA, Bubeck Wardenburg J. Role of a disintegrin and metalloprotease 10 in *Staphylococcus aureus* alpha-hemolysin-mediated cellular injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:13473-8.
6. Dumont AL, Nygaard TK, Watkins RL, Smith A, Kozhaya L, Kreiswirth BN, et al. Characterization of a new cytotoxin that contributes to *Staphylococcus aureus* pathogenesis. *Mol Microbiol* 2011;79:814-25.
7. Burnside K, Lembo A, de Los Reyes M, Iliuk A, Binhtran NT, Connelly JE, et al. Regulation of hemolysin expression and virulence of *Staphylococcus aureus* by a serine/threonine kinase and phosphatase. *PLoS One* 2010;5:e11071.
8. Ventura CL, Malachowa N, Hammer CH, Nardone GA, Robinson MA, Kobayashi SD, DeLeo FR. Identification of a novel *Staphylococcus aureus* two-component leukotoxin using cell surface proteomics. *PLoS One* 2010;5:e11634.
9. Ira, Johnston LJ. Sphingomyelinase generation of ceramide promotes clustering of nanoscale domains in supported bilayer membranes. *Biochim Biophys Acta* 2008;1778:185-97.
10. Verdon J, Girardin N, Lacombe C, Berjeaud JM, Héchard Y. delta-hemolysin, an update on a membrane-interacting peptide. *Peptides* 2009;30:817-23.
11. Zhang L, Gao J, Barkema HW, Ali T, Liu G, Deng Y, et al. Virulence gene profiles: alpha-hemolysin and clonal diversity in *Staphylococcus aureus* isolates from bovine clinical mastitis in China. *BMC Vet Res* 2018;14:63.
12. Vandenesch F, Lina G, Henry T. *Staphylococcus aureus* hemolysins, bi-component leukocidins, and cytolytic peptides: a redundant arsenal of membrane-damaging virulence factors? *Front Cell Infect Microbiol* 2012;2:12.
13. Karasartova D, Cavusoglu ZB, Turegun B, Ozsan MT, Şahin F. Identification of virulence genes carried by bacteriophages obtained from clinically isolated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2016;63:433-447.
14. Yılmaz EŞ, Aslantaş Ö. Antimicrobial resistance and underlying mechanisms in *Staphylococcus aureus* isolates. *Asian Pac J Trop Med* 2017;10:1059-1064.
15. Goneau L W, Delpont J, Langlois L, Poutanen S M, Razvi H, Reid G, et al. Issues beyond resistance: inadequate antibiotic therapy and bacterial hypervirulence. *FEMS Microbes* 2020;1: 1-14.
16. Nourbakhsh, F, Momtaz H. Detection of antibiotic resistance patterns in *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients admitted to Isfahan hospitals during 2014-2015. *Feyz* 2015;19: 356-363. [In Persian]
17. Parhizgari, N., S. Moosavian, and A. Sharifi. Antibiotic resistant pattern of methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* isolated from patients during 2009-2010. *Armaghane Danesh* 2013;18: 757-767. [In Persian]
18. Akhi MT, Ghotaslou R, Asgharzadeh M, Varshochi M, Pirzadeh T, Memar MY, et al. Bacterial etiology and antibiotic susceptibility pattern of diabetic foot infections in Tabriz, Iran. *GMS Hyg Infect Control* 2015;10: 02.
19. Shittu AO, Okon K, Adesida, S. Omotayo Oyedara, Witte W, Strommenger B, Layer F, et al. Antibiotic resistance and molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* in Nigeria. *BMC Microbiol* 2011;11: 92.
20. Rasooli, H. and E. Ghorbanalinezhad. Isolation and Identification of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Based on hla , lukED, sei, and hlg Virulence Genes in Patients with Diabetic Foot Infection in Mazandaran Province. *Iran J Med Microb* 2018;11:192-202. [In Persian]
21. Ghasem Azizi A, Masoud H, Pourtaghi H., Shirazinezhad A., Naserpour F. Phenotypic and Genotypic Analysis of Haemolysin Genes of *Staphylococcus aureus* isolated from Subclinical Mastitis in Savojbolagh County, Alborz Province. *Vet J* 2016; 114: 14-20. [In Persian]
22. Nasaj M, Saeidi Z, Asghari B, Roshanaei G, Arabestani MR. Identification of hemolysin encoding genes and their association with antimicrobial resistance pattern among clinical isolates of coagulase-negative *Staphylococci*. *BMC Res Notes* 2020;13:68.

The effect of leisure time regular exercise on neutrophil function, myeloperoxidase levels, and antioxidant capacity in middle-aged men

Seyed Reza Rahimi Moghaddam¹, Alireza Elmieh², Mohammad Reza Fadaei Chafy³

¹PhD Student in Sports Physiology, Department of Physical Education, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

²Associate Professor, Department of Physical Education, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

³Assistant Professor, Department of Physical Education, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Abstract

Background: Exercise can cause inflammation and neutrophil activity. Neutrophils contain the enzyme myeloperoxidase that its main function is to produce reactive oxygen species. On the other hand, physical activity can improve immune function and antioxidant activity. Therefore, the aim of the present study was to evaluate neutrophil activity, changes in myeloperoxidase levels and total antioxidant capacity of healthy middle-aged men participating in regular leisure time exercises and untrained subjects.

Materials and methods: Twenty trained (age 53.58± 2.94 years, BMI 25.47±1.6) and 17 untrained (age 54.17±2.83 years, BMI 27.83±1.12) subjects participated in this study. Subjects performed modified Bruce treadmill test as a model of progressive exercise training. Blood samples were taken before, immediately after and one hour after the end of the test.

Results: There was a significant difference in the neutrophil counts of the trained group and also between both groups. Furthermore, the results showed significant difference in myeloperoxidase levels in trained compared to untrained group. Significant changes in total antioxidant capacity were observed in both groups and the trained group demonstrated higher levels of total antioxidant capacity.

Conclusion: Participation in regular leisure time exercises can improve neutrophil function, reduce myeloperoxidase levels and increase the total antioxidant capacity of healthy middle-aged men and may potentially slowdown the immunosenescence process.

Keywords: Leisure time activity, Neutrophil, Myeloperoxidase, Total antioxidant capacity.

Cited as: Rahimi Moghaddam SR, Elmieh AR, Fadaei Chafy MR. The effect of leisure time regular exercise on neutrophil function, myeloperoxidase levels, and antioxidant capacity in middle-aged men. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): 413-424.

Correspondence to: Alireza Elmieh

Tel: +98 9111359121

E-mail: elmieh@iaurasht.acir

ORCID ID: 0000-0002-6266-0018

Received: 17 Feb 2021; **Accepted:** 9 May 2021

تأثیر تمرین منظم ورزش همگانی بر عملکرد نوتروفیلی، سطوح میلوپراکسیداز و ظرفیت آنتی اکسیدانی مردان میانسال

سید رضا رحیمی مقدم^۱، علی رضا علمیه^۲، محمدرضا فدائی چافی^۳^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران^۲ دانشیار، گروه تربیت بدنی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران^۳ استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

چکیده

سابقه و هدف: تمرین ورزشی می‌تواند موجب بروز التهاب و فعالیت نوتروفیل‌ها شود. نوتروفیل‌ها حاوی آنزیم میلوپراکسیداز هستند که عملکرد اصلی آن تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن است. همچنین، فعالیت بدنی می‌تواند باعث بهبود عملکرد ایمنی و فعالیت آنتی اکسیدانی شود. بنابراین هدف تحقیق حاضر، مطالعه فعالیت نوتروفیل‌ها، تغییرات میلوپراکسیداز و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی مردان میانسال سالم شرکت کننده در فعالیتهای ورزش همگانی و افراد بدون تمرین بود.

روش بررسی: بیست نفر آزمودنی تمرین کرده (سن 29.94 ± 5.38 سال، نمایه توده بدنی $[BMI] 25.47 \pm 1.6$ کیلوگرم بر مترمربع) و ۱۷ نفر بدون تمرین (سن 29.83 ± 5.41 سال، $BMI 27.83 \pm 1.12$ کیلوگرم بر مترمربع) در این مطالعه شرکت کردند. آزمودنی‌ها تست اصلاح شده بروس را به عنوان مدلی از تمرین فزاینده انجام دادند. نمونه‌های خونی قبل، بلافاصله بعد و یک ساعت پس از پایان تست دریافت شدند.

یافته‌ها: تفاوت معنی‌داری در مقادیر نوتروفیل‌های گروه تمرین کرده مشاهده شد. گروه بدون تمرین افزایش معنی‌دار میلوپراکسیداز را نسبت به گروه تمرین کرده تجربه کرد. هر دو گروه تفاوت معنی‌داری در ظرفیت تام آنتی اکسیدانی داشتند و گروه تمرین کرده به طور معنی‌داری از سطوح بالاتری از ظرفیت تام آنتی اکسیدانی برخوردار بود.

نتیجه‌گیری: شرکت منظم در فعالیتهای ورزش همگانی می‌تواند باعث بهبود عملکرد نوتروفیل‌ها، کاهش میلوپراکسیداز و افزایش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی مردان میانسال سالم شود و ممکن است به طور بالقوه سرعت زوال تدریجی سیستم ایمنی ناشی از افزایش سن را کند کند.

واژگان کلیدی: فعالیت ورزش همگانی، نوتروفیل، میلوپراکسیداز، ظرفیت تام آنتی اکسیدانی.

مقدمه

سایتوکاین‌های پیش التهابی (Pro-inflammatory Cytokines) و کموکاین‌ها (Chemokines) می‌شود، و حضور این عوامل منجر به آبشارهای سیگنالینگ می‌شود که تولید ترکیبات اکسیدانی و تخلیه آنتی اکسیدان‌ها را تحریک می‌کند. با توجه به ارتباط بین اکسیداسیون و التهاب، تولید بیش از حد اکسیدان‌ها موجب پاسخ التهابی فعال شده و آسیب سلولی را تشدید می‌کند (۲). از سویی، سلول‌های ایمنی به طور دایم اکسیدان‌ها و ترکیبات التهابی را برای انجام عملکرد دفاعی خود تولید می‌کنند و بر این اساس، نوتروفیل‌ها

تمرین بدنی چه در هنگام اجرای آن و چه بعد از اجرا به عنوان یک عامل استرس‌زا عمل می‌کند و قادر به ایجاد التهاب است (۱). التهاب مزمن باعث تولید و آزاد سازی بیش از حد

آدرس نویسنده مسئول: گیلان، رشت، پل تالش، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، دانشکده علوم

انسانی، گروه تربیت بدنی، علی رضا علمیه (email: elmieh@iaurasht.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0002-6266-0018

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۱۱/۲۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۲/۱۹

زوال تدریجی سیستم ایمنی ناشی از افزایش سن را کند نماید (۱۵). همچنین فعالیت بدنی می‌تواند نشانگرهای استرس اکسیداتیو ناشی از بالا رفتن سن را کاهش داده و باعث افزایش سازگاری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی حتی در مردان و زنان سالمند شود (۱۶). اگرچه تأثیر تمرین بدنی بر عملکرد عوامل مختلف سیستم ایمنی بدن از جمله نوتروفیل‌ها به متغیرهای زیادی از جمله سن، شدت و مدت تمرین بدنی، جنسیت و همچنین میزان آمادگی جسمانی افراد بستگی دارد (۱۷، ۱۸)، اما در مجموع به نظر می‌رسد که فعالیت و عملکرد نوتروفیل‌ها بطور مثبتی تحت تأثیر فعالیت بدنی و تمرین قرار می‌گیرد (۱۹)، زیرا تحقیق انجام شده در مورد عادت به فعالیت بدنی و ارتباط آن با مهاجرت نوتروفیل‌ها (Neutrophil Migration) نشان داده که افراد سالمند سالم و فعال، مهاجرت نوتروفیلی بهتری را از خود نشان می‌دهند و سهمی از نقص در مهاجرت نوتروفیل‌ها در مردان سالمند ممکن است به دلیل کاهش فعالیت بدنی باشد. مهاجرت نوتروفیل‌ها در واقع بسیج نوتروفیل‌ها به بافت آسیب دیده و موضع التهاب است که به واسطه سایتوکاین‌های تولید شده توسط ماکروفاژهای ساکن در بافت به موضع آسیب دیده جذب می‌شوند (۲۰). با وجود مطالعاتی که در سال‌های اخیر در مورد تأثیر تمرین بدنی بر فعالیت نوتروفیلی (۲۱، ۲۲)، سطوح میلوپراکسیداز (۲۳، ۲۴) و تغییرات سطوح آنتی‌اکسیدانی انجام شده است (۲۵-۲۷)، کمتر تحقیقی به ارتباط بین فعالیت تمرینی منظم ورزش همگانی و متغیرهای یاد شده در افراد میانسال پرداخته است. از این رو به نظر می‌رسد که ارتباط بین فعالیت بدنی منظم، عملکرد سیستم ایمنی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی هنوز به طور کامل شناخته شده نیست.

از سوی دیگر، به خوبی نشان داده شده است که یک جلسه تمرین بدنی سیستم ایمنی را چه در هنگام تمرین و چه بعد از آن تحریک می‌کند (۲۵). همچنین شواهد نشان می‌دهند که تمرین ورزشی حاد با افزایش استرس اکسیداتیو و تغییرات در فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها همراه است و اینکه تمرین بدنی وامانده ساز مطلوب‌ترین شکل تمرین برای بروز استرس اکسیداتیو است (۲۸). در طی یک وهله فعالیت تمرینی حاد، فعالیت آنتی‌پاتوژنی (Antipathogen Activity) ماکروفاژهای بافت نیز به موازات افزایش سایتوکاین‌های ضد التهابی افزایش می‌یابد. به طور کلی، امروزه به تمرین بدنی حاد به عنوان عامل کمکی مهم برای تحریک تبادل مداوم لکوسیت‌های در گردش خون و بافت توجه می‌شود (۱۵). بنا براین با توجه به نقش نوتروفیل‌ها به عنوان یکی از سلول‌های اصلی ایجاد

(Neutrophils) و ماکروفاژها (Macrophages) نقش اصلی را در استرس اکسیداتیو مزمن بر عهده دارند و سلول‌های کلیدی زوال سیستم ایمنی ناشی از اکسیداسیون - التهاب هستند (۳). نوتروفیل‌ها به عنوان فراوان‌ترین سلول خونی سفید، با فعالیت خود در بسیاری از فرایندهای التهابی از جمله فرآیندهای التهابی بافت عضلانی که توسط تمرین بدنی تشدید می‌شوند، نیز نقش دارند (۴). نوتروفیل‌های فعال شده، با دگرانوله شدن (Degranulation) باعث رها سازی آنزیم میلوپراکسیداز (Myeloperoxidase: MPO) می‌شوند (۵) که عملکرد اصلی آن تولید اکسیدان‌ها و گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن (ROS: Reactive Oxygen Species) برای مقابله با پاتوژن‌ها (Pathogen) و عوامل التهابی است و تنها آنزیمی است که قادر به تولید مقادیر قابل توجهی ماده اکسید کننده قوی به نام اسید هایپوکلروس (Hypochlorous acid: HOCl) است (۶). اسید هایپوکلروس یک عامل اکسیداتیو قوی است که در بسیاری از فرایندهای سلولی نقش دارد (۸) و تولید بیش از حد آن باعث آسیب اکسیداتیو پروتئین‌ها و DNA در سلول‌های میزبان شده و به طور مستقیم یا غیر مستقیم باعث بروز انواع مختلفی از آسیب‌های بافتی و بیماری‌های مزمن مانند آترواسکلروز، سرطان، بیماری کلیوی، آسیب ریوی، آلزایمر و پارکینسون می‌شود (۹). میلوپراکسیداز پلاسما می‌تواند با اسیدهای چرب اشباع نشده در غشای سلولی نیز ارتباط برقرار کند و باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدها شود (۱۰). به همین دلیل، سلول‌های خونی مانند نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها به عنوان سلول‌های اصلی مسئول ایجاد استرس اکسیداتیو مزمن پیشنهاد شده‌اند که می‌توانند با زوال تدریجی سیستم ایمنی ناشی از افزایش سن (Immunosenescence) در ارتباط باشند (۲).

از سوی، انسان‌ها سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی بسیار پیچیده آنزیمی و غیر آنزیمی دارند که به صورت هم افزایی کار می‌کنند و با همکاری یکدیگر، از سلول‌ها و ارگان‌های بدن در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال آزاد محافظت می‌کنند (۱۱). اما سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن نیز تحت تأثیر فرایند افزایش سن قرار می‌گیرد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که افزایش سن با کاهش فعالیت‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی همراه است (۱۲، ۱۳).

خوشبختانه، نتایج تحقیقات نشان می‌دهند که همراه با روند افزایش سن، شرکت در فعالیت تمرینی منظم (۱۴) می‌تواند منجر به بهبود عملکرد ایمنی شده و به طور بالقوه سرعت

مردان میانسال شرکت کننده در فعالیتهای منظم تمرینی هیئت ورزش همگانی استان گیلان (شهر رشت) انتخاب شدند. همه داوطلبان شرکت کننده در پژوهش، اطلاعات لازم را در مورد پروتکلها و روشها و همچنین خطرات و مزایای احتمالی مطالعه دریافت کردند. رضایتمانه کتبی آگاهانه از همه شرکت کنندگان دریافت شد. همه داوطلبان پرسشنامه تاریخچه پزشکی و پرسشنامه بین المللی فعالیت بدنی (IPAQ: International physical activity questionnaire) را تکمیل کردند و در معاینات جسمانی نیز که توسط پزشک ورزشی انجام شد، شرکت کردند. پس از مطالعه پرسشنامهها و بررسیهای لازم، آزمودنیهای واجد شرایط برای شرکت در آزمون انتخاب شدند. به داوطلبان توصیه شد ۴۸ ساعت قبل از اجرای آزمون از انجام فعالیتهای بدنی شدید (که ممکن است بر پاسخ ایمنی تأثیر بگذارد) و همچنین نوشیدن مایعات الکلی و کافئین دار از شب قبل از اجرای آزمون خودداری کنند.

اندازه گیریهای بدن سنجی و ترکیب بدنی

به هر آزمودنی روز و ساعت مراجعه به محل برگزاری آزمون ابلاغ شد. بر این اساس، هر آزمودنی طبق برنامه زمان بندی و روز تعیین شده به محل برگزاری آزمون مراجعه کرد. در روزهای اندازه گیری، همه آزمودنیهای از دستور صبحانه یکسان در ساعت ۷ صبح پیروی کردند. همه اندازه گیریها توسط یک آزمونگر واحد انجام شد. در ابتدا قد و وزن آزمودنیها به ترتیب با دقت ۰/۱ سانتی متر و ۰/۱ کیلوگرم با استفاده از ترازو و قد سنج SECA ساخت کشور آلمان اندازه گیری شد. متغیرهای ترکیب بدنی نیز با استفاده از دستگاه تحلیل کننده ترکیب بدنی BoCa X1 ساخت کشور کره جنوبی مورد ارزیابی قرار گرفت. ویژگیهای توصیفی آزمودنیها در جدول ۱ ارائه شده است.

پروتکل تمرین ورزشی فزاینده

ما از پروتکل اصلاح شده بروس بر روی تردید میل (MBTP: Modified Bruce treadmill protocol) به عنوان مدلی از تمرین ورزشی فزاینده استفاده کردیم (۲۹). این پروتکل برای هر یک از آزمودنیها بر روی تردید میل تکنوجیم ساخت کشور ایتالیا انجام شد. این آزمون با سرعت ۲/۷ کیلومتر در ساعت و بدون شیب آغاز شد. بر اساس پروتکل آزمون، در سه مرحله اول اجرای آزمون سرعت تردید میل ثابت بود و شیب دستگاه در مرحله اول صفر و در مراحل دوم و سوم ۵ درصد افزایش یافت. با شروع مرحله چهارم هم سرعت و هم شیب دستگاه با توجه به پروتکل آزمون افزایش یافت. مدت زمان هر مرحله نیز ۳ دقیقه بود (۳۰). این آزمون تا زمانی ادامه داشت که آزمودنی قادر به ادامه آن نبود. زمان در پایان اجرای پروتکل ثبت شد و سپس حداکثر اکسیژن

استرس اکسیداتیو و التهاب مزمن در فرایند زوال سیستم ایمنی و همچنین تأثیر MPO به عنوان آنزیم کلیدی نوتروفیلها در ایجاد آسیب اکسیداتیو، هدف تحقیق حاضر این است که با اعمال یک وهله تمرین ورزشی فزاینده به افراد میانسال شرکت کننده در تمرینات منظم ورزش همگانی و گروه همسالان بدون تمرین، تغییرات عملکرد نوتروفیلی و سطوح میلوپراکسیداز آنها را مورد بررسی قرار دهد و همچنین با اندازه گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC: Total antioxidant capacity) به نقش این متغیرها در تولید استرس اکسیداتیو و قابلیت مقابله با آن در مردان میانسال دارای سابقه تمرین بدنی (تمرین کرده) و بدون سابقه تمرین بدنی (بدون تمرین) بپردازد. علاوه بر آن، به این سؤال مهم پاسخ داده شود که آیا شرکت در تمرینات منظم ورزش همگانی می تواند منجر به تغییرات مطلوب در عملکرد نوتروفیلها، سطوح میلوپراکسیداز و ظرفیت آنتی اکسیدانی این افراد شود یا خیر؟ و اینکه آیا این تغییرات باعث محافظت در برابر عواقب یک چالش اکسیداتیو متفاوت از آنچه بر اثر تمرین و فعالیت بدنی معمول آنها به وجود می آید، خواهد شد؟

مواد و روشها

اجرای این مطالعه با شناسه IR.IAU.RASHT.REC.1399.020 در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت و کدهای شماره IRCT20200625047919N2 و شماره IRCT20200625047919N1 در مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران (IRCT) مورد تأیید قرار گرفته است.

آزمودنیها

تعداد ۳۷ نفر از داوطلبان مرد میانسال سالم شامل ۲۰ نفر دارای سابقه تمرین بدنی (سن $53/85 \pm 2/94$ سال) و ۱۷ نفر بدون سابقه تمرین بدنی (سن $54/17 \pm 2/83$ سال) برای شرکت در این مطالعه انتخاب شدند. نمونهها از طریق فراخوان و به صورت داوطلبانه در این پژوهش شرکت کردند. معیار مشخص برای ورود به مطالعه، شرکت منظم در فعالیتهای ورزشی حداقل ۳ روز در هفته در یک سال اخیر برای گروه تمرین کرده و عدم شرکت در فعالیتهای ورزشی در یک سال اخیر برای گروه بدون تمرین بود. معیارهای خروج از مطالعه نیز شامل این موارد بودند: کشیدن سیگار، آسیب اسکلتی عضلانی یا سایر شرایطی که از فعالیت روزانه جلوگیری می کند، ابتلا به بیماری متابولیک یا قلبی عروقی و استفاده از مکملهای آنتی اکسیدانی یا داروهایی که ممکن است بر نتایج تأثیر بگذارد. آزمودنیهای تمرین کرده از بین

اندازه گیری متغیرها در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

اندازه گیری‌های بیوشیمیایی

پارامترهای سلولی خون مانند شمارش سلول‌های سفید از جمله نوتروفیل‌ها، توسط دستگاه سل کانتر Sysmex مدل KX21 ساخت کشور ژاپن انجام شد. شمارش افتراقی سلول‌ها نیز به وسیله لام خون محیطی برای هر یک از نمونه‌ها چک شد. اندازه گیری سطوح MPO و TAC توسط کیت‌های آنزیمی (شرکت کیا زیست، همدان، ایران) به روش رنگ سنجی (کالریمتری) و توسط دستگاه ELISA Reader با نام تجاری Medispec مدل ERS 200 ساخت کشور آمریکا انجام شد و نتایج به ترتیب در طول موج‌های ۴۰۵ نانومتر و ۴۵۰ نانومتر خوانش شد. همه ارزیابی‌ها بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت‌ها انجام شد.

تحلیل آماری

نتایج آمار توصیفی به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شد. به منظور تحلیل استنباطی، ابتدا از آزمون شاپیرو - ویلک برای مشخص شدن طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. سپس برای تحلیل متغیرهای تحقیق از آزمون ANOVA چند متغیره 2×3 و آزمون تعقیبی بونفونی استفاده شد. برای انجام کلیه محاسبات آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها

تأثیر تمرین ورزشی فزاینده بر سطوح نوتروفیل‌ها

به طور کلی همه آزمودنی‌ها (۳۷ نفر) یک وهله تمرین ورزشی فزاینده را بر روی تردمیل انجام دادند. همان گونه که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، در گروه تمرین کرده تفاوت معنی‌داری در سطوح نوتروفیل خون قبل از اجرای آزمون نسبت به بلافاصله پس از اجرای آزمون (پیش‌آزمون - پس‌آزمون $P \leq 0/002$)، قبل از اجرای آزمون نسبت به یک ساعت پس از اجرای آزمون (پیش‌آزمون - پیگیری $P \leq 0/001$) و بلافاصله پس از اجرای آزمون نسبت به یک

مصرفی آزمودنی‌ها به صورت غیر مستقیم و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۳۱):

$$VO_{2max} = 14.76 - (1.379 \cdot T) + (0.451 \cdot T_2) - (0.012 \cdot T_3)$$

(زمان پایان تست = T)

در طول اجرای آزمون، ضربان قلب آزمودنی‌ها با استفاده از ضربان سنج سینه ای مورد بررسی قرار گرفت. از آزمودنی‌ها درخواست شد تا میزان فشار وارده از تمرین ورزشی فزاینده را با استفاده از مقیاس ۲۰-۶ بورگ اعلام نمایند. این مقیاس در ابتدای جلسه بطور کامل برای هر یک از شرکت کنندگان توضیح داده شد (۳۲). در تمام مراحل آزمون پزشک ورزشی و تکنسین احیای قلبی ریوی در محل حضور داشتند.

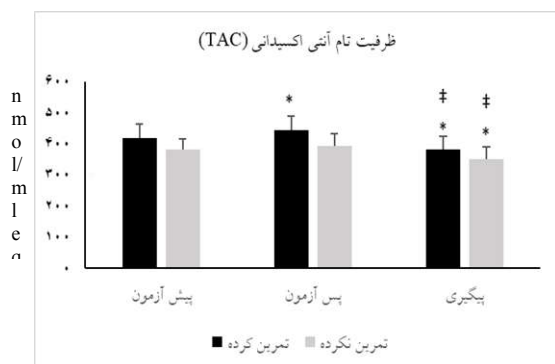
دریافت نمونه‌های خون

این تحقیق شامل سه مرحله دریافت نمونه خونی بود که نمونه خون مرحله اول پس از اندازه گیری‌های بدن سنجی و ترکیب بدنی و قبل از اجرای آزمون (پیش‌آزمون) توسط تکنسین آموزش دیده آزمایشگاه دریافت شد. سپس به ترتیب بلافاصله پس از اجرای آزمون (پس‌آزمون) و یک ساعت بعد از آن (پیگیری) نیز نمونه خون از آزمودنی‌ها دریافت شد. در هر مرحله از خونگیری، تکنسین آموزش دیده آزمایشگاه مقدار ۵ میلی لیتر خون از ورید میانی قدامی بازویی (Median Cubital Vein) و با استفاده از سرنگ و لوله خلاء خونگیری مخصوص CBC (Complete Blood Count) حاوی ماده ضد انعقاد اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA: Ethylene diamine tetra acetic acid) دریافت کرد. بلافاصله بعد از دریافت نمونه خونی، لوله‌های حاوی خون به مدت دو دقیقه توسط تکنسین آزمایشگاه به آرامی تکان داده شد تا محتویات آن یکنواخت شود و از لخته شدن خون جلوگیری به عمل آید. سپس نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه نمونه‌های خون دریافتی هر سه مرحله بلافاصله توسط دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند و سپس سرم توسط سمپلر جداسازی و در داخل میکروتیوپ‌های دیگر قرار گرفت و تا زمان

جدول ۱. ویژگی‌های توصیفی آزمودنی‌های تمرین کرده و بدون تمرین (میانگین \pm انحراف معیار)

| متغیرها | گروه تمرین کرده | گروه تمرین نکرده |
|---|------------------|-------------------|
| سن (سال) | ۵۳/۸۵ \pm ۲/۹۴ | ۵۴/۱۷ \pm ۲/۸۳ |
| قد (سانتیمتر) | ۱۷۷/۰ \pm ۵/۶ | ۱۷۵/۰ \pm ۵/۰ |
| وزن (کیلوگرم) | ۸۲/۰۰ \pm ۶/۵۱ | ۸۵/۹۴ \pm ۶/۲۷ |
| نمایه توده بدنی (BMI) (kg/m ²) | ۲۵/۴۷ \pm ۱/۶۰ | ۲۷/۸۳ \pm ۱/۱۱۷ |
| حداکثر اکسیژن مصرفی (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹) | ۴۵/۹۵ \pm ۴/۰۱ | ۳۳/۳۰ \pm ۳/۱۸ |

پیگیری وجود داشت ($P \leq 0/05$). اما این تفاوت در مقایسه زمانی پیش آزمون - پس آزمون معنی دار نبود. همچنین در گروه تمرین کرده در هیچ مقطع زمانی تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P \geq 0/05$). نتایج آزمون بین گروهی نیز نشان داد که در اثر اجرای تمرین ورزشی فزاینده، بین سطوح میلوپراکسیداز گروه تمرین کرده و تمرین نکرده در زمان پس آزمون ($P \leq 0/001$) و پیگیری ($P \leq 0/001$) تفاوت معنی داری وجود داشت، اما این تفاوت در زمان پیش آزمون ($P \geq 0/806$) معنی دار نبود (نمودار ۲).

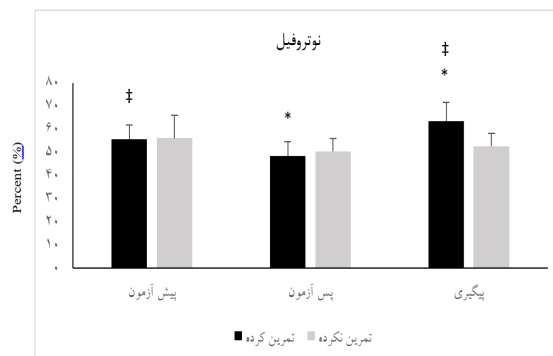


نمودار ۳. ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) در دو گروه تمرین کرده و تمرین نکرده قبل و در فواصل زمانی بعد از تمرین فزاینده ورزشی نشان دهنده افزایش معنی دار فعالیت آنتی اکسیدانی گروه تمرین کرده نسبت به گروه بدون تمرین است. * تفاوت معنی داری نسبت به پیش آزمون ($P < 0/05$); † تفاوت معنی دار نسبت به پس آزمون ($P < 0/05$); ‡ تفاوت معنی دار نسبت به پس آزمون ($P < 0/05$)

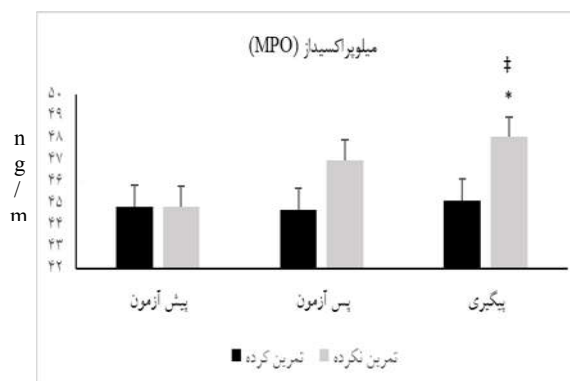
تأثیر تمرین ورزشی فزاینده بر ظرفیت تام آنتی اکسیدانی

نمودار ۳ نشان می دهد که به دنبال انجام یک وهله تمرین ورزشی فزاینده، در گروه تمرین کرده تفاوت معنی داری در ظرفیت تام آنتی اکسیدانی بین پیش آزمون - پس آزمون ($P \leq 0/022$)، پیش آزمون - پیگیری ($P \leq 0/001$) و پس آزمون - پیگیری ($P \leq 0/021$) مشاهده شد. همچنین تفاوت معنی داری در ظرفیت تام آنتی اکسیدانی بین پیش آزمون-پیگیری ($P \leq 0/001$) و پس آزمون-پیگیری ($P \leq 0/001$) در گروه تمرین نکرده دیده شد، اما این تفاوت در بین نتایج پیش آزمون و پس آزمون معنی دار نبود ($P \geq 1/000$). نتایج آزمون بین گروهی هم نشان داد که تفاوت معنی داری بین ظرفیت تام آنتی اکسیدانی دو گروه در زمان پیش آزمون ($P \leq 0/004$)، پس آزمون ($P \leq 0/001$) و پیگیری ($P \leq 0/001$) وجود داشت.

ساعت پس از اجرای آزمون (پس آزمون) - پیگیری وجود داشت، اما این تفاوت در گروه تمرین نکرده در هیچ زمانی معنی دار نبود ($P \geq 0/05$). همچنین نتایج آزمون بین گروهی نشان داد که در اثر اجرای تمرین ورزشی فزاینده، فقط در زمان پیگیری ($P \leq 0/001$) تفاوت معنی داری بین دو گروه تمرین کرده و تمرین نکرده وجود دارد، اما این تفاوت در زمان پیش آزمون ($P \geq 0/464$) و پس آزمون ($P \leq 0/323$) معنی دار نیست.



نمودار ۱. سطوح نوتروفیل در دو گروه تمرین کرده و تمرین نکرده قبل و در فواصل زمانی بعد از تمرین فزاینده ورزشی افزایش معنی داری را در مرحله پیگیری در گروه تمرین کرده نشان می دهد. * تفاوت معنی داری نسبت به پیش آزمون ($P < 0/05$); † تفاوت معنی دار نسبت به پس آزمون ($P < 0/05$); ‡ تفاوت معنی دار نسبت به پس آزمون ($P < 0/05$)



نمودار ۲. سطوح میلوپراکسیداز (MPO) در دو گروه تمرین کرده و بدون تمرین قبل و در فواصل زمانی بعد از تمرین فزاینده ورزشی، نشان دهنده افزایش معنی دار این آنزیم در گروه بدون تمرین نسبت به گروه تمرین کرده در مرحله پیگیری است. * تفاوت معنی داری نسبت به پیش آزمون ($P < 0/05$); † تفاوت معنی دار نسبت به پس آزمون ($P < 0/05$); ‡ تفاوت معنی دار نسبت به پس آزمون ($P < 0/05$)

تأثیر تمرین ورزشی فزاینده بر سطوح میلوپراکسیداز
در گروه تمرین نکرده تفاوت معنی داری در سطوح متغیر میلوپراکسیداز بین پیش آزمون - پیگیری، پس آزمون -

بحث

در پژوهش حاضر اثر یک وهله تمرین ورزشی فزاینده بر درصد نوتروفیل‌ها، فعالیت میلوپراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مردان میانسال سالم تمرین کرده و بدون تمرین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که به دنبال انجام تمرین ورزشی فزاینده، علیرغم افزایش معنی‌دار درصد نوتروفیل‌های گروه شرکت‌کننده در فعالیت‌های تمرینی منظم ورزش همگانی در مرحله پیگیری، این آزمودنی‌ها سطوح پائین تری از میلوپراکسیداز را در همه مراحل زمانی تجربه کردند که نشان دهنده سازگاری سیستم ایمنی با این روش تمرینی بود. در ضمن این گروه از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار بودند که می‌تواند کمک بسیاری مؤثری در مقابله با افزایش اکسیدان‌های ناشی از فعالیت سیستم ایمنی باشد.

تحقیقات مختلفی گزارش کردند که تمرین بدنی شدید با افزایش نوتروفیل‌های در گردش خون همراه است. پیکه و همکارانش (۲۰۱۷) یادآور شدند که یک وهله تمرین بدنی باعث ایجاد تغییرات در تعداد و ترکیب لکوسیت‌های خون می‌شود و همه زیرمجموعه‌های لکوسیت‌ها تمایل به افزایش دارند (۳۳). سوزوکی و یاماموتو (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که تمرین بدنی شدید تا مرز خستگی، فعالیت نوتروفیل‌ها را تسهیل کرده و موجب افزایش نوتروفیل‌ها در گردش خون سیستمی می‌شود (۳۴). اما یافته جالب توجه در تحقیق حاضر این بود که در گروه تمرین کرده، درصد نوتروفیل‌های پس‌آزمون نسبت به پیش‌آزمون کاهش معنی‌داری داشت ($P \leq 0.002$)، اما در مرحله پیگیری افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P \leq 0.001$). در این راستا، نوز و همکارانش (۲۰۱۵) گزارش کردند که یک وهله تمرین بدنی با شدت زیاد تأثیر حادی بر نوتروفیل‌های آزمودنی‌های جوان، سالم و تمرین کرده نداشت، ولی پس از دو ساعت افزایش نوتروفیل‌ها مشاهده شد (۳۵). همسو با این نتایج، جامورتاس و همکارانش (۲۰۱۸) نیز مشاهده کردند که در آزمودنی‌های جوان و سالم، بلافاصله پس از یک وهله تمرین اینتروال با حجم کم و شدت زیاد و همچنین یک وهله تمرین تداومی، مقادیر گرانولوسیت‌ها (Granulocytes) از جمله نوتروفیل‌ها نسبت به سطوح پایه به طور معنی‌داری کاهش پیدا کردند (۳۶). از سوی دیگر، فر و همکارانش (۲۰۱۸) با بررسی برنامه تمرینی اوقات فراغت افراد میانسال و سالمند گزارش کردند که فعالیت بیشتر در تمرینات بدنی اوقات فراغت با کاهش مجموع تعداد لکوسیتها،

نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها همراه بوده است (۳۷). نتایج این گزارش تا حدودی هم راستا با نتایج تحقیق اویا و همکارانش (۲۰۱۸) نیز هست که عنوان می‌کنند در مردان میانسال سالم، با افزایش انرژی مصرفی تمرین بدنی، تعداد گلبول‌های سفید و نوتروفیل‌ها که نشان دهنده وضعیت التهاب مزمن هستند، کاهش می‌یابند (۳۸).

یک توضیح بالقوه در مورد کاهش معنی‌دار درصد نوتروفیل‌های پس‌آزمون در گروه تمرین کرده این است که دوره‌های حاد تمرینی قادر به پاکسازی انتخابی سلول‌های ایمنی ناکارآمد هستند. اگر تمرین بدنی نوتروفیل‌های ناکارآمد را به طور حاد از سیستم پاک کند، باعث بهبود عملکرد نوتروفیل‌های کارآمد باقیمانده در طولانی مدت می‌شود (۳۹). در راستای حذف نوتروفیل‌های ناکارآمد، سی‌یو و همکارانش (۲۰۱۱) گزارش کردند که یک وهله تمرین بدنی شدید می‌تواند منجر به آپوپتوز (Apoptosis) نوتروفیلی و کاهش تعداد نوتروفیل‌ها پس از تمرین بدنی شود، زیرا تمرین بدنی حاد شدید سطح ROS سیتوزولی نوتروفیل را افزایش می‌دهد و در نتیجه آپوپتوز نوتروفیل را تسریع می‌کند (۴۰). از سوی دیگر، به نظر می‌رسد که به دنبال اجرای یک پروتکل تمرین بدنی وامانده ساز، نوتروفیل‌ها با سلول‌های اندوتلیال ارتباط برقرار می‌کنند و به بافت عضلانی منتقل می‌شوند. بنابراین، یک محرک فیزیولوژیکی مانند تمرین بدنی باعث هجوم لکوسیت‌ها (علامت مشخص التهاب) به عضله می‌شود (۴۱). فعال شدن تار عضلانی باعث تولید عوامل پیش‌التهابی و سایتوکاین‌هایی مانند فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF- α)، IL-1 β ، IL-6 و IL-8 می‌شود که نوتروفیل‌های در گردش را به ناحیه آسیب جذب و مسیر سیگنالی‌نگ نفوذ نوتروفیل‌ها را تحریک می‌کنند (۴). کوانیشی و همکارانش (۲۰۱۶) نیز با مطالعه بر روی موش‌ها گزارش کردند که تمرین بدنی وامانده ساز باعث افزایش قابل توجه نفوذ نوتروفیل‌ها به عضلات فعال می‌شود (۴۲). از این رو این احتمال وجود دارد که در تحقیق حاضر، به دنبال تمرین فزاینده ورزشی و نفوذ سریع نوتروفیل‌ها به بافت آسیب دیده، درصد این سلول‌ها در گردش خون کاهش پیدا کرده و منجر به کاهش سطوح نوتروفیلی نمونه خون پس‌آزمون شده باشد. نکته دیگر اینکه ما نمونه گیری خون در حین اجرای تمرین بدنی نداشتیم و چه بسا در دقایقی از تمرین این افزایش نوتروفیل‌ها وجود داشته است.

از آنجا که MPO آنزیم اصلی نوتروفیل‌های فعال شده محسوب می‌شود، بنابراین بسیاری از تحقیقات ارتباط معنی‌داری را بین افزایش نوتروفیل‌ها و افزایش مقادیر MPO

عدم تفاوت معنی‌دار سطوح نوتروفیلی آنها، در عدم شرکت آنان در فعالیت‌های تمرینی و در نتیجه وضعیت عملکردی نامناسب نوتروفیل‌های آنها نهفته باشد. البته باید توجه داشت که تغییر در عملکرد نوتروفیل‌ها بر اثر تمرین بدنی، ممکن است ناشی از تغییر در نسبت نوتروفیل‌های نابالغ و بالغ باشد که در تحقیق حاضر به آن پرداخته نشده است (۵۰).

نتایج تحقیق حاضر در مورد متغیر ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی نشان داد که انجام تمرین ورزشی فزاینده باعث ایجاد تفاوت‌های معنی‌دار ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در هر دو گروه تمرین کرده و بدون تمرین شد ($P < 0/05$). همچنین مقایسه بین گروه‌ها نشان داد که گروه تمرین کرده نسبت به گروه بدون تمرین در تمام مراحل زمانی پیش‌آزمون ($P \leq 0/01$)، پس‌آزمون ($P \leq 0/01$) و پیگیری ($P \leq 0/01$) از ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار بود. همسو با این یافته‌ها بوزید و همکارانش (۲۰۱۸) با مطالعه بر روی گروه‌های جوان و سالمند بدون تمرین و تمرین کرده، دریافتند که در هنگام استراحت سطوح آنتی‌اکسیدانی گروه‌های جوان و سالمند تمرین کرده نسبت به گروه همسالان بدون تمرین بالاتر است. این تفاوت معنی‌دار پس از اجرای تمرین ورزشی فزاینده تا مرز خستگی نیز مشاهده شد (۵۱). در همین راستا، کوزاکیه و یکس و همکارانش (۲۰۱۹) با تحقیق بر روی گروه‌های سالمند جوان (۷۴-۶۵ ساله) غیرفعال و فعال، دریافتند که تمام فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سنجش شده در گروه فعال به طور معنی‌داری نسبت به گروه غیرفعال بیشتر بود. بنابراین نتیجه گرفتند که فعالیت بدنی می‌تواند با افزایش ظرفیت‌های آنتی‌اکسیدانی، باعث کاهش علائم استرس اکسیداتیو شود (۵۲).

نتایجی نیز با تحقیق بر روی نمونه‌های حیوانی به دست آمده که همسو با نتایج این تحقیق است. به طور مثال، گوتیانوس و همکارانش (۲۰۲۰) گزارش کردند که یک وهله تمرین وامانده ساز شنا باعث افزایش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی موش‌های نر و بیستار بزرگسال تمرین کرده در مقایسه با موش‌های بدون تمرین می‌شود (۵۳). همچنین رامز و همکارانش (۲۰۱۹) نیز گزارش کردند که ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی موش‌های نر و بیستار گروه تمرین کرده پس از پایان مداخله تمرینی به طور معنی‌داری نسبت به گروه بدون تمرین افزایش یافت (۵۴). اما بر خلاف نتایج فوق، پارک و کواک (۲۰۱۶) دریافتند که پس از اجرای یک وهله تمرین فزاینده ورزشی تا مرز خستگی بر روی تردمیل، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی گروه‌های تمرین کرده و بدون تمرین به طور معنی‌داری کاهش داشته است.

گزارش کرده‌اند (۴۳، ۴۴). در تحقیق حاضر نیز ما دریافتیم که در همه مراحل زمانی پس از تمرین ورزشی فزاینده، گروه بدون تمرین از سطوح بالاتری از میلوپراکسیداز برخوردار بود و افزایش معنی‌داری را نسبت به مردان تمرین کرده نشان داد ($P < 0/05$). این نتیجه همسو با نتایج به دست آمده توسط موروزوف و همکارانش (۲۰۰۶) است. آنها نیز دریافتند که یک وهله تمرین بدنی شدید وامانده ساز افزایش بیشتری را در محتوای میلوپراکسیداز افراد بدون تمرین نسبت به افراد تمرین کرده ایجاد می‌کند (۴۵). در این راستا هولز و همکارانش (۲۰۱۵) عنوان کردند که شیوه زندگی فعال به طور بالقوه می‌تواند غلظت میلوپراکسیداز را کاهش دهد و آن را نشانه‌ای از مزایای تمرین و فعالیت بدنی دانستند (۴۶). فونسکا و همکارانش (۲۰۱۶) نیز با مطالعه نمونه‌های حیوانی دریافتند مقادیر میلوپراکسیداز در پاسخ به تمرین بدنی شدید بر روی تردمیل نسبت به زمان استراحت افزایش معنی‌داری داشته است (۴۴). اما با وجود افزایش سطوح میلوپراکسیداز افراد بدون تمرین پس از فعالیت ورزشی فزاینده، درصد نوتروفیل‌ها در گروه بدون تمرین در تمام مراحل زمانی پس از تمرین بدنی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و بنابراین عدم تفاوت معنی‌دار مقادیر نوتروفیل‌ها با افزایش معنی‌دار سطوح میلوپراکسیداز متعاقب تمرین ورزشی فزاینده همخوانی نداشت. مرور تحقیقات انجام شده توضیح روشنی را در این زمینه ارائه نمی‌دهد. اما فیکو و همکارانش (۲۰۱۸) گزارش کردند که تمرین بدنی با شدت زیاد ممکن است به طور بالقوه باعث کاهش رها سازی میانجی‌های التهابی مانند میلوپراکسیداز در مقایسه با تمرین هوازی با شدت متوسط شود (۴۷). وندر واپور و همکارانش (۲۰۱۶) نیز پیشنهاد کردند که سنتز MPO خیلی سریع‌تر از رها سازی آن اتفاق می‌افتد و یا حتی سنتز آن بدون رها سازی نیز رخ می‌دهد (۴۸). همچنین بوری و پیرنی (۱۹۹۵) نیز اعلام کردند که افزایش سطوح میلوپراکسیداز ارتباطی با شدت و مدت تمرین بدنی ندارد و این افزایش مستقل از هجوم و تحرک نوتروفیل‌ها است. از این رو پیشنهاد کردند که افزایش سطوح میلوپراکسیداز فقط به افزایش تعداد نوتروفیل‌های در گردش خون بستگی ندارد، بلکه ممکن است بیانگر تغییراتی در "وضعیت عملکرد" نوتروفیل‌ها نیز باشد (۴۹). بنا بر این به نظر می‌رسد که شیوه زندگی غیرفعال می‌تواند بر عملکرد نوتروفیل‌ها تأثیر منفی داشته باشد. همچنین ممکن است دلیل بالاتر بودن سطوح میلوپراکسیداز پس از تمرین بدنی در آزمودنی‌های بدون تمرین نسبت به گروه تمرین کرده علیرغم

پراکسیداسیون چربی می‌توانند فاکتورهای رونویسی را فعال کنند. این محصولات می‌توانند Nrf2 را فعال کرده و موجب افزایش بایوژنز میتوکندریایی و ارتقاء دفاع آنتی‌اکسیدانی شوند (۵۹).

اگرچه در تحقیق حاضر برنامه مدت‌دار تمرین بدنی برای آزمودنی‌های گروه تجربی تجویز نشد، اما با توجه به اینکه این افراد در برنامه منظم تمرینات ورزش همگانی شرکت می‌کنند، این احتمال وجود دارد که هر جلسه تمرینی آنها شدت لازم را برای ایجاد استرس اکسیداتیو کافی به منظور بروز تغییرات گذرا در جهت ایجاد سازگاری و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها داشته است. بنابراین، می‌توانیم فرض کنیم که هر جلسه تمرین بدنی تأثیری اندک اما معنی‌داری بر عملکرد پایه آنان داشته که به مرور زمان باعث بهبود و پیشرفت آن شده است.

در رابطه با ناهمسو بودن برخی از نتایج این تحقیق با سایر مطالعات انجام شده نیز باید اشاره کرد که وجود چنین تناقضاتی ممکن است به دلیل استفاده از شاخص‌های بیوشیمیایی یا سلولی مختلف، تنوع در شدت و نوع فعالیت و همچنین پروتکل‌های مختلف تمرین بدنی باشد که توسط محققین اعمال می‌شود و می‌تواند الگوهای متفاوتی از تعادل اکسیدانی-آنتی‌اکسیدانی را فعال کند و منجر به ارائه پاسخهای متفاوتی در مورد آسیب سلولی شود (۶۵، ۶۶). در نهایت باید اذعان داشت که روش شناسی برای استاندارد کردن تأثیر تمرین بدنی تا حدودی مشکل است و به طور عمده تحت تأثیر ناهمگونی گروه‌های آزمایشی قرار می‌گیرد (۵۲).

هر چند که در تحقیق حاضر با محدودیت نمونه‌ها مواجه بودیم اما با جمع بندی نتایج، یافته‌های ما نشان داد که افراد شرکت کننده در فعالیت‌های منظم ورزش همگانی نسبت به افراد بدون تمرین، از عملکرد نوتروفیلی بهتری برخوردار بوده و سطوح کمتری از میلوپراکسیداز را پس از تمرین بدنی تجربه می‌کنند و بنظر می‌رسد که این موضوع می‌تواند آنان را در برابر اثرات نامطلوب فعالیت میلوپراکسیداز از قبیل آسیب بافتی در هنگام تمرین بدنی و افزایش سطوح آسیب اکسیداتیو محافظت کند. همچنین، از آنجا که آزمودنی‌های تمرین کرده در تحقیق حاضر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را نسبت به گروه بدون تمرین از خود نشان دادند، بنابراین می‌توان چنین عنوان کرد که احتمالاً تمرین بدنی منظم باعث ایجاد سازگاری‌های مناسبی در ارتقاء ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برای پاک‌سازی عوامل اکسیدانی در این گروه نسبت به گروه بدون تمرین شده است. بنابراین پیشنهاد می‌شود که تحقیق

این حال، گروه بدون تمرین نسبت به گروه‌های تمرین کرده کاهش بیشتری را نشان داده است (۵۵).

در راستای وجود ظرفیت‌های بالاتر آنتی‌اکسیدانی در گروه تمرین کرده نسبت به گروه بدون تمرین، شاید بتوان ریشه این تفاوت را در عوامل مختلفی بررسی کرد که از جمله این عوامل می‌توان به سازگاری‌های ایجاد شده در میتوکندری گروه تمرین کرده نسبت به گروه بدون تمرین چه از طریق ایجاد سوپرکمپلکس‌ها (Mitochondrial Supercomplex) در میتوکندری (۵۶) و یا تحریک آبشار بایوژنز میتوکندریایی (Mitochondrial biogenesis) در پاسخ به تمرین (۵۷) از طریق تنظیم بالا دستی بیان ژن PGC-1 α (Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 α) اشاره کرد. ایجاد سوپر کمپلکس‌ها در میتوکندری متعاقب شرکت در فعالیت‌های استقامتی، موجب افزایش محتوای میتوکندری و کاهش فاصله مورد نیاز برای انتقال الکترون از یک کمپلکس به کمپلکس دیگر شده، که باعث افزایش بهره‌وری حمل الکترون و محدود شدن تولید ROS می‌شود (۵۸). نکته مهم اینکه، انباشت PGC-1 α پس از هر وهله تمرین بدنی برای دستیابی به این اثرات سودمند، ضروری است (۵۹). توضیح احتمالی دیگر وجود مایوکین‌های (Myokines) آزاد شده مانند مایوستاتین (Myostatin) و آیریزین (Irisin) در هنگام تمرین بدنی است (۶۰). مایوکین‌های آزاد شده در هنگام فعالیت تمرینی، بیان ژن‌های وابسته به ROS و همچنین فعالیت فاکتورهای رونویسی از قبیل Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) را کنترل می‌کنند (۶۱، ۶۲). افزایش گذرای ROS ناشی از وهله‌های تمرین بدنی باعث فعال سازی فاکتور رونویسی Nrf2 می‌شود (۲۶). Nrf2 فعال شده به هسته منتقل شده و در آنجا پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی را بیان می‌کند (۶۳). عباسی و همکارانش (۱۳۹۷) دریافتند که سطوح پلاسمایی Nrf2 مردان جوان سالم و بدون تمرین پس از ۸ هفته تمرین همزمان نسبت به گروه بدون تمرین افزایش معنی‌داری داشته است و نتیجه گرفتند که این موضوع می‌تواند منجر به سرکوب رادیکال‌های آزاد و افزایش ظرفیت ضد اکسیدانی شود (۶۴). در نمونه‌های جوندگان نیز نشان داده شده است که ورزش هوازی منظم سیگنالینگ Nrf2 را در بافت‌های مختلف از جمله عضله اسکلتی، کلیه، مغز، کبد و میوکارد فعال می‌کند و این موضوع منجر به تنظیم مثبت دفاع آنتی‌اکسیدانی درون‌زا و توانایی کلی بیشتر در مقابله با اثرات مخرب استرس اکسیداتیو می‌شود. همچنین مشخص شده است که محصولات

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه دکتری گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت است. محققین از همکاری صمیمانه آزمایشگاه دانا، جناب آقای دکتر عباس نداد فهمیده، سرکار خانم مرجان نامدار و سایر همکاران محترم این آزمایشگاه تشکر و قدردانی می‌کنند.

مشابهی در مورد زنان میانسال سالم نیز انجام شود تا تأثیر جنسیت نیز بر این متغیرها مشخص شود. همچنین از نتایج این تحقیق می‌توان در تنظیم برنامه‌های ورزش همگانی و به عنوان یک روش غیردارویی برای ارتقاء سطح سلامت جامعه استفاده کرد.

REFERENCES

1. Silveira LS, Antunes Bde M, Minari AL, Dos Santos RV, Neto JC, Lira FS. Macrophage Polarization: Implications on Metabolic Diseases and the Role of Exercise. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2016;26:115-32.
2. Vida C, Martinez de Toda I, Garrido A, Carro E, Molina JA, De la Fuente M. Impairment of Several Immune Functions and Redox State in Blood Cells of Alzheimer's Disease Patients. Relevant Role of Neutrophils in Oxidative Stress. *Front Immunol* 2018;8:1974.
3. Vida C, de Toda IM, Cruces J, Garrido A, Gonzalez-Sanchez M, De la Fuente M. Role of macrophages in age-related oxidative stress and lipofuscin accumulation in mice. *Redox Biol* 2017;12:423-437.
4. Terra R, da Silva SAG, Pinto VS, Dutra PML. Effect of exercise on the immune system: cell response, adaptation and signaling. *Rev Bras Med Esport* 2012;18:208-2014.
5. Xie K, Varatnitskaya M, Maghnouj A, Bader V, Winklhofer KF, Hahn S, Leichert LI. Activation leads to a significant shift in the intracellular redox homeostasis of neutrophil-like cells. *Redox Biol* 2020;28:101344.
6. Vlasova II. Peroxidase Activity of Human Hemoproteins: Keeping the Fire under Control. *Molecules* 2018;23:2561.
7. Vlasova II, Sokolov AV, Kostevich VA, Mikhalechik EV, Vasilyev VB. Myeloperoxidase-Induced Oxidation of Albumin and Ceruloplasmin: Role of Tyrosines. *Biochemistry (Mosc)* 2019;84:652-662.
8. Ren M, Zhou K, He L, Lin W. Mitochondria and lysosome-targetable fluorescent probes for HOCl: recent advances and perspectives. *J Mater Chem B* 2018;6:1716-1733.
9. Khan AA, Alsahli MA, Rahmani AH. Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives. *Med Sci (Basel)* 2018;6:33.
10. Groussard C, Maillard F, Vazeille E, Barnich N, Sirvent P, Otero YF, et al. Tissue-Specific Oxidative Stress Modulation by Exercise: A Comparison between MICT and HIIT in an Obese Rat Model. *Oxid Med Cell Longev* 2019;2019:1965364.
11. Golbidi S, Ebadi SA, Laher I. Antioxidants in the treatment of diabetes. *Curr Diabetes Rev* 2011;7:106-25.
12. Sies H. On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development. *Current Opinion in Toxicology* 2018;7:122-126.
13. Peña-Bautista C, Baquero M, Vento M, Cháfer-Pericás C. Free radicals in Alzheimer's disease: Lipid peroxidation biomarkers. *Clin Chim Acta* 2019;491:85-90.
14. Turner JE, Brum PC. Does Regular Exercise Counter T Cell Immunosenescence Reducing the Risk of Developing Cancer and Promoting Successful Treatment of Malignancies? *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:4234765.
15. Nieman DC, Wentz LM. The compelling link between physical activity and the body's defense system. *J Sport Health Sci* 2019;8:201-217.
16. Rowiński R, Kozakiewicz M, Kędziora-Kornatowska K, Hübner-Woźniak E, Kędziora J. Markers of oxidative stress and erythrocyte antioxidant enzyme activity in older men and women with differing physical activity. *Exp Gerontol* 2013;48:1141-6.
17. Gonçalves CAM, Dantas PMS, Dos Santos IK, Dantas M, da Silva DCP, Cabral BGAT, et al. Effect of Acute and Chronic Aerobic Exercise on Immunological Markers: A Systematic Review. *Front Physiol* 2020;10:1602.
18. Yıldızgören MT. How Exercise May Affect the Immune System Against COVID-19? *Turk J Sports Med* 2020;55:186-7.
19. Weyh C, Krüger K, Strasser B. Physical Activity and Diet Shape the Immune System during Aging. *Nutrients* 2020;12:622.
20. Bartlett DB, Fox O, McNulty CL, Greenwood HL, Murphy L, Sapey E, et al. Habitual physical activity is associated with the maintenance of neutrophil migratory dynamics in healthy older adults. *Brain Behav Immun* 2016;56:12-20.

21. Bartlett DB, Willis LH, Slentz CA, Hoselton A, Kelly L, Huebner JL, et al. Ten weeks of high-intensity interval walk training is associated with reduced disease activity and improved innate immune function in older adults with rheumatoid arthritis: a pilot study. *Arthritis Res Ther* 2018;20:127.
22. Brown WM, Davison GW, McClean CM, Murphy MH. A Systematic Review of the Acute Effects of Exercise on Immune and Inflammatory Indices in Untrained Adults. *Sports Med Open* 2015;1:35.
23. Isaacs AW, Macaluso F, Smith C, Myburgh KH. C-Reactive Protein Is Elevated Only in High Creatine Kinase Responders to Muscle Damaging Exercise. *Front Physiol* 2019;10:86.
24. Popovic LM, Mitic NR, Miric D, Bisevac B, Miric M, Popovic B. Influence of vitamin C supplementation on oxidative stress and neutrophil inflammatory response in acute and regular exercise. *Oxid Med Cell Longev* 2015;2015:295497.
25. Sellami M, Gasmi M, Denham J, Hayes LD, Stratton D, Padulo J, Bragazzi N. Effects of Acute and Chronic Exercise on Immunological Parameters in the Elderly Aged: Can Physical Activity Counteract the Effects of Aging?. *Front Immunol* 2018;9:2187.
26. Done AJ, Traustadóttir T. Aerobic exercise increases resistance to oxidative stress in sedentary older middle-aged adults. A pilot study. *Age (Dordr)* 2016;38:505-512.
27. Seifi-Skishahr F, Damirchi A, Farjaminezhad M, Babaei P. Physical Training Status Determines Oxidative Stress and Redox Changes in Response to an Acute Aerobic Exercise. *Biochem Res Int* 2016;2016:3757623.
28. Bouzid MA, Hammouda O, Matran R, Robin S, Fabre C. Influence of physical fitness on antioxidant activity and malondialdehyde level in healthy older adults. *Appl Physiol Nutr Metab* 2015;40:582-9.
29. Pescatello LS, Arena R, Riebe D, Thompson PD, Editors. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 9th Ed. Philadelphia, USA: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
30. Queensland Health. Queensland Health: Exercise Stress Testing. Document Number # QH-GDL-392:2013. Available from: https://www.health.qld.gov.au/__data/assets/pdf_file/0024/147624/qh-gdl-392.pdf
31. Gönülataş S. Analysis of Difference between the VO₂max Values in Field and Laboratory Tests. *Univers J Educ Res* 2018;6:1938-41.
32. Williams N. The Borg Rating of Perceived Exertion (RPE) scale. *Occup Med* 2017;67:404-405.
33. Peake JM, Neubauer O, Walsh NP, Simpson RJ. Recovery of the immune system after exercise. *J Appl Physiol* 2017;122:1077-87.
34. Suzuki K. Exhaustive Exercise-Induced Neutrophil-Associated Tissue Damage and Possibility of its Prevention. *J Nanomedicine Biotherapeutic Discov* 2017;7:156.
35. Neves PRDS, Tenório TRDS, Lins TA, Muniz MTC, Pithon-Curi TC, Botero JP, Do Prado WL. Acute effects of high- and low-intensity exercise bouts on leukocyte counts. *J Exerc Sci Fit* 2015;13:24-8.
36. Jamurtas AZ, Fatouros IG, Deli CK, Georgakouli K, Poullos A, Draganidis D, et al. The Effects of Acute Low-Volume HIIT and Aerobic Exercise on Leukocyte Count and Redox Status. *J Sports Sci Med* 2018;17:501-508.
37. Ferrer MD, Capó X, Martorell M, Busquets-Cortés C, Bouzas C, Carreres S, et al. Regular Practice of Moderate Physical Activity by Older Adults Ameliorates Their Anti-Inflammatory Status. *Nutrients* 2018;10:1780.
38. Oya J, Nakagami T, Naito Y, Endo Y, Uchigata Y. Association of Total and Differential White Blood Cell Counts with Physical Energy Expenditure. *J Tokyo Wom Med Univ* 2017; 87: 207-16.
39. Bartlett DB, Shepherd SO, Wilson OJ, Adlan AM, Wagenmakers AJM, Shaw CS, et al. Neutrophil and Monocyte Bactericidal Responses to 10 Weeks of Low-Volume High-Intensity Interval or Moderate-Intensity Continuous Training in Sedentary Adults. *Oxid Med Cell Longev* 2017;2017:8148742.
40. Syu GD, Chen HI, Jen CJ. Severe exercise and exercise training exert opposite effects on human neutrophil apoptosis via altering the redox status. *PLoS One* 2011;6:e24385.
41. Nunes-Silva A, Bernardes PT, Rezende BM, Lopes F, Gomes EC, Marques PE, et al. Treadmill exercise induces neutrophil recruitment into muscle tissue in a reactive oxygen species-dependent manner. An intravital microscopy study. *PLoS One* 2014;9:e96464.
42. Kawanishi N, Mizokami T, Niihara H, Yada K, Suzuki K. Neutrophil depletion attenuates muscle injury after exhaustive exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2016:1917-24.
43. Morozov VI, Pryatkin SA, Kalinski MI, Rogozkin VA. Effect of exercise to exhaustion on myeloperoxidase and lysozyme release from blood neutrophils. *Eur J Appl Physiol* 2003;89:257-62.

44. Fonseca RG, Kenny DA, McGivney BA, Murphy BA, Hill EW, Katz LM. Effect of training on plasma Myeloperoxidase concentrations measured before and following intense exercise in Thoroughbred racehorses. *Comp Exerc Physiol* 2016;12:17-25.
45. Morozov VI, Tsyplenkov PV, Golberg N D, Kalinski MI. The effects of high-intensity exercise on skeletal muscle neutrophil myeloperoxidase in untrained and trained rats. *Eur J Appl Physiol* 2006;97:716–22.
46. Holz O, Roepcke S, Watz H, Tegtbur U, Lahu G, Hohlfeld JM. Constant-load exercise decreases the serum concentration of myeloperoxidase in healthy smokers and smokers with COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2015;10:1393-402.
47. Fico BG, Whitehurst M, Slusher AL, Mock JT, Maharaj A, Dodge KM, et. al. The comparison of acute high-intensity interval exercise vs. continuous moderate-intensity exercise on plasma calprotectin and associated inflammatory mediator. *Physiol Behav* 2018;183:27-32.
48. van de Vyver M, Engelbrecht L, Smith C, Myburgh KH. Neutrophil and monocyte responses to downhill running: Intracellular contents of MPO, IL-6, IL-10, pstat3, and SOCS3. *Scand J Med Sci Sports* 2016;26:638-47.
49. Bury TB, Pirnay F. Effect of Prolonged Exercise on Neutrophil Myeloperoxidase Secretion. *Int J Sports Med* 1995;16:410- 2.
50. Davison G, Jones AW. Oral neutrophil responses to acute prolonged exercise may not be representative of blood neutrophil responses. *Appl Physiol Nutr Metab* 2015;40:298-301.
51. Bouzid MA, Filaire E, Matran R, Robin S, Fabre C. Lifelong Voluntary Exercise Modulates Age-Related Changes in Oxidative Stress. *Int J Sports Med* 2018;39:21-28.
52. Kozakiewicz M, Rowiński R, Kornatowski M, Dąbrowski A, Kędziora-Kornatowska K, Strachecka A. Relation of Moderate Physical Activity to Blood Markers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense in the Elderly. *Oxid Med Cell Longev* 2019;2019:5123628.
53. Goutianos G, Margaritelis NV, Sparopoulou T, Veskoukis AS, Vrabas IS, Paschalis V, et al. Chronic administration of plasma from exercised rats to sedentary rats does not induce redox and metabolic adaptations. *J Physiol Sci* 2020;70:3.
54. Ramez M, Nasirinezhad F, Rajabi H, Aboutaleb N, Naderi N. Short-term exercise training increases plasma levels of klotho and total antioxidant capacity in male Wistar rats. *J Shahrekord Uni Med Sci* 2019;21:25-30.
55. Park SY, Kwak YS. Impact of aerobic and anaerobic exercise training on oxidative stress and antioxidant defense in athletes. *J Exerc Rehab* 2016;12:113–7.
56. Huertas JR, Al Fazazi S, Hidalgo-Gutierrez A, López LC, Casuso RA. Antioxidant effect of exercise: Exploring the role of the mitochondrial complex I superassembly. *Redox Biol* 2017;13:477-481.
57. Nocella C, Cammisotto V, Pigozzi F, Borriore P, Fossati C, D'Amico A, et al. Impairment between Oxidant and Antioxidant Systems: Short- and Long-term Implications for Athletes' Health. *Nutrients* 2019;11:1353.
58. Greggio C, Jha P, Kulkarni SS, Lagarrigue S, Broskey NT, Boutant M, et al. Enhanced Respiratory Chain Supercomplex Formation in Response to Exercise in Human Skeletal Muscle. *Cell Metab* 2017;25:301-311.
59. Louzada RA, Bouviere J, Matta LP, Werneck-de-Castro JP, Dupuy C, Carvalho DP, Fortunato RS. Redox Signaling in Widespread Health Benefits of Exercise. *Antioxid Redox Signal* 2020;33:745-760.
60. Lee JH, Jun HS. Role of Myokines in Regulating Skeletal Muscle Mass and Function. *Front Physiol* 2019;10:42:9.
61. Chen RR, Fan XH, Chen G, Zeng GW, Xue YG, Liu XT, Wang CY. Irisin attenuates angiotensin II-induced cardiac fibrosis via Nrf2 mediated inhibition of ROS/TGFβ1/Smad2/3 signaling axis. *Chem Biol Interact* 2019;302:11–21.
62. Kitaoka Y, Takeda K, Tamura Y, Hatta H. Lactate administration increases mRNA expression of PGC-1α and UCP3 in mouse skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab* 2016;41:695–8.
63. Thirupathi A, Pinho, RA. Effects of reactive oxygen species and interplay of antioxidants during physical exercise in skeletal muscles. *J Physiol Biochem* 2018;74:359–67.
64. Abbasi S, Avandi SM, Haghshenas R. The effect of eight weeks Concurrent training on plasma levels of NRF2 in young men. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology (JAHSSP)* 2018;5:78-83. [In Persian]
65. Wiecek M, Maciejczyk M, Szymura J, Szygula Z. Effect of maximal-intensity exercise on systemic nitro-oxidative stress in men and women. *Redox Rep* 2017;22:176-82.
66. Carraro E, Schilirò T, Biorci F, Romanazzi V, Degan R, Buonocore D, et al. Physical Activity, Lifestyle Factors and Oxidative Stress in Middle Age Healthy Subjects. *Int J Environ Res Public Health* 2018;15:1152.

Effects of optimized photorefractive keratectomy (PRK) operation on the asphericity and high-order aberration changes

Ali Zare Joshaghani¹, Alireza Baradaran Rafii², Farhad Adhami Moghaddam³

1. Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences Branch, Tehran, Iran

2. Ophthalmic Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3. Department of Ophthalmology, School of Medicine, Islamic Azad University Tehran Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background: Optimized is a common and important method in which aberrations are created by the device and the surgeon, but high-grade aberrations are out of the surgeon's control and are induced by the device in the patient. The aim of this study was the evaluation of out-of-control high-order aberration changes before and after PRK surgery and these impact on vision outcome.

Materials and methods: In this before and after clinical trial study, we recruited 24 patients consist of 48 eyes. For the patients with myopic astigmatism, before the operation, a complete visual examination (visual acuity, refraction, etc.) and imaging including orbiscan, zywave, and topolyzer were performed and tests were repeated six months after surgery. The results were compared before and after surgery.

Results: 24 patients included 8 males (33.3%) and 16 females (66.7%) with a mean age of 29 ± 5 years recruited in the study. The total higher-order aberration increased after operation. There was no significant difference between the third and fourth-order corneal aberrations before and after the operation. The ocular and corneal high-order aberration was increased. Mean asphericity was similar before and after the operation. Also, significant correlations among spherical equivalent, total high order aberration, and ocular aberration were found.

Conclusion: Regarding our study, eye sporadic defect improved after the operation but it would never achieve the optimal goal. According to the findings, it seems that the optimized method with the Allegretto EX500 device, despite its superiority over the conventional method, still induces high-grade aberrations and changes the asphericity from prolate to oblate mode. However, it improves refraction, which affects the quality of patients' vision.

Keywords: Asphericity, High-order aberration, Optimized PRK.

Cited as: Ali Zare Joshaghani, Alireza Baradaran Rafii, Farhad Adhami Moghaddam. Effects of Optimized photorefractive keratectomy (PRK) operation on the asphericity and high-order aberration changes. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): 425-431.

Correspondence to: Farhad Adhami Moghaddam

Tel: +98 9121301060

E-mail: farhad.adhami@gmail.com

ORCID ID: 0000-0003-4811-443x

Received: 11 May 2021; **Accepted:** 17 Aug 2021

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی

دوره ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۴۲۵ تا ۴۳۱

تغییرات آسفریستی و ابیراهی های رده بالا چشم در عمل کراتکتومی فوتورفرکتیو (PRK)

علی زارع جوشقانی^۱، علی رضا برادران رفیعی^۲، فرهاد ادهمی مقدم^۳

^۱ باشگاه پژوهشگران جوان، دانشکده پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران

^۲ بخش چشم، بیمارستان لبافی نژاد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

^۳ بخش چشم، دانشکده پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *Optimized* روش رایجی است که در آن ابیراهی های رده بالا توسط دستگاه در بیمار القا می شود. هدف از انجام این مطالعه بررسی میزان ابیراهی های رده بالا القا شده خارج از کنترل جراح و تاثیر آن بر نتایج بینایی بعد از عمل کراتکتومی فوتورفرکتیو (PRK) بود.

روش بررسی: در کارآزمایی بالینی *Before and after treatment* تعداد ۲۴ بیمار شامل ۴۸ چشم وارد مطالعه شدند. برای کلیه بیماران قبل و ۶ ماه بعد از عمل اورب اسکن، اندازه گیری ابیراهی های چشمی، قرنیه و اسفریستی با توپولا زیر ارزیابی شد.

یافته ها: بیماران شامل ۸ مرد و ۱۶ زن با میانگین سنی 29 ± 5 سال بودند. ابیراهی های کلی رده بالای چشمی پس از عمل افزایش پیدا کرد و بین ابیراهی های قرنیه ای و چشمی رده سوم و چهارم زرنیکه قبل و پس از عمل تفاوت معنی داری مشاهده نشد. ابیراهی کروی قرنیه ای و چشمی افزایش یافت. میانگین آسفریستی قبل و بعد از عمل مشابه بود. همچنین رابطه معنی داری بین مقدار اکی والان اسفر و ابیراهی های رده بالای کل و ابیراهی کروی یافت شد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج مطالعه حاضر، پس از عمل اختلالات انکساری چشم بیمار بهبود می یابد، ولی با القای ابیراهی های رده بالا به حالت ایده آل و بدون اختلال نمی رسد، هرچند سبب بهبود رفرکشن می شود که بر کیفیت بینایی بیماران اثرگذار است. با توجه به یافته های موجود به نظر می رسد روش *optimized* علی رغم برتری بر روش مرسوم کماکان موجب القای ابیراهی های رده بالا و تغییر آسفریستی از حالت *prolate* به *oblate* می شود.

واژگان کلیدی: عمل PRK، ابیراهی رده بالا، بیمار مایوپ آستیگمات.

مقدمه

۲۳/۹٪ از موارد را در چشم انسان شامل می شود. درمان عیوب انکساری شامل عینک، لنز تماسی و جراحی است. البته ما می توانیم از ترکیبی از این درمان ها نیز استفاده کنیم (۱). جراحی اگزایمر لیزر یک متد مؤثر برای اصلاح خطاهای چشمی اسفروسیلندر است. اگرچه پیشرفت در تکنولوژی ابتدا متمرکز بر بهبود دقت نتایج رفرکتیو است، تلاش های امروزه به سمت بهبود کیفیت اپتیکی دید بعد از جراحی است (۲).

فوتورفراکتیو کراتکتومی (PRK) به طور مؤثر در درمان مقادیر کم تا متوسط مایوپی، مایوپی با آستیگماتیسم و مقادیر کم تا

عیوب انکساری زمانی رخ می دهد که تصویر روی شبکیه فوکوس نشده باشد و شامل نزدیک بینی، دور بینی و آستیگماتیسم است. ۳۰/۶٪ از عیوب انکساری مربوط به نزدیک بینی است، در حالی که دور بینی ۲۵/۲٪ و آستیگماتیسم

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، بخش چشم،

فرهاد ادهمی مقدم (email: farhad.adhami@gmail.com)

ORCID ID: 0000-0003-4811-443x

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۲/۲۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۴/۲۶

انکساری و کراتومتری هر چشم را قبل از عمل در نظر می‌گیرند. در این روش پالس‌های لیزر به نواحی محیطی قرنیه تابانده می‌شود تا یک‌شکل آسفریک فراهم کند (حفظ شکل آسفریستی قرنیه) که باعث می‌شود ابیراهی‌های آسفریکال محدودی ایجاد شود (۱۲-۱۰). کاهش ابیراهی آسفریکال القاشده در مقایسه با جراحی‌های مرسوم باعث بهبود کیفیت تصویر رتینال می‌شود (۱۳).

همان‌طور که گفته شد جراحی لیزریک Wavefront Optimized ادعا دارد که سبب می‌شود شکل آسفریک قرنیه بعد از عمل جراحی رفرکتیو، حفظ شود و در نتیجه آن تا حد امکان High-Order Aberration کمتر ایجاد می‌شوند و لذا سیمپتوم‌های بینایی بیمار بعد از عمل کمتر و کیفیت دید وی بهتر خواهد بود. البته معمولاً بین ادعاهای انجام‌شده و آنچه در کلینیک به وقوع می‌پیوندد، تفاوت‌هایی مشاهده می‌شود و لذا باید مطالعاتی جهت بررسی صحت و سقم ادعاهای صورت گرفته به عمل آید. هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر عمل کراتکتومی فوتورفرکتیو (PRK) بر تغییرات آسفریستی و ابیراهی‌های رده بالا در بیماران مایوپ آستیگمات بود.

مواد و روشها

در این مطالعه که از نوع قبل و بعد از درمان بود، تعداد ۲۴ بیمار شامل ۴۸ چشم با بیماری مایوپ آستیگمات که جهت انجام عمل PRK به بیمارستان نگاه مراجعه کرده بودند بررسی شدند. معیارهای ورود به مطالعه شامل بیماران با بازه سنی ۲۰-۴۰ سال، توپوگرافی منظم، $RMS < 0.3$ (root mean square)، تغییر کمتر از ۰/۵ دیوپتر در رفرکشن در طی یک سال گذشته و معیارهای خروج از مطالعه شامل بارداری، ابتلا به آرترید روماتوئید، دیابت، ایدز، خشکی مزمن چشم، کونژکتیویت، کاتاراکت، کراتوکونوس، گلوکوم مهار نشده، عیب انکساری مایوپی بیشتر از ۶ دیوپتر یا آستیگمات بیشتر از ۴ دیوپتر، سابقه قبلی هر گونه جراحی چشمی و استفاده از کورتیکواستروئیدهای سیستمیک بودند.

قبل از جراحی، در هر بیمار ابتدا معاینات مقدماتی شامل گرفتن دید با چارت اسنلن (Dongyang-LCD 700) با و بدون عینک اصلاح، رفرکشن ساجکتیو و سایکلورفرکشن با رتینوسکوپ welch Allyn و اتورفرکتومتر RM8900 TOPCON صورت گرفت. سپس معاینه با اسلیت لمپ SL-3G اعم از سگمان قدمای

متوسط دوربینی بدون آستیگماتیسم استفاده می‌شود (۳). PRK به‌عنوان یک روش سرپایی با استفاده از بی‌حسی موضعی انجام می‌شود. ابتدا اپیتلیوم قرنیه در ناحیه Ablation برداشته می‌شود یا به کنار رانده می‌شود تا Ablation دقیق‌تر بافت قرنیه امکان‌پذیر باشد. سپس لیزر به استروما تابانده می‌شود (۴). بلافاصله پس از پایان لیزر، چشم‌پزشک، آنتی‌بیوتیک، استروئید و داروهای ضدالتهاب موضعی را استفاده می‌کند. سپس یک لنز تماسی یک‌بارمصرف بانداژ بر روی قرنیه گذاشته می‌شود (۵). عیوب انکساری از منفی ۸ دیوپتر تا مثبت ۴ دیوپتر در این جراحی قابل اصلاح است.

چشم یک سیستم اپتیکی است که دارای چندین جزء است. این اجزای اپتیکی باعث فوکوس تصویر بر روی رتین می‌شوند. نقایصی که در این سیستم وجود دارد باعث انحراف نور از مسیر اصلی خود می‌شوند که در نهایت یک تصویر تار را تشکیل می‌دهد. این تاری کارکرد بینایی را کاهش می‌دهد. به این انحرافات ابیراهی می‌گویند (۶). برای تقسیم‌بندی انواع ابیراهی‌ها از چندجمله‌ای‌های زرنیکه استفاده می‌شود. ابیراهی‌ها به دودسته‌ی کلی تقسیم‌بندی می‌شوند. ابیراهی‌های رده پایین (Low Order Aberration) و ابیراهی‌های رده بالا (High Order Aberration). از ابیراهی‌های رده پایین می‌توان به خطاهای آسفریکال (نزدیک‌بینی و دوربینی) و آستیگماتیسم اشاره کرد و همچنین از گروه دوم می‌توان از خطاهای کروی کما و تریفویل و... نام برد (۷).

HOAها و آسفریستی اساساً باهم متفاوت‌اند. HOAها که از لحاظ ریاضی به وسیله چند جمله‌ای‌های Zernike توصیف شده‌اند، نوساناتی در شکل سطحی قرنیه هستند که مشابه سطح کاسه‌ای از آب هستند. آسفریستی با این حال می‌تواند به صورت ریاضی به‌وسیله Q Value تعریف شود. این اندازه‌گیری میزان شیب تغییرات شعاع انحنای قرنیه را از محیط به مرکز نشان می‌دهد. قرنیه‌ای با Q صفر کاملاً کروی است. بیشتر قرنیه‌های فیزیولوژیک یک Q منفی دارند که این به این معناست که آن‌ها از مرکز به محیط Flat تر می‌شوند (۸).

یکی از کاربردهای تئوری نور، در آنالیز جبهه موج است (wave Front). با اندازه‌گیری جبهه موج توسط دستگاه‌هایی به نام ابرومتر که مشهورترین روش آن با استفاده از Hartmann-Shack Wave Front Sensor است می‌توان ابیراهی‌ها یا انحرافات اپتیکی را اندازه گرفت (۹).

درمان‌های Wave Front Based به دو گروه تقسیم می‌شود: الگوریتم Optimized و Guide در روش Optimized عیب

یافته‌ها

تعداد ۸ مرد (۳۳/۳٪) و ۱۶ زن (۶۶/۷٪) شرکت کردند. میانگین سنی بیماران 29 ± 5 سال (طیف سنی ۲۱-۴۰ سال) بود.

همان گونه که در جدول ۱ مشاهده می شود، تمام تغییرات اسفر، اکی والان اسفر و سیلندر قبل و بعد از عمل معنی دار بود ($P < 0/001$). همچنین تغییرات flat/steep Simulated keratometry در قبل و بعد از عمل از نظر آماری ارتباط معنی داری داشت ($P < 0/001$).

تمام تغییرات ابیراهی قرنی به استثنا تغییرات کوادریفویل قبل و بعد از عمل معنی دار بودند (جدول ۲). بعد از عمل میانگین ابیراهی کروی و کما قرنیهای و آستیگماتیسم ثانویه افزایش و ابیراهی تریفویل قرنیهای کاهش یافت ($P < 0/001$).

در جدول ۳ که تغییرات ابیراهی چشمی قبل و بعد از عمل را نشان می دهد، ابیراهی کلی و کروی چشم بعد از عمل کاهش و ابیراهی های رده بالا افزایش یافتند ($P < 0/001$). تغییرات ابیراهی های رده بالا بدون ابیراهی کروی به میزان $0/07 \pm 0/19$ افزایش یافت ($P < 0/019$). آسفریستی قرنی نیز بعد از جراحی به طور قابل توجهی افزایش یافت (جدول ۴).

و سگمان خلفی و همچنین فاندوسکوپی با افتالموسکوپ غیرمستقیم انجام شد.

برای کلیه بیماران اورب اسکن (Orbscan II)، اندازه گیری ابیراهی های چشمی با Zywave II و ابیراهی های قرنی و اسفریستی با توپولایزر (ALLEGRO Topolyzer) انجام شد. تمام بیماران توسط یک جراح (ع. ب. ر.) با دستگاه Allegretto EX500 تحت جراحی PRK قرار گرفتند. دوباره ۶ ماه بعد از عمل علاوه بر معاینات کامل چشمی، ابرومتري و تصویربرداری توپولایزر برای تمام بیماران صورت گرفت.

از تمام بیماران رضایت نامه کتبی ورود به مطالعه دریافت شد. این مطالعه در شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران مورد بررسی قرار گرفته و با شماره کد اخلاق IR.IAU.TMU.REC.1397.341 ثبت گردیده است.

تمامی داده ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ تحلیل شدند. سطح معنی داری مطالعه کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. برای توصیف داده ها از میانگین، انحراف معیار، فراوانی و درصد و همچنین برای مقایسه نتایج قبل و بعد از عمل از آزمون آماری Paired T-test استفاده شد.

جدول ۱. تغییرات عیوب انکساری و کراتومتري قبل و بعد از جراحی

| عیوب انکساری و کراتومتري | قبل از عمل | بعد از عمل | تغییرات | معیار P |
|--------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------|
| اسفر | $-3/16 \pm 1/32$ (-۶/۷۵ - -۰/۵) | $-0/04 \pm 0/17$ (-۰/۵ - ۰/۳۵) | $3/12 \pm 1/33$ (۰/۵ - ۶/۷۵) | $< 0/001$ |
| سیلندر | $-0/55 \pm 0/36$ (-۱/۲۵ - ۰) | $-0/19 \pm 0/2$ (-۰/۷۵ - ۰) | $0/36 \pm 0/36$ (-۰/۵ - -۱) | $< 0/001$ |
| اکی والان اسفر | $-3/43 \pm 1/29$ (-۷/۱۳ - -۱) | $-0/14 \pm 0/19$ (-۰/۷۵ - ۰/۲۵) | $3/3 \pm 1/31$ (۰/۸۸ - ۷/۱۳) | $< 0/001$ |
| کراتومتري محور steep | $44/2 \pm 1/3$ (۴۲/۱ - ۴۶/۴) | $41 \pm 1/6$ (۳۸ - ۴۴/۸) | $-3/28 \pm 1/22$ (-۶/۲ - -۱) | $< 0/001$ |
| کراتومتري محور flat | $43/4 \pm 1/3$ (۴۱/۴ - ۴۶) | $40/3 \pm 1/6$ (۳۷/۳ - ۴۴/۱) | $3/09 \pm 1/21$ (-۶/۳ - -۰/۹) | $< 0/001$ |

جدول ۲. تغییرات ابیراهی قرنی قبل و بعد از جراحی

| ابیراهی قرنی | قبل از عمل | بعد از عمل | تغییرات | معیار P |
|--------------------|--|--|--|-----------|
| کوما | $0/000392 \pm 0/000171$ (۰/۰۰۰۰۵۵ - ۰/۰۰۰۹۱۳) | $0/000594 \pm 0/000192$ (۰/۰۰۰۲۰۴ - ۰/۰۰۱۰۲۱) | $0/000202 \pm 0/000247$ (۰/۰۰۰۳۲۶ - ۰/۰۰۰۸۴) | $< 0/001$ |
| تریفویل | $0/000254 \pm 0/00013$ (۰/۰۰۰۰۱۹ - ۰/۰۰۰۵۶۷) | $0/000204 \pm 0/000124$ (۰/۰۰۰۰۰۹ - ۰/۰۰۰۵۶۲) | $-0/00005 \pm 0/000095$ (-۰/۰۰۰۲۸۷ - ۰/۰۰۰۱۴۳) | $< 0/001$ |
| ابیراهی کروی | $0/000567 \pm 0/000216$ (۰/۰۰۰۰۵۳ - ۰/۰۰۰۹۷) | $0/001334 \pm 0/0004$ (۰/۰۰۰۱۶۸ - ۰/۰۰۲۱۸۸) | $0/000767 \pm 0/000404$ (-۰/۰۰۰۰۷۲ - ۰/۰۰۱۸۷۷) | $< 0/001$ |
| آستیگماتیسم ثانویه | $0/000077 \pm 0/000052$ (۰/۰۰۰۰۰۷ - ۰/۰۰۰۲۵۵) | $0/000167 \pm 0/0001$ (۰/۰۰۰۰۰۱ - ۰/۰۰۰۳۶۸) | $0/000091 \pm 0/000091$ (-۰/۰۰۰۰۷۸ - ۰/۰۰۰۳۰۴) | $< 0/001$ |
| کوادرافیویل | $0/000117 \pm 0/000058$ (۰/۰۰۰۰۰۳ - ۰/۰۰۰۲۳۴) | $0/000126 \pm 0/000056$ (۰/۰۰۰۰۱۳ - ۰/۰۰۰۲۶۳) | $0/000009 \pm 0/000063$ (-۰/۰۰۰۰۱۳۷ - ۰/۰۰۰۰۱۵) | ۰/۳۴۶ |

جدول ۳. تغییرات ابیراهی چشمی قبل و بعد از جراحی

| معیار P | تغییرات | بعد از عمل | قبل از عمل | ابیراهی چشمی |
|---------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| <۰/۰۰۱ | $-۳/۵۸ \pm ۱/۴۲$ (-۵/۹۲ - -۰/۴) | $۰/۹۸ \pm ۰/۵۴$ (۰/۲۸ - ۲/۴۵) | $۴/۵۶ \pm ۱/۵۹$ (۰/۹۷ - ۷/۱۹) | ابیراهی کلی چشم |
| <۰/۰۰۱ | $۰/۱۲ \pm ۰/۲۱$ (-۰/۱۷ - ۱/۱۲) | $۰/۴۳ \pm ۰/۲$ (۰/۱۶ - ۱/۴۲) | $۰/۳ \pm ۰/۱$ (۰/۱۴ - ۰/۵۶) | ابیراهی رده بالا چشم |
| <۰/۰۰۱ | $-۰/۱۸ \pm ۰/۱۴$ (-۰/۶۵ - ۰/۰۴) | $-۰/۲۳ \pm ۰/۱۶۶$ (-۰/۷۸ - ۰/۰۶) | $-۰/۰۵ \pm ۰/۱۲۶$ (-۰/۳۴ - ۰/۲۹) | کروی |
| ۰/۰۱۹ | $۰/۰۷ \pm ۰/۱۹$ (-۰/۱۶ - ۰/۹۲) | $۰/۳۴ \pm ۰/۱۷$ (۰/۱ - ۱/۱۹) | $۰/۲۷ \pm ۰/۱$ (۰/۱۱ - ۰/۵۲) | ابیراهی رده بالا بدون کروی چشم |
| ۰/۱۳۲ | $۰/۰۵ \pm ۰/۲۵$ (-۱/۰۱ - ۰/۴۲) | $-۰/۰۰۳ \pm ۰/۲۲$ (۰/۸۷ - ۰/۴۲) | $-۰/۰۵۸ \pm ۰/۱۶۹$ (-۰/۴ - ۰/۳۱) | کومای عمودی |
| ۰/۶۲۲ | $۰/۰۱ \pm ۰/۱۶$ (-۰/۴ - ۰/۳۳) | $-۰/۰۰۵ \pm ۰/۱۶۴$ (-۰/۴۳ - ۰/۳۲) | $-۰/۰۱۷ \pm ۰/۰۸۲$ (-۰/۲ - ۰/۱۷) | کومای افقی |
| ۰/۱۴۱ | $۰/۰۳ \pm ۰/۱۵$ (-۰/۱۹ - ۰/۷۶) | $۰/۱۳۱ \pm ۰/۱۴۳$ (-۰/۱۴ - ۰/۵۸) | $۰/۰۹۹ \pm ۰/۱۲۱$ (-۰/۱۸ - ۰/۳۶) | تریفویل عمودی |
| ۰/۰۶ | $-۰/۰۲ \pm ۰/۰۸$ (-۰/۱۸ - ۰/۱۶) | $۰/۰۴۳ \pm ۰/۰۹۹$ (-۰/۲۶ - ۰/۱۸) | $-۰/۰۲ \pm ۰/۰۹۴$ (-۰/۲۴ - ۰/۱۴) | تریفویل افقی |
| ۰/۱۲۷ | $-۰/۰۱ \pm ۰/۰۶$ (-۰/۲۱ - ۰/۱۳) | $-۰/۰۰۴ \pm ۰/۰۶۲$ (-۰/۲۳ - ۰/۱۴) | $۰/۰۰۹ \pm ۰/۰۴۷$ (-۰/۰۹ - ۰/۱۳) | کوادروفیل عمودی |
| ۰/۷۶۱ | $۰ \pm ۰/۰۵$ (-۰/۱۱ - ۰/۱۳) | $۰/۰۱۱ \pm ۰/۰۴۴$ (-۰/۱ - ۰/۱۱) | $۰/۰۰۸ \pm ۰/۰۴۵$ (-۰/۱۳ - ۰/۰۹) | کوادروفیل افقی |
| ۰/۱۴۱ | $۰/۰۱ \pm ۰/۰۵$ (-۰/۰۸ - ۰/۱۴) | $۰/۰۸ \pm ۰/۰۴۹$ (-۰/۱۳ - ۰/۱۴) | $-۰/۰۲ \pm ۰/۰۳۵$ (-۰/۰۹ - ۰/۱) | استگمات ثانویه عمودی |
| ۰/۱۵۹ | $-۰/۰۲ \pm ۰/۰۷$ (-۰/۱۴ - ۰/۱۵) | $-۰/۰۱۲ \pm ۰/۰۷۸$ (-۰/۲۱ - ۰/۱۴) | $۰/۰۰۴ \pm ۰/۰۶۱$ (-۰/۲ - ۰/۱۱) | استگمات ثانویه افقی |

جدول ۴. تغییرات آسفریستی قرنیه قبل و بعد از جراحی

| معیار P | تغییرات | بعد از عمل | قبل از عمل | آسفریستی قرنیه |
|---------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------|
| <۰/۰۰۱ | $۰/۵۸ \pm ۰/۲۶$ (۰/۰۸ - ۱/۳) | $۰/۲۸ \pm ۰/۲۶$ (-۰/۲۷ - ۰/۸۵) | $-۰/۳ \pm ۰/۱۲$ (-۰/۶۷ - -۰/۰۱) | معیار Q |

بحث

افزایش یافتند، اما فقط ابیراهی اسفریکال افزایش قابل توجهی را نشان داد.

مطالعه Khan (۱۵) که با پروفایل Optimized و دستگاه Allegretto EX۵۰۰ انجام شد، پس از یک ماه مقدار ابیراهی‌های رده بالا به طرز چشمگیری افزایش یافت که همچون مطالعه ما میزان تغییرات القاشده در ابیراهی کوما بیشتر از ابیراهی کروی بود. علاوه بر آن، آنها یک رابطه معنی‌داری را بین تغییرات ابیراهی کروی و اکی والان اسفر یافتند.

در مطالعه Han (۱۶) که عمل لیزیک در 442 چشم انجام شد بین دو دستگاه Eye-Q Allegretto Wave® و Technolas® 210z از نظر حدت دید بدون اصلاح و معادل کروی بعد از عمل تفاوتی مشاهده نشد. همچنین در Allegretto مقدار باقیمانده استیگمات کمتر بود که همه این موارد با مطالعه حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه‌ای دیگر که توسط Stojanovic (۱۷) در ۲۳ بیمار نزدیک بین استیگماتیسم با دستگاه Allegretto انجام شد کاهش حدت بینایی با بهترین تصحیح سه ماه بعد از عمل وجود نداشت. همچنین همانند مطالعه ما تغییرات اسفریستی همبستگی زیادی با اکی والان اسفر در پروفایل Optimized داشت.

به دلیل عوارض ناشی از روش مرسوم (customized)، روش Optimized به وجود آمد. در روش Optimized شکل Prolate طبیعی قرنیه حفظ شده و القای ابیراهی‌های رده بالا به حداقل می‌رسد، درحالی که ابیراهی‌های چشم قبل از عمل حفظ می‌شود. تابه حال مقایسه‌ای در مورد ابیراهی‌ها و آسفریستی با این پروفایل در دستگاه Allegretto صورت نگرفته است که ما آن را در این مطالعه نتایج بینایی قبل و بعد از عمل PRK با دستگاه Allegretto مورد بررسی قرار دادیم.

عیوب انکساری به طرز معنی‌داری مطابق انتظار کاهش یافت. ابیراهی‌های کلی رده بالای چشمی افزایش پیدا کرد و بین ابیراهی‌های قرنیه ای و چشمی رده سوم و چهارم زرنیکه قبل و پس از عمل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. ابیراهی کروی قرنیه‌ای و چشمی نیز افزایش یافت. میانگین آسفریستی قبل و بعد از عمل به طور معنی‌داری تغییر داشت که از منفی به سمت مثبت بود و بیانگر تغییر شکل قرنیه از حالت prolate به oblate است. همچنین رابطه معنی‌داری بین مقدار اکی والان اسفر و ابیراهی‌های رده بالای کل و ابیراهی کروی یافت شد.

در مطالعه مشیری فر (۱۴) نیز در دستگاه Allegretto 400 Hz، یک روز، یک هفته، یک ماه و سه ماه بعد از جراحی همه ابیراهی‌ها شامل total higher-order aberration، کوما، تریفویل و اسفریکال با استفاده از دستگاه ابرومتر WaveScan

prolate به oblate می‌شود. هرچند سبب بهبود فرکشن می‌شود که بر کیفیت بینایی بیماران اثرگذار است. پیشنهاد می‌شود مطالعاتی با حجم نمونه بیشتر انجام شود تا تحلی آماری دقیق‌تری حاصل شود. جهت بررسی تأثیر جراحی بر حدت بینایی و کیفیت بینایی پارامترهای دیگری مانند حساسیت کنتراست، دید در شب و ... بررسی شود. بررسی ابیراهی در سائزهای مختلف مردمک ارزیابی شود. زمان پیگیری درمان طولانی تر شود تا میزان ثبات یا تغییر یافته ها مشخص شود. ابیراهی‌های چشمی با دستگاه‌های دیگری مانند آنالایزر هم برای تأیید یافته‌ها انجام شود.

تشکر و قدردانی

از تمامی بیماران برای شرکت در این مطالعه تشکر می‌کنیم.

مطالعه مشابه دیگری که توسط Smadja (۱۸) با دستگاه مشابه این مطالعه انجام شد نیز کل ابیراهی‌های رده بالا، اسفریکال و کوما‌ی قرنی‌ای افزایش یافت که با یافته‌های این مطالعه همخوانی دارد. همچنین آنها نشان دادند که هرچه تغییرات اکسنتریسیستی بیشتر شود، ابیراهی کروی افزایش می‌یابد. در مطالعه آنها رابطه بین اکی والان اسفر با ابیراهی کروی قرنی‌ای $P < 0/001$ عنوان شد.

با توجه به ablation ایجاد شده توسط دستگاه Allegretto EX500 ابیراهی‌های قرنی‌ای رده بالا روی قرنی‌ای افزایش یافت. همچنین ابیراهی‌های کلی چشم بهبود داشت و به طور معنی داری کاهش داشت، اما کماکان ابیراهی‌های رده بالای چشمی توسط دستگاه القاء شده و افزایش یافته بود. با توجه به یافته‌های موجود به نظر می‌رسد روش optimized با دستگاه Allegretto EX500 علی رغم برتری بر روش مرسوم کماکان موجب القای ابیراهی‌های رده بالا و تغییر آسفریسیستی از حالت

REFERENCES

1. Wu P-C, Huang H-M, Yu H-J, Fang P-C, Chen C-T. Epidemiology of myopia Asia. *Pac J Ophthalmol* 2016; 5: 386-93.
2. Tiwari NN, Sachdev GS, Ramamurthy S, Dandapani R. Comparative analysis of visual outcomes and ocular aberrations following wave front optimized and topography-guided customized femtosecond laser in situ keratomileusis for myopia and myopic astigmatism: a contralateral eye study. *Indian J Ophthalmol* 2018; 66: 1558.
3. Cennamo G, Menna F, Sinisi F, Cennamo G, Breve MA, Napolitano P, et al. Twenty-Year Follow-Up of Excimer Laser Photorefractive Keratectomy: A Retrospective Observational Study. *Ophthalmol Ther* 2020: 1-11.
4. Seiler T, McDonnell PJ. Excimer laser photorefractive keratectomy. *Surv Ophthalmol* 1995; 40: 89-118.
5. Sharghi A, Oujaghi H, Yavari Saba, Moghadam TZ. Surgical Correction of Different Severities of Astigmatism Using Wavefront-Optimized Photorefractive Keratectomy. *Int J Psychosoc Rehabil* 2020; 42: 7489-505.
6. Schwiegerling J. Theoretical limits to visual performance. *Surv Ophthalmol* 2000; 45: 139-46.
7. Sinjab MM. Five Steps to Start Your Refractive Surgery: A Case-Based Systematic Approach. 1st ed. New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical Pub; 2014 .
8. Molchan RP, Taylor KR, Panday VA, Caldwell MC, Reilly CD. Retrospective analysis comparing the preoperative and postoperative "Q" values for 2 different lasers in refractive surgery. *Cornea* 2015; 34: 1437-40.
9. Chandhrasri S, Knorz MC. Comparison of Higher Order Aberrations and Contrast Sensitivity after LASIK, Verisyse phakic IOL, and Array multifocal IOL. *J Refract Surg* 2006; 22: 231-6 .
10. Khalifa MA, Alsahn MF, Shaheen MS, Pinero DP. Comparative analysis of the efficacy of astigmatic correction after wavefront-guided and wavefront-optimized LASIK in low and moderate myopic eyes. *Int J Ophthalmol* 2017; 10: 285.
11. Sáles CS, Manche EE. One-year eye-to-eye comparison of wavefront-guided versus wavefront-optimized laser in situ keratomileusis in hyperopes. *Clin Ophthalmol* 2014; 8: 2229.
12. Sia RK, Ryan DS, Stutzman RD, Pasternak JF, Eaddy JB, Logan LA, et al. Wavefront-guided versus wavefront-optimized photorefractive keratectomy: Clinical outcomes and patient satisfaction. *J Cataract Refract Surg* 2015; 41: 2152-64.
13. Padmanabhan P, Basuthkar SS, Joseph R. Ocular aberrations after wavefront optimized LASIK for myopia. *Indian J Ophthalmol* 2010; 58: 307.
14. Moshirfar M, Betts BS, Churgin DS, Hsu M, Neuffer M, Sikder S, et al. A prospective, randomized, fellow eye comparison of WaveLight® Allegretto Wave® Eye-Q versus VISX CustomVue™ STAR S4 IR™ in laser in situ keratomileusis (LASIK): analysis of visual outcomes and higher order aberrations. *Clin ophthalmol* 2011; 5: 1339.

15. Khan MS, Humayun S, Fawad A, Ishaq M, Arzoo S, Mashhadi F. Effect of wavefront optimized LASIK on higher order aberrations in myopic patients Pakistan. *J Med Sci* 2015; 31: 1223.
16. Han DC, Chen J, Htoon HM, Tan DT, Mehta JS. Comparison of outcomes of conventional WaveLight® Allegretto Wave® and Technolas® excimer lasers in myopic laser in situ keratomileusis. *Clin Ophthalmol* 2012; 6: 1159.
17. Stojanovic A, Wang L, Nitter TA, Jankov MR, Wang Q. Wavefront optimized versus custom-Q treatments in surface ablation for myopic astigmatism with the WaveLight ALLEGRETTO laser. *J Refract Surg* 2008; 24: 779-89.
18. Smadja D, Santhiago MR, Mello GR, Touboul D, Mrochen M, Krueger RR. Corneal higher order aberrations after myopic wavefront-optimized ablation. *J Refract Surg* 2013; 29: 42-8.

Comparing the effectiveness of reality therapy and the approach of interactional behavior analysis on character strength in infertile women

Razieh Zahedi¹, Mina Mojtabaie², Amin Rafiepour³

¹ PhD Student of Health Psychology, Department of Psychology, Roodehen Branch, Islamic Azad University, Roodehen, Iran

² Associate Professor, Department of Psychology, Roodehen Branch, Islamic Azad University, Roodehen, Iran

³ Assistant Professor, Department of Psychology, Payame Noor University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Infertility is one of the most common problems of women that always has negative psychological consequences for infertile women. Accordingly, the aim of this study was to investigate and compare the effectiveness of reality therapy and interaction behavior analysis approach on character strength in infertile women.

Materials and methods: The present study was a quasi-experimental study with a pretest and posttest design with a control and follow-up group of 45 days. The research population was infertile women who referred to Ibn Sina Infertility Clinic in Tehran in 2018. 45 people were randomly assigned to 3 groups (each 15 people). Experimental groups were trained in 10 sessions of 90 minutes with reality therapy methods and interaction behavior analysis approach and the control group was not trained. Data with demographic information form and competency questionnaire behavior (VIA-IS) was analyzed by chi-square, multivariate analysis of variance and Bonferroni post hoc test in SPSS software version 22.

Results: The results showed that there was a significant difference between the effectiveness of reality therapy and interaction behavior analysis on character strength in infertile women ($P < 0.05$); in other words, reality therapy had a greater effect on character strength in infertile women than interaction behavior analysis ($P < 0.05$).

Conclusion: Considering the effectiveness of reality therapy on the character strength of infertile women, it is necessary to pay attention to this approach in order to accept the problem of infertility and reduce its consequences in infertile women, along with medical treatments.

Keywords: Reality therapy, Interaction behavior analysis, Character strength, Infertility.

Cited as: Zahedi R, Mojtabaie M, Rafiepour A. Comparing the effectiveness of reality therapy and the approach of interactional behavior analysis on character strength in infertile women. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): 432-441.

Correspondence to: Mina Mojtabaie

Tel: +98 9378970891

E-mail: mojtabaie_in@yahoo.com

ORCID ID: 0000-0002-4131-0676

Received: 15 May 2021; **Accepted:** 10 Aug 2021

مقایسه اثربخشی واقعیت درمانی و رویکرد تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور

راضیه زاهدی^۱، مینا مجتبابی^۲، امین رفیعی پور^۳

^۱ دانشجوی دکتری روانشناسی سلامت، گروه روانشناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

^۲ دانشیار، گروه روانشناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

^۳ استادیار، گروه روانشناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: ناباروری یکی از شایع‌ترین مشکلات زنان است که همواره پیامدهای روانشناختی منفی برای زنان نابارور به همراه دارد. هدف پژوهش حاضر، بررسی و مقایسه اثربخشی واقعیت درمانی و رویکرد تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور بود. روش بررسی: مطالعه حاضر نیمه تجربی با طرح پیش‌آزمون و پس‌آزمون با گروه کنترل و پیگیری ۴۵ روزه بود. جامعه پژوهش زنان نابارور مراجعه‌کننده به کلینیک ناباروری ابن سینا شهر تهران در سال ۱۳۹۷ بودند. نمونه پژوهش ۴۵ نفر (هر گروه ۱۵ نفر) بودند. هر یک از گروه‌های آزمایش به تفکیک ۱۰ جلسه ۹۰ دقیقه‌ای با روش‌های واقعیت درمانی و رویکرد تحلیل رفتار متقابل آموزش دیدند و گروه کنترل آموزشی ندید. داده‌ها با فرم اطلاعات جمعیت شناختی و پرسشنامه توانمندی منش (VIA-IS) و با روش‌های خی دو، تحلیل واریانس چندمتغیری و آزمون تعقیبی بونفرونی در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ تحلیل شدند. یافته‌ها: نتایج نشان داد بین اثربخشی واقعیت درمانی و تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/05$)؛ به عبارتی دیگر، واقعیت درمانی به نسبت تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور تأثیر بیشتری دارد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به اثربخشی واقعیت درمانی بر توانمندی منش زنان نابارور، توجه به این رویکرد جهت پذیرش مشکل ناباروری و کاهش پیامدهای ناشی از آن در زنان نابارور، در کنار درمان‌های پزشکی ضرورت می‌یابد. واژگان کلیدی: واقعیت درمانی، تحلیل رفتار متقابل، توانمندی منش، ناباروری.

مقدمه

یک سال نزدیکی محافظت‌نشده داشته باشند و حاملگی حاصل نشود (۱).

ناباروری به عنوان یک بحران در زندگی مشترک و تداخل در نقش و هویت والدین، نه تنها مشکلات روانشناختی را به وجود می‌آورد بلکه می‌تواند به عنوان یک ضربه پر قدرت بر علیه روابط بین زوجین عمل کند (۲). ناباروری در سراسر جهان و در همه فرهنگ‌ها به‌عنوان یک تجربه استرس‌زا و بحرانی تهدیدکننده برای ثبات فردی، زناشویی، خانوادگی و اجتماعی شناخته شده است و علاوه بر مشکلات جسمانی، با مجموعه‌ای از علائم روانی نیز همراه می‌باشد (۳).

در اکثر فرهنگ‌ها باروری اهمیت زیادی داشته و تمایل به داشتن فرزند از اساسی‌ترین انگیزه‌های انسانی است. در زوجیهایی که خواهان فرزند هستند، ولی توانایی آن را ندارند، نه‌تنها این مسئله ناامیدکننده است، بلکه امری ویران‌گر نیز خواهد بود. ناباروری به‌معنای این است که یک زوج به‌مدت

آدرس نویسنده مسئول: رودهن، گروه روانشناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، مینا مجتبابی

(email: mojtabaie_in@yahoo.com)

ORCID ID: 0000-0002-4131-0676

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۲/۲۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۴/۱۹

در زندگی به آن‌ها نیاز داریم می‌بایست انتخاب‌های مؤثرتری انجام دهیم (۷).

واقعیت‌درمانی، علت مشکلات روان‌شناختی را در انتخاب‌ها و عدم مسئولیت فرد در ارضای نیازهای خود می‌داند. در این درمان تلاش می‌شود تا افراد از طریق انتخاب‌های بهتر بتوانند نیازهای بنیادین خود را برآورده سازند (۸). واقعیت‌درمانی، روشی مبتنی بر انجام دادن است و در آن تلاش بر این است که از طریق ارضاء تصاویر دنیای کیفی، نیازها را برآورده کرد. درمانگر به همراه مراجع، برنامه‌ای قابل حصول و دارای مراحل مثبت ایجاد خواهد کرد که در ابتدا او را در جهت ارضاء کردن نیاز قرار می‌دهد. رازهای زیادی در برنامه وجود دارد؛ معنی کنترل در آن وجود دارد و برنامه همان چیزی است که شما می‌توانید آن را انجام دهید نه آنچه که او می‌تواند انجام دهد (۹).

رویکرد دیگری که برای بهبود توانمندی منش در زنان نابارور در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گرفته است، رویکرد تحلیل رفتار متقابل است. تحلیل رفتار متقابل نیز از جمله رویکردهای نظری است که از وسعت کاربرد و عمق نظری برجسته‌ای برخوردار است. این رویکرد توسط اریک برن پایه‌گذاری شده و از نظر علمی یکی از برترین شیوه‌های گروه‌درمانی است (۱۰).

رویکرد تحلیل رفتار متقابل، یک رابطه کمک‌کننده است که در آن درمان‌گر واجد شرایط، با استفاده از روش‌های تحلیل رفتار متقابل، آگاهی بالغ را از چشم‌انداز حل مسئله در مراجع یا گروه افزایش می‌دهد. روش‌های تحلیل رفتار متقابل برای ایجاد تغییر از شیوه‌های مناسب مبتنی بر اینجا و اکنون به کار گرفته می‌شود و هدف آن افزایش آگاهی شناختی و هیجانی مراجع نسبت به حوزه آسیب‌دیده است (۱۱).

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که این شیوه از روان‌درمانی منجر به افزایش احساسات مثبت (۱۲)، تقویت حالات شخصیتی مثبت و کاهش نشانگان بالینی، افزایش شادکامی (۱۳) و افزایش بهزیستی روان‌شناختی (۱۴) می‌شود.

لذا و با توجه به اهمیت مباحث مطرح شده در زمینه لزوم توجه به رویکردهای تأثیرگذار بر توانمندی منش زنان نابارور، پژوهش حاضر به بررسی و مقایسه اثربخشی واقعیت‌درمانی و تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش زنان نابارور پرداخت.

تمرکز بر جنبه‌های منفی زنان نابارور تا حد زیادی ما را از توجه به متغیرهای مثبت روانشناختی در این زنان باز می‌دارد. در سال‌های اخیر رویکرد روان‌شناسی مثبت توجه به استعدادها و توانمندی‌های انسان را مورد تأکید قرار داده و بر این اساس، بسیاری از پژوهشگران حوزه‌های مختلف روان‌شناسی به مطالعه بر روی حالت‌های روان‌شناختی مثبت تمرکز کرده‌اند (۳).

منظور از حالت‌های روان‌شناختی مثبت مجموعه‌ای از توانایی‌های انسان، مانند خوش‌حالی، انعطاف‌پذیری، سرسختی، کنترل شخصی، خوش‌بینی، سبک تبیینی خوش‌بینانه، امید، احساس کارایی، عشق به دانستن، خرد، اصالت، دلسوز و همدلی است که موضوع اصلی روان‌شناسی مثبت‌گرا را تشکیل داده و مجموع آن‌ها تحت عنوان توانمندی‌های منش مطرح می‌شوند (۴).

نتایج مطالعات انجام‌شده در زمینه توانمندی‌های منش حاکی از نقش مثبت این فضاها در کاهش استرس و مشکلات روانی در شرایط پرتنش است (۵). برای مثال می‌توان به نتایج مطالعه عرب اشاره نمود که نشان می‌دهد توانمندی‌های منش رابطه‌ای منفی با اضطراب دارد.

بحث مهم در زمینه توانمندی منش در زنان نابارور، رویکردهای روانشناختی است که می‌تواند بر این توانمندی‌ها در این زنان تأثیر مثبت بگذارد و موجب افزایش آن شود. بر این اساس، یکی از رویکردهایی که در پژوهش حاضر برای این امر مورد بررسی قرار گرفته است، واقعیت‌درمانی می‌باشد.

واقعیت‌درمانی مبتنی بر نظریه انتخاب و کنترل است و علت مشکلات روان‌شناختی را در انتخاب‌ها و عدم مسئولیت فرد در ارضای نیازهای خود می‌داند. در این درمان تلاش می‌شود تا افراد از طریق انتخاب‌های بهتر بتوانند نیازهای بنیادین خود را برآورده سازند. در حقیقت هدف اصلی رویکرد واقعیت‌درمانی، کمک به افراد برای آگاهی از نیازهای خود، پایش رفتار و انجام انتخاب‌های مناسب است (۶).

بنیان‌گذار این نظریه، گلاسر معتقد است که همه انسان‌ها با پنج نیاز ژنتیکی متولد می‌شوند و تمام رفتارهای ما در جهت تأمین این نیازها است، که عبارتند از نیاز به عشق و تعلق، نیاز به آزادی، نیاز به قدرت، نیاز به تفریح و نیاز به بقا. از آنجا که رفتارها به عنوان راهی برای حل ناکامی ناشی از رابطه‌های ناخوشایند انتخاب می‌شوند، پس هنگام تعامل با افرادی که

مواد و روشها

پژوهش حاضر با شناسه اخلاق IR.IAU.TMU.REC. 1399.197 از کمیته سازمانی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشکده پزشکی-دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه آزاد تهران انجام شد.

در این پژوهش سه فرضیه زیر مورد آزمون قرار گرفت:

۱- واقعیت‌درمانی بر توانمندی منش در زنان نابارور مؤثر است.

۲- رویکرد تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور مؤثر است.

۳- بین اثربخشی واقعیت‌درمانی و تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور تفاوت وجود دارد.

این تحقیق شامل دو متغیر مستقل واقعیت‌درمانی و رویکرد تحلیل رفتار متقابل و یک متغیر وابسته توانمندی منش بود.

از لحاظ روش شناسی، جزو پژوهش‌های نیمه آزمایشی با طرح پژوهشی پیش‌آزمون- پس‌آزمون همراه با دو گروه آزمایش و یک

گروه کنترل و پیگیری ۴۵ روزه بود. جامعه پژوهش حاضر شامل کلیه زنان نابارور ۲۰ تا ۴۰ ساله با تشخیص ناباروری نوع اولیه مراجعه‌کننده به کلینیک ناباروری ابن‌سینا، در سال ۱۳۹۷ بودند. نمونه پژوهش نیز تعداد ۴۵ نفر از زنان نابارور عضو جامعه آماری بودند که در به‌صورت تصادفی در دو گروه آزمایش (هر گروه ۱۵ نفر) و یک گروه کنترل (۱۵ نفر) گمارده شدند.

ملاک‌های ورود به پژوهش شامل موارد زیر بود:

- فقدان اختلالات شدید روان‌پزشکی و عدم مصرف داروهای روانگردان در خود و اقوام درجه یک

- فقدان نقص‌های فیزیولوژیک مادرزادی مربوط به سیستم تولید مثلی

روش اجرا بدین صورت بود که تعداد ۴۵ نفر با استفاده از جدول کوهن با اندازه‌ی اثر ۰/۳۵ و توان آزمون ۰/۰۵ و با احتساب ۰/۱۰ ریزش انتخاب شدند. روش نمونه‌گیری هدفمند و به‌صورت غربال‌گری بود. نمونه انتخاب‌شده در ادامه به‌صورت تصادفی در

جدول ۱. محتوای جلسات واقعیت‌درمانی

| جلسه | محتوا |
|-------|--|
| اول | معارفه اعضا و بیان اهداف و انتظارات گروه و توضیح مختصر درباره پیشینه واقعیت‌درمانی |
| دوم | توضیح نیازهای اساسی و تعریف جامع آن‌ها و اهمیت تعادل پنج نیاز و تأثیر آن‌ها بر روان انسان با ذکر مثال و ارائه تکلیف |
| سوم | آموزش نظریه انتخاب و مفاهیم بنیادین واقعیت‌درمانی و بیان خواسته‌ها |
| چهارم | توضیح ماشین رفتار کلی و مؤلفه‌های آن (شناخت، عمل، احساس و فیزیولوژی) و نقش افراد در حرکات ماشین و اهدافشان |
| پنجم | ترسیم اهداف واقع‌بینانه و قابل دسترس، شامل توصیف و بیان جهان کیفی و نحوه تغییر آن |
| ششم | ایجاد حس مسئولیت‌پذیری برای ارضای نیازها، با استفاده از مثال‌های عینی و بیان هدف و رفتار و مسئولیت رفتار |
| هفتم | آشنایی با مفهوم کنترل بیرونی و کنترل درونی و آشنایی با هفت عادت مخرب مبتنی بر کنترل بیرونی و هفت عادت جایگزین مبتنی بر کنترل درونی همراه با مثال و ارائه تکلیف |
| هشتم | آموزش نحوه مذاکره در مورد نیازهای ناهماهنگ و بررسی تأثیر خلاقیت در کاهش تعارضات |
| نهم | مرور مفاهیم قبلی، پاسخ به سؤالات و تکرار مطالب با استفاده از لوح فشرده و انجام پس‌آزمون |

جدول ۲. محتوای جلسات تحلیل رفتار متقابل

| جلسه | محتوا |
|---------|---|
| اول | معارفه و خوش‌آمدگویی، مروری بر ساختار و قوانین جلسات. |
| دوم | صحبت در رابطه با اولین بعد شخصیتی در تحلیل ارتباط متقابل (من کودک) |
| سوم | صحبت در رابطه با من والد، حمایت‌کننده، کنترل‌کننده، سرزنش‌کننده و تغذیه‌کننده |
| چهارم | صحبت در مورد بالغ شخصیت |
| پنجم | صحبت در مورد بیماری‌های شخصیت: طرد، تسلط و آلودگی |
| ششم | بررسی چهار وضعیت زندگی |
| هفتم | بررسی انواع روابط موازی، متقاطع و پنهان |
| هشتم | بررسی رابطه سالم و چگونگی رسیدن به آن، بررسی مفهوم نوازش |
| نهم | بررسی بازدارنده‌ها در رویکرد تحلیل رفتار متقابل |
| دهم | بررسی سوق‌دهنده‌ها در تحلیل رفتار متقابل |
| یازدهم | بررسی مفهوم ردیابی و چگونگی انجام آن |
| دوازدهم | بررسی شیوه‌های ابراز احساسات و انجام پس‌آزمون |

دو گروه آزمایش (هر گروه نفر ۱۵) و یک گروه کنترل (۱۵ نفر)، ابتدا به سنجش متغیر توانمندی منش در افراد هر دو گروه آزمایش و گروه کنترل پرداخت که نتایج مربوطه به عنوان ملاکهای ورود و پیش آزمون ثبت شد. در ادامه برای گروه آزمایش اول رویکرد واقعیت درمانی و برای گروه آزمایش دوم رویکرد تحلیل رفتار متقابل به عنوان مداخله اجرا شد. در این مدت گروه کنترل هیچ نوع آموزش و درمانی را کسب نکردند. در ادامه و تحت عنوان پس آزمون، دوباره متغیر توانمندی منش در افراد هر ۳ گروه آزمایش و کنترل مورد سنجش قرار گرفت. در نهایت، داده‌های جمع‌آوری شده تحلیل آماری شد. تحلیل آماری داده‌ها به کمک تحلیل واریانس مختلط انجام شد.

ابزار گردآوری اطلاعات در پژوهش نیز شامل موارد زیر بود:

پرسشنامه توانمندی های منش (VIA-IS): این پرسشنامه توسط سلینگمن و پترسون (۲۰۰۴) تدوین شده است. این پرسشنامه دارای ۲۴ گویه است که شش مؤلفه دانش (۱ تا ۵)، شجاعت (۶ تا ۹)، انسان‌دوستی (۱۰ تا ۱۲)، عدالت (۱۳ تا ۱۵)، اعتدال (۱۶ تا ۱۹) و تعالی (۲۰ تا ۲۴) را مورد سنجش قرار می‌دهد. نمره‌گذاری این پرسشنامه به صورت ۵ درجه‌ای در مقیاس لیکرت است؛ بدین صورت که برای گزینه کاملاً شبیه من ۵، شبیه من ۴، نظری ندارم ۳، برعکس من ۲ و کاملاً برعکس من ۱ نمره در نظر گرفته شده است. دامنه نمرات این پرسشنامه بین ۲۴ تا ۱۲۰ است. نمره برش ۷۲ است. میزان روایی این پرسشنامه در پژوهش شاهنگیان و همکارانش (۱۳۹۳) با روش تحلیل عاملی تأییدی ۰/۷۸ و میزان پایایی آن با روش ضریب آلفای کرونباخ ۰/۸۸ گزارش شد.

پروتکل آموزش واقعیت‌درمانی گلاسرو: جلسات آموزشی واقعیت‌درمانی بر اساس تئوری انتخاب گلاسرو در طی ۹ جلسه ۹۰ دقیقه‌ای (۱ جلسه در هفته) به شیوه گروهی اجرا شد. محتوای جلسات واقعیت‌درمانی در جدول ۱ ارائه شده است.

پروتکل آموزش تحلیل رفتار متقابل: رویکرد تحلیل رفتار متقابل بر اساس نظریه اریک برن، به صورت گروهی و در طی ۱۲ جلسه ۹۰ دقیقه‌ای انجام شد که شرح آن در جدول ۲ ارائه شده است.

یافته‌ها

ریزشی در نمونه‌های هیچ یک از سه گروه اتفاق نیفتاد و تحلیل‌ها برای سه گروه ۱۵ نفری انجام شد. نتایج آزمون خی دو نشان داد که بین گروه‌ها از نظر هیچ یک از اطلاعات

جمعیت شناختی شامل سن، تحصیلات و مدت ناباروری در زنان نابارور تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳).

در جدول ۴، تحلیل واریانس برون‌گروهی و مقایسه میانگین مؤلفه‌های مربوط به توانمندی منش (دانش، شجاعت، انسان‌دوستی، عدالت، اعتدال، تعالی)، بین افراد گروه آزمایش پس از اجرای رویکردهای واقعیت‌درمانی و تحلیل رفتار متقابل نشان داده شده است. مقدار آماره‌ها برای مؤلفه‌ها حاکی از آن است که در مؤلفه‌های دانش ($F=26/216$; $P=0/025$)، شجاعت ($F=31/668$; $P=0/008$)، $P=$ و تعالی ($F=19/260$; $P=0/003$) اختلاف معنی‌داری بین افراد گروه آزمایش، پس از اجرای رویکردهای واقعیت‌درمانی و تحلیل رفتار متقابل وجود دارد، ولی در مؤلفه‌های انسان‌دوستی ($F=0/977$; $P=0/152$)، عدالت ($F=1/054$)، $P=0/069$ و اعتدال ($F=0/564$; $P=0/089$) هیچ گونه تفاوت معنی‌داری بین افراد گروه آزمایش پس از اجرای رویکردهای واقعیت‌درمانی و تحلیل رفتار متقابل مشاهده نشد.

بررسی نتایج و میانگین نمرات افراد نشان می‌دهد میانگین نمره مؤلفه‌های دانش و شجاعت در گروه آزمایش تحت رویکرد واقعیت‌درمانی بیشتر از گروه آزمایش تحت اجرای رویکرد تحلیل رفتار متقابل است. اما میانگین نمره مؤلفه تعالی در گروه آزمایش تحت رویکرد تحلیل رفتار متقابل بیشتر از گروه آزمایش تحت اجرای رویکرد واقعیت‌درمانی است.

به مانند نتایج به دست آمده از تحلیل واریانس برون‌گروهی، در این قسمت نیز نتایج تحلیل واریانس درون‌گروهی در جدول ۵ نشان داد که بین میانگین‌های پیش آزمون، پس آزمون و پیگیری، در مؤلفه‌های دانش ($F=154/032$; $P=0/009$)، شجاعت ($F=65/126$)، $P=0/032$ و تعالی ($F=71/894$; $P=0/006$) تفاوت معنی‌داری پس از انجام مداخله‌های آزمایشی (اجرای رویکرد واقعیت‌درمانی و تحلیل رفتار متقابل) وجود دارد. اما در مؤلفه‌های انسان‌دوستی ($F=0/987$; $P=0/214$)، عدالت ($F=1/667$; $P=0/082$) و اعتدال ($F=0/413$)، $P=0/117$ بین میانگین‌های افراد گروه آزمایش، در پیش آزمون، پس آزمون و پیگیری پس از انجام مداخله‌های آزمایشی (اجرای رویکرد واقعیت‌درمانی و تحلیل رفتار متقابل) هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

جدول ۳. نتایج آزمون خی دو برای مقایسه اطلاعات جمعیت شناختی در زنان نابارور

| متغیرها | سطوح | واقعیت درمانی تعداد(درصد) | تحلیل رفتار متقابل تعداد(درصد) | کنترل تعداد(درصد) | P-value |
|--------------|-----------|------------------------------|-----------------------------------|----------------------|---------|
| سن | ۲۱-۲۵ سال | ۵ (۳۳/۳۳) | ۴ (۲۶/۶۷) | ۶ (۴۰) | >۰/۰۵ |
| | ۲۶-۳۰ سال | ۳ (۲۰) | ۴ (۲۶/۶۷) | ۳ (۲۰) | |
| | ۳۱-۳۵ سال | ۴ (۲۶/۶۷) | ۴ (۲۶/۶۷) | ۲ (۱۳/۳۳) | |
| | ۳۶-۴۰ سال | ۳ (۲۰) | ۳ (۲۰) | ۴ (۲۶/۶۷) | |
| تحصیلات | دیپلم | ۷ (۴۶/۶۷) | ۵ (۳۳/۳۳) | ۳ (۲۰) | >۰/۰۵ |
| | کارشناسی | ۸ (۵۳/۳۳) | ۱۰ (۶۶/۶۷) | ۱۲ (۸۰) | |
| مدت ناباروری | ۳-۶ سال | ۱۱ (۷۳/۳۳) | ۹ (۶۰) | ۱۰ (۶۶/۶۷) | >۰/۰۵ |
| | ۷-۱۰ سال | ۴ (۲۶/۶۷) | ۶ (۴۰) | ۵ (۳۳/۳۳) | |

جدول ۴. تحلیل واریانس برون گروهی

| متغیر | منبع | مجموع مربعات | درجات آزادی | میانگین مربعات | F | سطح معنی داری |
|-------------|-------------|--------------|-------------|----------------|--------|---------------|
| دانش | عرض از مبدا | ۱۴۲۳/۵۹ | ۱ | ۱۴۲۳/۵۹ | ۵۴/۱۹۰ | ۰/۰۱۹ |
| | گروه ها | ۱۱۵/۳۷ | ۱ | ۱۱۵/۳۷ | ۲۶/۲۱۶ | ۰/۰۲۵ |
| | مجموع | ۴۹/۳۶۰ | ۲۸ | ۱/۷۶۲ | | |
| شجاعت | عرض از مبدا | ۵۷۹/۱۸۲ | ۱ | ۵۷۹/۱۸۲ | ۴۵/۷۸۱ | ۰/۰۰۱ |
| | گروه ها | ۱۷۲/۰۸۶ | ۱ | ۱۷۲/۰۸۶ | ۳۱/۶۶۸ | ۰/۰۰۸ |
| | مجموع | ۴۲/۲۱۷ | ۲۸ | ۱/۵۰۷ | | |
| انسان دوستی | عرض از مبدا | ۱۱۶/۳۵۵ | ۱ | ۱۱۶/۳۵۵ | ۲/۴۲۹ | ۰/۰۸۴ |
| | گروه ها | ۳۷/۱۰۴ | ۱ | ۳۷/۱۰۴ | ۰/۹۷۷ | ۰/۱۵۲ |
| | مجموع | ۱۶/۸۳۷ | ۲۸ | ۰/۶۰۱ | | |
| عدالت | عرض از مبدا | ۱۱۳/۶۶۲ | ۱ | ۱۱۳/۶۶۲ | ۴/۲۱۰ | ۰/۳۱۷ |
| | گروه ها | ۸۲/۹۰۵ | ۱ | ۸۲/۹۰۵ | ۱/۰۵۴ | ۰/۰۶۹ |
| | مجموع | ۱۹/۴۴۱ | ۲۸ | ۰/۶۹۴ | | |
| اعتدال | عرض از مبدا | ۸۲/۱۱۷ | ۱ | ۸۲/۱۱۷ | ۲/۹۹۶ | ۰/۰۷۷ |
| | گروه ها | ۴۸/۰۹۸ | ۱ | ۴۸/۰۹۸ | ۰/۵۶۴ | ۰/۰۸۹ |
| | مجموع | ۱۱/۱۷۳ | ۲۸ | ۰/۳۹۹ | | |
| تعالی | عرض از مبدا | ۲۱۴۷/۲۱۹ | ۱ | ۲۱۴۷/۲۱۹ | ۴۸/۸۵۱ | ۰/۰۱۲ |
| | گروه ها | ۵۴۳/۲۱۷ | ۱ | ۵۴۳/۲۱۷ | ۱۹/۲۶۰ | ۰/۰۰۳ |
| | مجموع | ۸۹/۲۰۳ | ۲۸ | ۳/۱۸۵ | | |

در ادامه، نتایج مشخص کرد که اثر تعاملی آزمون (پیش آزمون، پس آزمون و پیگیری) و گروه‌های آزمایش برای مؤلفه‌های دانش، شجاعت و تعالی معنی‌دار است و فرض صفر آماری مبنی بر برابر بودن اثر تعاملی آزمون (پیش آزمون، پس آزمون و پیگیری) و گروه آزمایش برای این مؤلفه‌ها رد می‌شود. اما این اثر برای مؤلفه‌های انسان دوستی، عدالت و اعتدال معنی‌دار نیست و فرض صفر این مؤلفه‌ها تأیید می‌شود.

در ادامه و با توجه به مقدار آماره F و اندازه اثر (Eta) برای مؤلفه‌های انسان دوستی ($F=18/899$; $\text{Eta}=0/37$)؛ عدالت ($F=1/208$; $\text{Eta}=0/008$) و اعتدال ($F=0/544$; $\text{Eta}=0/019$)؛ مشخص می‌شود، بین واقعیت درمانی و تحلیل رفتار

در ادامه و با توجه به مقدار آماره F و اندازه اثر (Eta) برای مؤلفه‌های دانش ($F=1/218$; $\text{Eta}=0/025$)؛ شجاعت ($F=1/217$; $\text{Eta}=0/017$) و تعالی ($F=0/569$; $\text{Eta}=0/016$)؛ مشخص می‌شود، بین واقعیت درمانی و تحلیل رفتار

آزمون است. این بیشتر بودن پس آزمون نسبت به پیش آزمون و البته مساوی بودن تقریبی با پیگیری در افراد گروه آزمایش، حاکی از افزایش توانمندی منش پس از رویکرد مداخله است که اجرای واقعیت درمانی است و از آنجا که تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش تأثیر معنادار ندارد، لذا معنی داری اثربخشی واقعیت درمانی و تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور پذیرفته می‌شود که همانا اثربخشی بیشتر واقعیت درمانی است.

متقابل در این سه مؤلفه هیچ گونه تفاوت معنی داری وجود ندارد.

در نهایت، تحلیل کلی نتایج نشان می‌دهد بین اثربخشی واقعیت درمانی و تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور تفاوت معنی داری وجود دارد ($F= 21/214$ ، $P < 0/0001$)؛ لذا فرضیه اصلی پژوهش مورد تأیید قرار می‌گیرد.

در جدول ۶ نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان می‌دهد که بین میانگین پیش آزمون و پس آزمون، پیش آزمون و پیگیری تفاوت معنی داری وجود دارد که بیشترین مقدار مربوط به پیگیری و کمترین مقدار مربوط به پیش

جدول ۵. تحلیل واریانس درون گروهی

| متغیر | منبع | مجموع مربعات | df | میانگین مربعات | F | معناداری | اندازه اثر |
|-------------|--------------------------------|------------------|----|-----------------|---------|----------|------------|
| دانش | آزمون | ۹۷/۴۳۹ | ۱ | ۹۷/۴۳۹ | ۱۵۴/۰۳۲ | ۰/۰۰۹ | ۰/۵۳ |
| | آزمون * گروه ها خطا (آزمون) | ۶۸/۱۹۲ ۵۱/۱۱۷ | ۲۸ | ۶۸/۱۹۲ ۱/۸۲۵ | ۴۳/۷۱۴ | ۰/۰۱۱ | ۰/۴۷ |
| شجاعت | آزمون | ۱۸۹/۰۱۵ | ۱ | ۱۸۹/۰۱۵ | ۶۵/۱۲۶ | ۰/۰۳۲ | ۰/۶۵ |
| | آزمون * گروه ها خطا (آزمون) | ۸۲/۱۳۴ ۶۴/۰۰۷ | ۲۸ | ۸۲/۱۳۴ ۲/۲۸۵ | ۲۷/۵۵۱ | ۰/۰۰۴ | ۰/۶۱ |
| انسان دوستی | آزمون | ۲۶/۶۷۳ | ۱ | ۲۶/۶۷۳ | ۰/۹۸۷ | ۰/۳۱۴ | ۰/۰۲۴ |
| | آزمون * گروه ها خطا (آزمون) | ۵۴/۲۱۲ ۷/۰۱۸ | ۲۸ | ۵۴/۲۱۲ ۰/۲۵۰ | ۰/۴۳۷ | ۰/۰۵۹ | ۰/۰۰۹ |
| عدالت | آزمون | ۶۱/۳۴۵ | ۱ | ۶۱/۳۴۵ | ۱/۶۶۷ | ۰/۰۸۲ | ۰/۰۳۶ |
| | آزمون * گروه ها خطا (آزمون) | ۲۱/۹۱۳ ۲۱/۷۶۶ | ۲۸ | ۲۱/۹۱۳ ۰/۷۷۷ | ۰/۸۹۳ | ۰/۰۷۵ | ۰/۰۱۷ |
| اعتدال | آزمون | ۱۳۲/۴۵۰ | ۱ | ۱۳۲/۴۵۰ | ۰/۴۱۳ | ۰/۱۱۷ | ۰/۰۴۱ |
| | آزمون * گروه ها خطا (آزمون) | ۷۲/۱۱۵ ۹/۳۶۸ | ۲۸ | ۷۲/۱۱۵ ۰/۳۳۴ | ۰/۶۹۲ | ۰/۰۶۳ | ۰/۰۰۸ |
| تعالی | آزمون | ۴۳۶/۲۶۱ | ۱ | ۴۳۶/۲۶۱ | ۷۱/۸۹۴ | ۰/۰۰۶ | ۰/۷۱ |
| | آزمون * گروه ها خطا (آزمون) | ۸۷/۵۳۱ ۵۹/۵۴۰ | ۲۸ | ۸۷/۵۳۱ ۲/۱۲۶ | ۳۵/۱۱۹ | ۰/۰۰۱ | ۰/۵۹ |

جدول ۶. نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی برای مقایسه زوجی گروهها

| متغیرها | گروه ۱ | گروه ۲ | اختلاف میانگین ها (i-j) | خطای استاندارد | P-value |
|--------------------|-----------|-----------|-------------------------|----------------|---------|
| واقعیت درمانی | پیش آزمون | پس آزمون | -۲/۱۶۷ | ۰/۹۸۱ | ۰/۱۰۷ |
| | پیش آزمون | پیگیری | -۲/۵۰۰ | ۰/۹۲۹ | ۰/۰۳۶ |
| تحلیل رفتار متقابل | پیش آزمون | پس آزمون | -۰/۳۳۳ | ۰/۴۹۹ | ۱/۰۰۰ |
| | پیش آزمون | پیگیری | -۱/۳۱۵ | ۰/۷۱۹ | ۰/۲۰۳ |
| واقعیت درمانی | پس آزمون | پیش آزمون | -۱/۳۱۹ | ۰/۶۰۳ | ۰/۰۹۴ |
| | پس آزمون | پیگیری | -۱/۲۹۸ | ۰/۴۳۵ | ۱/۰۰۰ |
| تحلیل رفتار متقابل | پیش آزمون | پس آزمون | -۴/۳۳۳ | ۰/۸۷۴ | ۱۰/۰۰ |
| | پیش آزمون | پیگیری | -۴/۴۰۰ | ۰/۹۴۶ | ۱۰/۰۰ |
| | پس آزمون | پیگیری | -۰/۰۶۷ | ۰/۳۷۴ | ۱/۰۰۰ |

بحث

هدف اساسی پژوهش حاضر، بررسی و مقایسه اثربخشی واقعیت‌درمانی و رویکرد تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش استرس در زنان نابارور بود. نتایج پژوهش نشان داد واقعیت‌درمانی بر توانمندی منش در زنان نابارور مؤثر است؛ اما تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور تأثیر معنی‌داری ندارد. در نهایت و در تأیید فرضیه اصلی پژوهش مشخص شد بین اثربخشی واقعیت‌درمانی و تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور تفاوت وجود دارد. به عبارتی دیگر، واقعیت‌درمانی به نسبت تحلیل رفتار متقابل بر توانمندی منش در زنان نابارور تأثیر بیشتری دارد.

در پژوهشی همسو با نتایج پژوهش حاضر مینی بر تأثیر واقعیت‌درمانی بر توانمندی منش در زنان نابارور (۱۵) در پژوهش خود نشان دادند که واقعیت‌درمانی بر رضایت و سازگاری روانشناختی و خودکارآمدی زنان نابارور تأثیر دارد و از آنجا که این مؤلفه‌ها به عنوان مؤلفه‌های توانمندی منش شناخته می‌شوند لذا می‌توان گفت واقعیت‌درمانی بر توانمندی منش در زنان نابارور تأثیر معنی‌داری دارد و باعث افزایش محسوس آن می‌شود (۱۶).

همچنین پژوهشی دیگر (۱۷) نشان داد مشاوره گروهی مبتنی بر نظریه انتخاب گلاسر، از طریق بهبود مسئولیت‌پذیری زنان افسرده و تغییر تمرکز آنان از در گذشته زندگی کردن به حال زندگی کردن، می‌تواند باعث بهبود خودکارآمدی و توانمندی روانشناختی آنان شود. در پژوهشی دیگر (۱۸) نشان داده شد که واقعیت‌درمانی منجر به بهبود راهبردهای مقابله با استرس و تحریف‌های شناختی در زنان باردار می‌شود.

یکی دیگر از موارد مهمی که باید مورد توجه قرار داد این است که ناباروری می‌تواند اثرات منفی بر روی سلامت روانی فرد باقی بگذارد. در این خصوص روانشناس از طریق جلسات شناخت‌درمانی، افکار فرد نابارور را به سمت پذیرش واقعیت ناباروری خود سوق می‌دهد و در مواردی که علم پزشکی قادر به تغییر وضع موجود نیست، به مراجعین کمک می‌کند تا واقعیت ناباروری خود را پذیرفته و با آن سازگار شوند؛ این امر تحت عنوان واقعیت‌درمانی شناخته می‌شود.

ناباروری یک عامل استرس‌زای مهم در زندگی است و قبول شکست باروری مشکل است. درمان ناباروری با استرس‌های ناشی از فرآیند درمان و استرس‌های ناشی از احساس گناه در فردی که نابارور تشخیص داده می‌شود، همراه است. فرآیند درمان زمانی مفید است که موجب تقویت رابطه طرفین شود نه

این‌که موجب نادیده گرفتن نیاز هر یک توسط دیگری شود. بنابراین، یکی از نکته‌های مهم در خصوص زنان نابارور، پیامدهای روانشناختی ناشی از ناباروری در زنان است.

مشکلات روانشناختی متعددی در پی ناباروری در سطح روانی و هیجانی برای افراد به وجود می‌آید، مشکلاتی که با علائم اختلال استرس پس‌آسیبی قابل مقایسه است (۱۹). علاوه بر تاثیرات مخرب فردی، بافت اجتماعی و فرهنگی نیز این اثرات مخرب را برای زوجین نابارور شدیدتر می‌کند (۲۰).

در یک مطالعه مروری (۲۰)، نتایج نشان داد که توانمندی‌های منش (به‌ویژه انعطاف‌پذیری) از جمله عواملی هستند که می‌توانند منجر به افزایش هوش اجتماعی شوند. با توجه به این یافته‌ها، می‌توان به اهمیت متغیر توانمندی‌های منش در افزایش توانایی و قابلیت زنان نابارور برای روبرویی با مشکلات و تحمل و سازگاری با مسائل ناشی از ناباروری پی برد.

شواهد فراوانی نشان می‌دهد مشکلات روانشناختی ناشی از ناباروری می‌تواند یک عامل کمکی در تشدید ناباروری و شکست درمان آن باشد (۲۱). برای نمونه (۲۲) نشان داده که ناباروری منجر به بروز بسیاری از مشکلات روانی در افراد نابارور می‌شود که این مشکلات می‌توانند در نتیجه برخی از درمان‌های ناباروری نقش داشته باشند.

همچنین، گراوسون در پژوهش خود نشان داد که ناباروری به عنوان یک عامل فشارزا موجب بروز انواع اختلالات روانی یا رفتاری در شخص نابارور می‌شود. بررسی‌ها نشان می‌دهند افراد نابارور از اضطراب، افسردگی و ترس‌های مختلف که مرتبط با عارضه‌شان است، رنج می‌برند. همچنین این افراد از تصویر مثبت نسبت به خود و عزت نفس بالایی برخوردار نیستند و مشخصه‌هایی از قبیل عدم ابراز وجود و خودتحقیری دارند. افراد نابارور، دارای افکار و رفتارهایی چون انزواطلبی، احساس گناه، بدبینی، پرخاشگری، خصومت، یأس، ناامیدی و غیره هستند (۲۳). کمک به بهبود توانمندی منش در زنان نابارور امری بود که پژوهش حاضر به صورت غیرمستقیم به آن پرداخت. بر اساس رویکرد روان‌شناسی مثبت‌نگر، هر شخص دارای توانایی‌ها و ظرفیت‌هایی است که به رشد و شکوفاتر شدن هر چه بیشتر وی کمک می‌کند. بر این اساس، می‌توان استنباط نمود که توانمندی‌های منش یکی از عوامل حائز اهمیت در برخورداری از سلامت و بهزیستی روانی و همچنین سازگاری با موقعیت‌ها و شرایط گوناگون باشد (۲۴).

در ادامه تبیین دلایل معنی‌داری، ذکر این نکته نیز حائز اهمیت است که بر اساس رویکرد روان‌شناسی مثبت‌نگر، هر

نکته مهم در این زمینه این است که با توجه به نتایج پژوهش حاضر، واقعیت‌درمانی می‌تواند به بهبود توانمندی منش زنان نابارور منجر شود. واقعیت‌درمانی بر این نگرش استوار است که همه مردم با فرهنگ‌های متفاوت، از تولد تا مرگ دارای یک نیاز روانی واحد به نام تشخیص هویت هستند.

این نوع درمان را فقط در مورد اکثر رفتارهای غیرعادی به‌کار نمی‌بندند، بلکه در مورد تمام افراد عادی و مسائل مورد علاقه آنها و تدوین شیوه صحیح تعلیم و تربیت نیز از آن استفاده می‌کنند. نظریه‌ها و عقاید فلسفی اصلی واقعیت‌درمانی آن است که آدمی در نهایت خود، تعیین‌کننده است. در ضمن گفته می‌شود که هر چند ممکن است فشارهای روانی درونی و برونی با عملکرد هیجانی فعلی مددجو رابطه مستقیم داشته باشد، اما در طولانی مدت، مددجو، خود پیرو و مسئول است و هر آنچه را مددجو انجام می‌دهد، در جهت ارضای نیازهای اساسی خود در زمینه بقا، تعلق، قدرت، شوخی، سرگرمی، آزادی و در نهایت، برای کنترل زندگی خویش است (۲۵). علی‌رغم این‌که ناباروری، مشکلات عدیده‌ای را برای زنان ایجاد می‌کند، اما متأسفانه این گروه از زنان کمتر از سوی خانواده، اجتماع و مسئولین درک می‌شوند و مورد توجه قرار می‌گیرند. لذا پیشنهاد می‌شود در زنان نابارور و به علت ایجاد مشکلات روانشناختی ناشی از ناباروری، استفاده از رویکردهای روانشناختی در کنار درمان‌های پزشکی بیش از پیش در کشور مورد توجه قرار بگیرد.

شخص دارای توانایی‌ها و ظرفیت‌هایی است که به رشد و شکوفاتر شدن هر چه بیشتر وی کمک می‌کند. بر این اساس، می‌توان استنباط کرد که توانمندی‌های منش یکی از عوامل حائز اهمیت در برخورداری از سلامت و بهزیستی روانی و همچنین سازگاری با موقعیت‌ها و شرایط گوناگون باشد.

توانمندی منش، افزون بر حس ارزشمندی بدون اتکا به دیگران، فوائد مهمی برای بهزیستی به همراه دارند و به‌منظور کمک و پیشبرد موفقیت در حوزه‌های مهم زندگی تلقی می‌شود. از این رو، حمایت و تجهیز زنان نابارور به این توانمندی‌ها بسیار حائز اهمیت است؛ زیرا این گروه که به‌طور دائم در معرض تنش و فشارهای روانی ناشی عدم توانایی برای باروری قرار دارند، در صورت داشتن نیرومندی مناسب جهت برخورد با این شرایط و همچنین ادامه درمان‌های پزشکی، سلامت و بهزیستی روانی و جسمی خود را حفظ و نقشی فعال در زندگی شخصی، خانوادگی و اجتماعی ایفا می‌کنند. در یکی دیگر از پژوهش‌های همسو (۲۴)، در مطالعه‌ای که به بررسی توانمندی‌های منش پرداخته‌اند، بیان می‌دارند که این توانمندی‌ها با تحقق اهداف، داشتن یک زندگی خوب و غنی‌سازی روابط، مرتبط هستند. این نتایج نیز بر اهمیت تقویت توانمندی‌های منش در زنان نابارور می‌افزاید، زیرا افزایش امید به زندگی، شادکامی، تلاش برای رسیدن به اهداف، زندگی خوب و تعاملات سازنده با دیگران از شاخص‌های اصلی در سلامت روانی و جسمی افراد به‌شمار می‌روند و این عوامل می‌توانند در بالا بردن کیفیت زندگی این دسته از زنان مفید و سودمند باشند.

REFERENCES

1. Purkayastha N, Sharma H. Prevalence and potential determinants of primary infertility in India: Evidence from Indian demographic health survey. *Clin Epidemiology Glob Health* 2020;9:162-70.
2. Damadi H, Shirazi E, Sadegh Esfehani N. The effect of theater therapy on general health of infertile women. *Med J Mashhad* 2019;62:160-8. [In Persian]
3. Kim M, Moon S, Kim J. Effects of psychological intervention for Korean infertile women under in vitro fertilization on infertility stress, depression, intimacy, sexual satisfaction and fatigue. *Arch Psychiatr Nurs* 2020;34:211-7.
4. Alosaimi FD, Alghamdi AH, Almufleh AS. Work-related stress and stress-coping strategies in residents and administrative employees working in a tertiary care hospital in KSA. *J Taibah Uni Med Sci* 2016;11:32-40.
5. Gurkova E, Zelenikova R. Nursing students' perceived stress, coping strategies, health and supervisory approaches in clinical practice: A Slovak and Czech perspective. *Nurse Educ Today* 2018;65:4-10.
6. Rajgariah R, Chandrashekarappa SM, Babu KV, Gopi A, Mysore NM, Kumar J. Parenting stress and coping strategies adopted among working and non-working mothers and its association with socio-demographic variables: A cross-sectional study. *Clin Epidemiol Glob Health* 2021;9:191-5.
7. Pogere EF, Lopez-Sangil MC, Garcia-Senoran MG, Gonzalez A. Teachers' job stressors and coping strategies: Their structural relationships with emotional exhaustion and autonomy support. *Teaching and Teacher Education* 2019;85:269-80.
8. Wang W, Ting Y. Reality therapy groups: It's effect on the stress reactions and coping strategies of female nurses in the critical care units. *Chinese Journal of Guidance and Counseling* 2012;32:57-84.

9. Horigome T, Kurokawa S, Sawada K, Kudo S, Shiga K, Mimura M, Kishimoto T. Virtual reality exposure therapy for social anxiety disorder: a systematic review and metaanalysis. *Psychol Med* 2020;50:2487-97.
10. Wiederhold BK, Riva G. Virtual reality therapy: Emerging topics and future challenges. *Cyberpsychol Behav Soc Netw* 2019;22:3-6.
11. Chiu H, Chen P, Chen Y, Huang H. Reality orientation therapy benefits cognition in older people with dementia: A meta-analysis. *Int J Nurs Stud* 2018;86:20-8.
12. Sardarpur M, Zagar Y, Bassak Nejad S, Mehrbizadeh Honarmand M. The effectiveness of transactional analysis therapy on social intimacy and coping styles with stress among students. *J Clin Psychol* 2016;1:85-102. [In Persian]
13. Reed P. A transactional analysis of changes in parent and chick behaviour prior to separation of Herring Gulls (*Larus Argentatus*): A three-term contingency model. *Behav Processes* 2015;118:21-7.
14. Haghighi Cheli A, Mohtashami J, Zadehmodares S, Arabborzu Z. The effect of transactional analysis group behavioral therapy on infertile women's marital satisfaction. *Crescent J Med Biol Sci* 2019;6:375-80.
15. Yamakita T, Shimizu Y, Arima M, Ashihara M, Matsunaga K. Successful treatment of multiplex alopecia areata using transactional analysis: a case report. *Case Rep Dermatol* 2014;6:248-52.
16. Aghamiri N, Niknam N. The effectiveness of reality therapy training on coping strategies and cognitive distortions among pregnant women. *Community Health* 2018;5:338-40. [In Persian]
17. Ramzi L, Sepehri Shamloo Z, AliPour A, Zare H. The effectiveness of group reality therapy in coping strategies. *J Fam Psychol* 2015;1:19-30. [In Persian]
18. Cheraghali Gol H, Hashemian K, Sahebi A. The effect of group reality therapy on the symptoms of stress and stress coping strategies among girls. *Appl Cogn Psychol* 2016;7:21-33. [In Persian]
19. Sanaeinasab H, Saffari M, Hashempour M, Karimi Zarchi AA, Alghamdi WA, Koenig HG. Effect of a transactional model education program on coping effectiveness in women with multiple sclerosis. *Brain and Behav* 2017;7:1-9.
20. Ahsangar S, Sarandi P. Investigating the relationship transactional analysis training in coping strategies with life satisfaction of women with breast cancer. *J Woman Stud Fam* 2018;11:1-27. [In Persian]
21. ElahiNejad S, Makvand Hosseini Sh, Sabahi P. Comparing the effectiveness of reality therapy and neurofeedback training on improving the quality of life in women with breast cancer. *Neuropsychol* 2020;6:63-82. [In Persian]
22. Jabbari R, Mirzahosseini H, Sadegh Mahboob S. Effectiveness of group training of transactional analysis on distress tolerance and communication skills of delinquent adolescents. *Dev Psychol: Iran Psychol* 2019;16:73-85. [In Persian]
23. Endler NS, Parker JD. Multidimensional assessment of coping: A critical evaluation. *J Pers Soc Psychol* 1990;58:844-54.
24. Sadr MM, A'azami Y, Moatamedy A, Siah Kamari R, Mamsharifi P. Investigating the role of coping strategies, purposefulness in life, and quality of life in marital adjustment of retirees. *Iranian Journal of Psychiatric Nursing (IJP)*. 2018;6:11-22. [In Persian]
25. Hadzi-Pesic M, Mitrovic M, Car KB, Stojanovic D. Personality of alcohol addict according to the theory of transactional analysis. *Procedia Soc Behav Sci* 2014;127:230-4.

Comparative study of stressors in medical and non-medical students of Tehran Islamic Azad University

Niloufar Jeyhani¹, Bahareh Akbarzadeh², Narges Hasanmoradi³, **Mohammad Sahebalzamani**⁴

¹MSc in Educational Management, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

²Nursing PhD Student, Department of Nursing, Faculty of Nursing and Midwifery, Tehran Medical Sciences Islamic Azad University, Tehran, Iran

³Associated Professor, PhD in Educational Management, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

⁴Associated Professor, Department of Management, Faculty of Health, Tehran Medical Sciences Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Stress is one of the perceived feelings in university students that plays an important role in students' academic performance and achievement which is often overlooked. Therefore, the present study was conducted to identify and compare stressors in medical and non-medical students.

Materials and methods: In this comparative descriptive study, a sample of 380 medical and non-medical students of Islamic Azad University in Tehran, who were at the first semester of the 2019-2020 academic year were selected. The study tools included a demographic information and stressors questionnaire. Data were analyzed by SPSS-16 software using descriptive statistics and independent t-test at the significant level of 0.05.

Results: There was a statistically significant difference between the medical and non-medical students of Tehran Islamic Azad University, in terms of problems related to "academic affairs", "emotions", "job, welfare and finance", "marital issues, marriage and choice of spouse", "social issues" and "family issue" ($p < 0.05$). However, no statistically significant difference was observed between the medical and non-medical students in terms of problems related to "burnout", "unexpected events such as natural disasters", "different accidents" and "behavioral characteristics and habits, and health issues" ($p > 0.05$).

Conclusion: The results of present study can help managers in developing educational frameworks to improve and create a suitable educational environment, recognize and improve coping strategies among students and to provide effective education for parents in order to reduce the stressors of students.

Keywords: *Stress, Educational stress, Students, Academic problems, Emotional problems, Social problems.*

Cited as: Jeyhani N, Akbarzadeh B, Hasanmoradi N, Sahebalzamani M. Comparative study of stressors in medical and non-medical students of Tehran Islamic Azad University. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): 442-449.

Correspondence to: Mohammad Sahebalzamani

Tel: +98 21 47916901

E-mail: m-szamani@yahoo.com

ORCID ID: 0000-0003-1730-6770

Received: 29 Dec 2020; **Accepted:** 8 Sep 2021

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی

دوره ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۴۴۲ تا ۴۴۹

بررسی مقایسه‌ای عوامل تنش‌زا در دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران

نیلوفر جیحانی^۱، بهاره اکبرزاده^۲، نرگس حسن مرادی^۳، محمد صاحب الزمانی^۴

^۱ کارشناسی ارشد مدیریت آموزشی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران شمال، تهران، ایران

^۲ دانشجوی دکتری پرستاری، گروه پرستاری، دانشکده پرستاری مامایی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران

^۳ دانشیار گروه مدیریت آموزشی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران شمال، تهران، ایران

^۴ دانشیار، گروه مدیریت، دانشکده بهداشت، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: یکی از احساسات درک شده توسط دانشجویان که نقش مهمی در عملکردها و کسب موفقیت‌های تحصیلی آنها دارد، تنش است که معمولاً مورد غفلت قرار می‌گیرد. لذا پژوهش حاضر با هدف شناسایی و مقایسه عوامل تنش‌زا در دانشجویان علوم پزشکی و غیر پزشکی انجام شد.

روش بررسی: در پژوهشی توصیفی مقایسه‌ای، ۳۸۰ نفر از دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران در نیمسال اول سال تحصیلی ۹۹-۹۸ انتخاب شدند. ابزار مطالعه شامل پرسشنامه اطلاعات فردی و عوامل تنش‌زا بود. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS/16 و آمار توصیفی و آزمون تی مستقل در سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها: در میان دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران، از نظر مشکلات مربوط به "امور تحصیلی"، "مشکلات هیجانی و عاطفی"، "مشکلات شغلی، رفاهی و مالی"، "مسائل زناشویی، ازدواج و انتخاب همسر"، "مشکلات اجتماعی" و "مشکلات خانوادگی" تفاوت آماری معنی داری وجود داشت ($p < 0/05$)، اما بین مشکلات مربوط به "داغدیدگی"، "حوادث غیر مترقبه از قبیل بلایای طبیعی و سوانح مختلف" و "خصوصیات و عادات رفتاری و مسائل بهداشتی و درمانی" تفاوت آماری معنی داری وجود نداشت ($p > 0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر می‌تواند با کمک به مدیران در تدوین چارچوب‌های آموزشی جهت بهبود و ایجاد محیط آموزشی مناسب، شناخت و ارتقاء روشهای سازگاری در دانشجویان و ارائه آموزشهای مؤثر به والدین، در کاهش عوامل تنش‌زا در دانشجویان مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: تنش، تنش آموزشی، دانشجویان، مشکلات تحصیلی، مشکلات هیجانی و عاطفی، مشکلات اجتماعی.

مقدمه

که تأکید دانشگاه‌ها و اساتید بیشتر بر روی کسب دانش و موفقیت‌های تحصیلی دانشجویان است و اغلب احساسات دانشجویان هنگام یادگیری و اثرات آن بر عملکرد تحصیلی دانشجویان مورد غفلت قرار می‌گیرد (۳)

یکی از احساسات درک شده توسط دانشجویان که می‌تواند بر عملکرد و کسب موفقیت‌های تحصیلی آنها نیز تأثیر گذار باشد، تنش آموزشی است (۴). به طور کلی تنش به عنوان بخش جدایی ناپذیر در زندگی دانشجویان می‌باشد (۵) و به طور شایع توسط دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی تجربه می‌شود (۶). تنش در دانشجویان هم ناشی از عوامل

رسالت اصلی دانشگاه‌ها به عنوان مهم‌ترین نهادهای آموزشی در هر کشور، تولید علم و فرهنگ و تربیت متخصصان مورد نیاز جامعه و در نتیجه فراهم آوردن زمینه مناسب برای رشد جوامع است (۱، ۲). این در حالی است

آدرس نویسنده مسئول: تهران، گروه مدیریت، دانشکده بهداشت، علوم پزشکی تهران دانشگاه آزاد اسلامی، محمد صاحب الزمانی (email: m-szamani@yahoo.com)

ORCID ID: 0000-0003-1730-6770

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۱۰/۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۶/۱۷

نگرفته است، لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ای عوامل تنش‌زا در دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران صورت گرفت تا بر اساس نتایج پژوهش حاضر بتوان به مدیران در تدوین چارچوب‌های آموزشی در جهت بهبود محیط آموزشی و کاهش عوامل تنش‌زا در دانشجویان و طراحی برنامه‌هایی جهت آموزش و ارتقاء راهکارهای مقابله با تنش در دانشجویان کمک کرد. همچنین نتایج این پژوهش می‌تواند به غنای متون نظری و پژوهشی پیش‌بینی عوامل تنش‌زا در دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران کمک کند.

مواد و روشها

مطالعه حاضر با کد اخلاق IR.IAU.TMU.REC یک مطالعه توصیفی مقایسه‌ای بود که با هدف بررسی مقایسه‌ای عوامل تنش‌زا در دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی شهر تهران در نیمسال اول سال تحصیلی ۹۸-۹۹ انجام شد. جامعه آماری این پژوهش را دانشجویان علوم پزشکی (۱۱۹۶۵) و غیرپزشکی (۱۰۸۱۹) دانشگاه آزاد اسلامی تهران در نیمسال مذکور تشکیل می‌دادند. حجم نمونه بر اساس جدول مورگان ۳۸۰ نفر تعیین شد که به روش نمونه‌گیری طبقه‌ای متناسب با حجم جامعه آماری دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی در هر یک از دانشکده‌های مورد مطالعه انتخاب شدند. لازم به ذکر است انتخاب نمونه‌های پژوهش در داخل طبقات (دانشکده‌های مورد مطالعه) به صورت تصادفی ساده توسط لیست اسامی دانشجویان در نیمسال مذکور صورت گرفت. معیار ورود به مطالعه شامل تمایل به شرکت در مطالعه و تحصیل در دانشگاه آزاد اسلامی تهران در نیمسال مذکور و معیار خروج عدم تمایل به شرکت در مطالعه در هر زمان از مطالعه و دانشجوی مهمان و انتقالی از سایر دانشگاه‌ها بود. ابزار گردآوری داده‌ها پرسشنامه شامل اطلاعات دموگرافیک (جنسیت، سن، وضعیت تأهل، رشته تحصیلی، دانشکده محل تحصیل) و عوامل تنش‌زا در دانشجویان بود که بر اساس سه پرسشنامه عوامل تنش‌زا هولمز و راهه (۱۹۶۷)، عوامل تنش‌زای هومن (۱۳۷۶) و رویداد‌های زندگی نوجوانان بیکل و همکارانش (۱۹۷۱) تهیه شد. این پرسشنامه شامل ۹۰ پرسش در نه خرده‌مقیاس بود که عبارتند: "مشکلات مربوط به امور تحصیلی (۱۴ مورد)"،

آموزشی و هم عوامل غیر آموزشی نظیر عوامل فردی و اجتماعی است (۷) و در نتیجه قرار گرفتن آنها در موقعیتی ایجاد می‌شود که انتظارات از آنها فراتر از منابع داخلی و خارجی در دسترسشان باشد (۳).

مواردی نظیر حجم زیاد تکالیف درسی، زمان ناکافی جهت مطالعه، دروس نامتناسب، امتحانات زیاد، انگیزه ناکافی در دانشجویان، بی‌علاقگی به رشته تحصیلی، انتظارات بالای خانواده و والدین، رقابت با سایر دانشجویان و ترس از شکست از عوامل ایجاد کننده تنش در دانشجویان مرتبط با امور تحصیلی است (۴، ۸)

نتایج یک مطالعه مشخص کرد، اکثریت دانشجویان سطح متوسطی از استرس را دارند (۵). بر اساس نتایج مطالعات حدود ۸۰-۹۰ درصد از دانشجویان علوم پزشکی تنش آموزشی را تجربه کرده اند (۹، ۱۰). در دانشجویان علوم پزشکی، آموزش بالینی، رکن اساسی در آموزش دانشجویان است (۱۱). بر مبنای نتایج مطالعات عوامل ایجاد کننده تنش مرتبط با آموزش در محیط بالینی شامل تجارب تحقیرآمیز، احساسات ناخوشایند، تجربیات بالینی و ارتباطات بین فردی (۱۲) روش آموزش مربی، محیط آموزش بالینی، برنامه ریزی آموزشی هستند (۱۳).

در مجموع نتایج مطالعات متفاوت نشان داد، شدت تنش درک شده توسط دانشجویان، اثرات مثبت و منفی بر عملکرد تحصیلی آنها دارد، به طوری که می‌توان گفت سطوح خفیف‌تر تنش منجر به افزایش انگیزه و در نتیجه بهبود عملکردهای تحصیلی آنها می‌شود، ولی سطوح بالای تنش می‌تواند منجر به اضطراب، افسردگی، اختلالات خواب، اختلالات رفتاری، کاهش اعتماد به نفس، سوء مصرف مواد، اختلال در نقش‌های اجتماعی و در نهایت منجر به افت تحصیلی و حتی ترک تحصیل در دانشجویان شود (۳، ۱۰، ۱۴، ۱۵).

بنابراین از آنجایی که سلامت روحی و جسمی تک تک دانشجویان، منشأ اثر بسیار مهمی در سازندگی و بالندگی کشور است و با توجه به اثراتی که تنش می‌تواند بر روی سلامت جسم و روان، کیفیت زندگی، عملکردهای تحصیلی و کسب موفقیت‌های دانشجویان داشته باشد (۷، ۱۸-۱۶)، لازم است منبع تنش به درستی تشخیص داده شود. بنابراین لزوم تحقیق در مورد تنش و شناخت عوامل مرتبط با آن در بین جوامع دانشجویی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و با توجه به اینکه تاکنون تحقیقی بر روی عوامل تنش‌زا در دانشجویان دانشگاه آزاد اسلامی تهران صورت

توسط آزمون تی مستقل (Independent t-test) انجام شد. جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها نیز از آزمون کولموگوروف - اسمیرنوف (Kolmogorov-smirnov) استفاده شد.

یافته‌ها

تعداد کل شرکت کنندگان در پژوهش حاضر ۳۸۰ نفر بود که از این تعداد ۲۱۰ نفر (۵۵/۳٪) را بانوان و ۱۸۰ نفر (۴۴/۷٪) را آقایان به خود اختصاص دادند. از لحاظ سن پاسخ‌دهندگان پژوهش در چهار دسته ۱۸ تا ۲۲ سال، ۲۳ تا ۲۷ سال، ۲۸ تا ۳۲ سال و بیشتر از ۳۲ سال طبقه‌بندی شدند که بیشترین میزان پاسخ‌دهندگان در رده سنی ۲۷-۲۳ سال قرار داشتند. از میان دانشکده‌های مورد مطالعه بیشترین فراوانی مربوط به دانشجویان دانشکده علوم زیستی و فناوری‌های نوین بود که ۱۱۴ نفر از نمونه آماری را تشکیل می‌دادند (۳۰/۱٪). دانشجویان دانشکده‌های داروسازی (۵۶ نفر) و بهداشت (۵۲ نفر) به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. ۳۰۵ نفر (۸۰/۳٪) از شرکت کنندگان در پژوهش مجرد و ۷۵ نفر (۱۹/۷٪) متأهل بودند. پاسخ‌دهندگان از نظر رشته تحصیلی دارای فراوانی یکسانی بودند (جدول ۱).

نتیجه آزمون کولموگوروف اسمیرنوف نشان داد ($p > 0/05$) متغیرهای تحقیق دارای توزیع نرمال هستند و لذا از تحلیل‌های پارامتریک و آزمون تی مستقل برای تحلیل داده‌های تحقیق استفاده شد (جدول ۲).

همان طور که نتایج آزمون تی مستقل نشان داد، بین مشکلات مربوط به "امور تحصیلی"، "مشکلات هیجانی و عاطفی"، "مشکلات شغلی، رفاهی و مالی"، "مسائل زناشویی، ازدواج و انتخاب همسر"، "مشکلات اجتماعی" و "مشکلات خانوادگی" در میان دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0/05$)، به طوری که مشکلات مربوط به امور "تحصیلی"، "هیجانی و عاطفی"، "شغلی، رفاهی و مالی" و "خانوادگی" در دانشجویان غیر پزشکی بیش از دانشجویان علوم پزشکی بود و مشکلات مربوط به "مسائل زناشویی، ازدواج و انتخاب همسر" و "مشکلات اجتماعی" در دانشجویان علوم پزشکی بیش از دانشجویان غیرپزشکی بود. بین مشکلات مربوط به "داغدیدی"، "حوادث غیر مترقبه از قبیل بلایای طبیعی و سوانح مختلف" و همچنین

"مشکلات هیجانی و عاطفی (۴ مورد)"، "مشکلات مربوط به داغدیدی (۶ مورد)"، "مشکلات شغلی، رفاهی و مالی (۱۳ مورد)"، "مسائل زناشویی، ازدواج و انتخاب همسر (۸ مورد)"، "حوادث غیر مترقبه از قبیل بلایای طبیعی و سوانح مختلف (۵ مورد)"، "مشکلات اجتماعی (۱۸ مورد)"، "مشکلات خانوادگی (۱۴ مورد)"، "خصوصیات و عادات رفتاری و مسائل بهداشتی و درمانی (۸ مورد)".

پرسشنامه حاضر به شکل خود امتیازدهی تکمیل شد. برای پاسخگویی به ۹۰ پرسش آن دو ستون پاسخگویی وجود داشت. در ستون اول، دانشجویان با رجوع به رویدادهای تنش‌زا در خلال دو سال اخیر یکی از دو گزینه "اتفاق افتاده" و "اتفاق نیفتاده" را انتخاب می‌کردند. تعداد پاسخ‌های مثبت به هر یک از رویدادها، نشان دهنده میزان تجربه تنش در فرد بود. در صورتی که پاسخ ستون اول گزینه "اتفاق افتاده" بود، دانشجویان در ستون دوم، که به صورت لیکرت پنج گزینه ای (خیلی زیاد، زیاد، متوسط، کم، خیلی کم) بود، شدت تنش را مشخص می‌کردند. در نمره گذاری، نخست نمره هر یک از خرده مقیاس‌ها محاسبه و سپس نمره کل از مجموع نمره‌های خرده مقیاس‌ها حاصل شد.

جهت روایی محتوی کیفی، پرسشنامه توسط ۹ نفر از متخصصین و خبرگان دانشگاهی بررسی و تغییرات اصلاحی مطابق با نظرات متخصصین در پرسشنامه اعمال شد. به منظور محاسبه ضریب پایایی ابزار در ستون اول پاسخگویی، از روش دو نیمه کردن استفاده شد. همبستگی بین دو نیمه آزمون (با تعداد مساوی سوال) برابر با ۰/۶۷ و ضریب پایایی مجموعه سوالات با فرمول گاتمن برابر با ۰/۸۰ بود که دلالت بر پایایی مناسب ابزار مورد استفاده داشت. پایایی ابزار در ستون دوم پاسخگویی، پس از جمع‌آوری ۳۰ پرسشنامه ابتدایی از میان جامعه پژوهش، توسط آلفای کرونباخ محاسبه و ضریب همبستگی ۰/۸۸ بود که بیانگر همبستگی درونی ابزار است.

پس از اخذ مجوزهای لازم از دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، ابتدا به نمونه‌های پژوهش، در ارتباط با هدف، روش و اهمیت اجرای پژوهش، توضیحات لازم داده شد. پس از کسب رضایت از آنان پرسشنامه‌ها بین نمونه‌های پژوهش توزیع شدند و در تمامی مراحل پژوهش ملاحظات اخلاقی رعایت شد. تحلیل داده‌ها از طریق نسخه ۱۶ نرم افزار SPSS در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ بر مبنای روش آمار توصیفی (فراوانی، درصد) و آمار استنباطی

جدول ۱. توزیع فراوانی (درصد) خصوصیات دموگرافیک و تحصیلی نمونه‌های پژوهش

| متغیر | فراوانی | درصد |
|-----------------------------|---------|------|
| جنسیت | | |
| زن | ۲۱۰ | ۵۵/۳ |
| مرد | ۱۸۰ | ۴۴/۷ |
| سن | | |
| ۱۸ - ۲۲ سال | ۱۱۰ | ۲۸/۹ |
| ۲۳ - ۲۷ سال | ۱۳۱ | ۳۴/۴ |
| ۲۸ - ۳۲ سال | ۹۸ | ۲۵/۹ |
| بیش تر از ۳۲ سال | ۴۱ | ۱۰/۸ |
| رشته تحصیلی | | |
| پزشکی | ۱۹۰ | ۵۰/۰ |
| غیر پزشکی | ۱۹۰ | ۵۰/۰ |
| وضعیت تاهل | | |
| مجرد | ۳۰۵ | ۸۰/۳ |
| متاهل | ۷۵ | ۱۹/۷ |
| دانشکده محل تحصیل | | |
| شیمی دارویی | ۳۹ | ۱۲/۸ |
| داروسازی | ۵۶ | ۱۴/۷ |
| علوم زیستی و فناوریهای نوین | ۱۱۵ | ۳۰/۱ |
| دندانپزشکی | ۲۱ | ۵/۲ |
| پیراپزشکی | ۲۴ | ۶/۳ |
| پزشکی | ۴۴ | ۹/۵ |
| پرستاری و مامایی | ۳۰ | ۷/۸ |
| بهداشت | ۵۱ | ۱۳/۶ |

جدول ۲. آزمون کولموگوروف - اسمیرنوف برای متغیرهای تحقیق

| آزمون | پزشکی | غیر پزشکی |
|---|-----------------------|-----------------------|
| | کولموگوروف - اسمیرنوف | کولموگوروف - اسمیرنوف |
| مشکلات مربوط به امور تحصیلی | ۰/۸۸۵ | ۰/۷۷۲ |
| مشکلات هیجانی و عاطفی | ۰/۸۱۸ | ۰/۱۴۱ |
| مشکلات مربوط به داغدیدیگی | ۰/۷۵۵ | ۰/۲۱۴ |
| مشکلات شغلی، رفاهی و مالی | ۰/۹۶۴ | ۰/۳۱۷ |
| مسائل زناشویی، ازدواج و انتخاب همسر | ۰/۹۶۳ | ۰/۲۲۱ |
| حوادث غیر مترقبه از قبیل بلایای طبیعی و سوانح مختلف | ۰/۹۳۷ | ۰/۲۲۱ |
| مشکلات اجتماعی | ۰/۸۸۲ | ۰/۲۵۸ |
| مشکلات خانوادگی | ۰/۸۵۰ | ۰/۳۵۷ |
| خصوصیات و عادات رفتاری و مسائل بهداشتی و درمانی | ۰/۷۳۱ | ۰/۱۲۲ |

"مشکلات شغلی، رفاهی و مالی"، "مسائل زناشویی، ازدواج و انتخاب همسر"، "مشکلات اجتماعی" و "مشکلات خانوادگی" در میان دانشجویان علوم پزشکی و غیر پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت ($p < 0/05$)، به طوری که مشکلات مربوط به امور "تحصیلی"، "هیجانی و عاطفی"، "شغلی، رفاهی و مالی" و "خانوادگی" در دانشجویان غیر پزشکی بیش از دانشجویان علوم پزشکی بود و مشکلات مربوط به "مسائل زناشویی، ازدواج و انتخاب

"خصوصیات و عادات رفتاری و مسائل بهداشتی و درمانی" در میان دانشجویان علوم پزشکی و غیر پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0/05$) (جدول ۳).

بحث

همان‌طور که نتایج پژوهش حاضر نشان داد، بین مشکلات مربوط به "امور تحصیلی"، "مشکلات هیجانی و عاطفی"،

جدول ۳. تعیین و مقایسه میانگین عوامل تنش زا در دانشجویان پزشکی و غیر پزشکی

| ردیف | متغیر | رشته دانشجویی | میانگین | انحراف استاندارد | آماره آزمون t | P value |
|------|---|---------------|---------|------------------|---------------|---------|
| ۱ | مشکلات مربوط به امور تحصیلی | پزشکی | ۳/۹۰ | ۰/۶۳۵ | ۷/۹۰۱ | <۰/۰۰۰۱ |
| | | غیرپزشکی | ۴/۰۱ | ۰/۶۹۳ | | |
| ۲ | مشکلات هیجانی و عاطفی | پزشکی | ۴/۰۱ | ۰/۷۶۹ | ۴/۴۳۲ | <۰/۰۰۰۱ |
| | | غیرپزشکی | ۴/۱۵ | ۰/۷۲۲ | | |
| ۳ | مشکلات مربوط به داغدیدگی | پزشکی | ۳/۶۱ | ۰/۶۳۸ | ۰/۹۳۵ | ۰/۱۲۸ |
| | | غیرپزشکی | ۴/۱۴ | ۰/۷۲۹ | | |
| ۴ | مشکلات شغلی، رفاهی و مالی | پزشکی | ۴/۳۱ | ۰/۲۹۳ | ۲/۱۰۳ | ۰/۰۰۲ |
| | | غیرپزشکی | ۴/۳۴ | ۰/۲۸۵ | | |
| ۵ | مسائل زناشویی، ازدواج و انتخاب همسر | پزشکی | ۴/۴۸ | ۰/۹۴۱ | ۵/۵۳۲ | <۰/۰۰۰۱ |
| | | غیرپزشکی | ۴/۳۰ | ۰/۷۷۷ | | |
| ۶ | حوادث غیر مترقبه از قبیل بلایای طبیعی و سوانح مختلف | پزشکی | ۳/۴۱ | ۰/۸۴۸ | ۰/۸۸۵ | ۰/۰۹۹ |
| | | غیرپزشکی | ۴/۰۸ | ۰/۹۳۷ | | |
| ۷ | مشکلات اجتماعی | پزشکی | ۴/۰۹ | ۰/۷۷۸ | ۲/۴۸۴ | ۰/۰۰۱ |
| | | غیرپزشکی | ۴/۰۲ | ۰/۸۳۵ | | |
| ۸ | مشکلات خانوادگی | پزشکی | ۳/۹۸ | ۰/۸۲۴ | ۴/۱۱۰ | ۰/۰۰۳ |
| | | غیرپزشکی | ۴/۰۲ | ۰/۸۴۵ | | |
| ۹ | خصوصیات، عادات رفتاری و مسائل بهداشتی | پزشکی | ۳/۹۸ | ۰/۸۰۱ | ۰/۷۱۷ | ۰/۳۳۱ |
| | | غیرپزشکی | ۳/۸۸ | ۰/۸۳۵ | | |

دلایل آن عدم بررسی فاکتورهای مؤثر بر تنش آموزشی در ارتباط با محیط بالینی در مطالعه حاضر است. در مطالعه حاضر عوامل مرتبط با تنش آموزشی مشترک در هر دو گروه علوم پزشکی و غیر پزشکی مورد بررسی قرار گرفت و محیط آموزش بالینی که خود سهم عمده‌ای در ایجاد تنش در دانشجویان علوم پزشکی دارد (۲۴) مورد بررسی جداگانه قرار نگرفته است.

پیرامون سایر عوامل ایجاد کننده تنش در دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی نتایج مطالعات متفاوت است، به طوری که نتایج یک مطالعه مشخص کرد بین میزان استرس درک شده توسط دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی ناشی از عوامل استرس آوری نظیر خصوصیات دموگرافیک، وضعیت اقتصادی و اجتماعی تفاوت آماری معنی‌داری وجود ندارد (۲۱) و نتایج مطالعه دیگر نیز نشان داد عوامل ایجاد کننده تنش نظیر مشکلات مرتبط با شغل و استخدام به طور معنی داری در دانشجویان غیرپزشکی بیش از دانشجویان علوم پزشکی و عواملی نظیر تغییر در زندگی اجتماعی، بیماری یا مرگ دوستان در میان دانشجویان علوم پزشکی به طور معنی داری بیش از دانشجویان غیرپزشکی است (۲۵). نتایج پژوهش حاضر نشان داد اختلاف آماری معنی‌داری در میزان تنش ناشی از "مشکلات هیجانی و عاطفی"، "مشکلات شغلی،

همسر" و "مشکلات اجتماعی" در دانشجویان علوم پزشکی بیش از دانشجویان غیر پزشکی بود. بین مشکلات مربوط به "داغدیدگی"، "حوادث غیر مترقبه از قبیل بلایای طبیعی و سوانح مختلف" و همچنین "خصوصیات و عادات رفتاری و مسائل بهداشتی و درمانی" در میان دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران تفاوت معنی داری وجود نداشت ($p > 0/05$).

نتایج اکثر مطالعات موجود بیان می‌دارند دانشجویان علوم پزشکی در مقایسه با دانشجویان غیر پزشکی، تنش، استرس و افسردگی بیشتری را تجربه می‌کنند (۱۹-۲۲)، با این وجود نتیجه یک مطالعه مشخص کرد میان سطح استرس در دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی تفاوت آماری معنی‌داری وجود ندارد (۶) و نتیجه مطالعه دیگر نیز مشخص کرد ۶۰ درصد از دانشجویان به نوعی دچار اختلالات روان است و سطح سلامت روان در دانشجویان دانشگاه آزاد، دولتی غیرپزشکی و علوم پزشکی در ایران، تفاوت آماری معنی‌داری ندارد (۲۳).

همان طور که نتایج پژوهش حاضر نشان داد، میانگین تنش ناشی از امور تحصیلی در دانشجویان غیر پزشکی به صورت معنی‌داری بیش از دانشجویان علوم پزشکی است که با نتایج اکثر مطالعات موجود همراستا نیست. شاید بتوان گفت یکی از

پژوهشی با این عنوان، به صورت سری زمانی، با استفاده از سایر ابزارها نظیر روش‌های اکتشافی و مصاحبه باز و نیز در سایر دانشگاه‌ها و شهرها صورت گیرد تا بتوان با قابلیت بیشتری نتایج پژوهش را تعمیم داد و بر این اساس راهکارها و برنامه ریزی لازم در راستای کاهش تنش دانشجویان صورت گیرد.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر عوامل تنش‌زا در دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران مسائل مربوط به امور تحصیلی، مشکلات هیجانی و عاطفی، داغدیدگی، مشکلات شغلی، رفاهی و مالی، مشکلات مربوط به مسائل زناشویی، ازدواج و انتخاب همسر، حوادث غیرمترقبه از قبیل بلایای طبیعی و سوانح مختلف، مشکلات خانوادگی، مشکلات اجتماعی، خصوصیات و عادت‌های رفتاری و مسائل بهداشتی و درمانی هستند.

نتایج پژوهش حاضر منجر به غنای متون نظری و پژوهشی پیش‌بینی عوامل تنش‌زا در دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران می‌شود. بنابراین نتایج پژوهش حاضر می‌تواند از طریق کمک به مدیران در تدوین چارچوب‌های آموزشی جهت بهبود و ایجاد محیط آموزشی مناسب، همچنین ارائه آموزش‌های مؤثر به دانشجویان در زمینه آشنایی و تقویت مکانیسم‌های سازگاری و راهکارهای مقابله‌ای با استرس و ارائه آموزش‌های مؤثر به والدین در کاهش عوامل تنش‌زا در دانشجویان، مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه رشته مدیریت آموزشی جهت کسب درجه کارشناسی ارشد خانم نیلوفر جیحانی است. در پایان از تمامی دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی و مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی تهران که ما را در این پژوهش یاری کردند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

رفاهی و مالی"، "مسائل زناشویی، ازدواج و انتخاب همسر"، "مشکلات اجتماعی" و "مشکلات خانوادگی" در میان دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی وجود دارد.

در مجموع، نتایج مطالعه حاضر در بیان عوامل ایجاد کننده تنش در دانشجویان علوم پزشکی و غیرپزشکی با نتایج سایر مطالعات هم‌راستا است. چنان‌چه عواملی نظیر فشار زیاد تکالیف، کمبود زمان جهت انجام تکالیف درسی و مطالعه، ترس از شکست، ضعف در عملکرد تحصیلی، مسائل مالی، رقابت با سایر همکلاسی‌ها، درگیری و کشمکش با خانواده و اساتید، مشکلات مرتبط با برقراری ارتباط با جنس مخالف، مشکل در سازگاری با هم‌خوابگاهی‌ها، ناتوانی در اجتماعی شدن و بر عهده گرفتن نقش‌های اجتماعی، مسائل خانوادگی، دور شدن از خانواده، تنهایی، عدم علاقه به رشته و نداشتن انگیزه کافی، ناامیدی، داشتن انتظارات زیاد از خویش، نداشتن زمان کافی برای استراحت و انجام مراقبت‌های سلامتی و بهداشتی و بنابراین مشکلات مرتبط با حیطه بهداشتی و سلامتی را به عنوان عوامل ایجاد تنش در دانشجویان بیان کردند (۴، ۸، ۹، ۲۶).

همان‌طور که دیده می‌شود مواردی که به عنوان عوامل ایجاد تنش در دانشجویان در مطالعه حاضر، مورد بررسی قرار گرفت با نتایج سایر مطالعات هم‌راستا است، زیرا همه این موارد نظیر مسائل بهداشتی، ارتباطات، تحصیلی، خانوادگی و مالی از عوامل ایجاد کننده تنش در دوران بلوغ و نوجوانی هستند (۲۶).

از جمله محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به محدودیت زمانی و کاهش قابلیت تعمیم نتایج اشاره کرد، زیرا این مطالعه از نوع توصیفی مقطعی بود که خود نتیجه‌گیری درباره علیت را دشوار ساخته و قابلیت تعمیم نتایج را کاهش می‌دهد. ابزار مورد استفاده در پژوهش نیز پرسشنامه بسته بود که خود دارای محدودیت‌هایی است، از آن جمله ممکن است برخی از افراد از ارائه پاسخ واقعی خودداری کنند. لذا پیشنهاد می‌شود

REFERENCES

1. Khorsid MR, Izadpanah AM, Farajzadeh Z, Saadatjoo SA. Factors affecting quality of education from the viewpoint of graduated nurses working in Birjand hospitals, 2012. Mod Care J 2014;11:196-202. [In Persian]
2. Ghadampour E, Farhadi A, Naghibeiranvand F. The relationship among academic burnout, academic engagement and performance of students of Lorestan University of Medical Sciences. Educ Res Med Sci 2016;8:60-8. [In Persian]
3. Aihie ON, Ohanaka BI. Perceived academic stress among undergraduate students in a Nigerian University. J Edu Soc Res 2019;9:56-66.
4. Kamtsios S, Karagiannopoulou E. Exploring relationships between academic hardiness, academic stressors and achievement in university undergraduates. Int J Appl Educ Stud 2015;1:53-73.
5. Ganesan Y, Talwar P, Fauzan N, Oon Y. A study on stress level and coping strategies among undergraduate students. Journal of Cognitive Sciences and Human Development (JCSHD) 2018;3:37-47.

6. Rahman A, Manzoor I, Qureshi I, Shamsheer A, Hassan A. Gender Difference in Stress levels among Medical and Nonmedical Students of Lahore. *Journal of Akhtar Saeed Medical & Dental College (JAMDC)* 2019;1:95-101.
7. Jain G, Singhai M. Academic stress amongst students :a review of literature. *Prestige e-Journal of Management and Research* 2017;4:58-67.
8. Bergmann C, Muth T, Loerbroks A. Medical students' perceptions of stress due to academic studies and its interrelationships with other domains of life: a qualitative study. *Med Educ Online* 2019;24:1603526.
9. Borjalilu S, Mohammadi A, Mojtahedzadeh R. Sources and severity of perceived stress among Iranian medical students. *Iran Red Crescent Med J* 2015;17:e17767.
10. Sohail N. Stress and academic performance among medical students. *J Coll Physicians Surg Pak* 2013;23:67-71.
11. Bahrami jalal S, Moghadari koosha M, Roshanaei G. Relationship between Clinical Education Stressors and Coping Strategies in Paramedic Students of Hamadan University of Medical Sciences. *J Med Educ Curric* 2019;14:209-19. [In Persian]
12. Kermansaravi F, Navvabi Rigi SD, Shahsavani A. Nursing Students View Points about Stressful Factors in Clinical Education. *Educ Res Med Sci* 2011;3:29-35. [In Persian]
13. Poorheidari M, Delvarian-Zadeh M, Yahyaee S, Montazeri A. Study of the stressful experiences of midwifery students during clinical education in the labor room. *Res Med Edu* 2017;9:66-58. [In Persian]
14. Kötter T, Wagner J, Brüheim L, Voltmer E. Perceived medical school stress of undergraduate medical students predicts academic performance: an observational study. *BMC Med Edu* 2017;17:1-6.
15. Rezaei B, Beheshtizadeh R, Falahati J. The rate and resources of stress in clinical education and its relationship with some characteristics of students, instructors and clinical environment. *Education Strategies in Medical Sciences (ESMS)* 2018;11:48-56. [In Persian]
16. Moridi M, Ozgoli G, Kariman N, Ebadi A. Validity and Reliability of the Persian Version of Medical Student Stressor Questionnaire. *Iran J Med Edu* 2018;18:474-86. [In Persian]
17. Ribeiro ÍJ, Pereira R, Freire IV, de Oliveira BG, Casotti CA, Boery EN. Stress and quality of life among university students: A systematic literature review. *Health Prof Edu* 2018;4:70-7.
18. Ramachandiran M, Dhanapal S. Academic stress among university students: a quantitative study of generation Y and Z's perception. *Pertanika J Soc Sci* 2018;26:2115-2128.
19. Shao R, He P, Ling B, Tan L, Xu L, Hou Y, et al. Prevalence of depression and anxiety and correlations between depression, anxiety ,family functioning, social support and coping styles among Chinese medical students. *BMC Psychol* 2020;8:1-19.
20. Shi M, Liu L, Wang ZY, Wang L. The mediating role of resilience in the relationship between big five personality and anxiety among Chinese medical students: a cross-sectional study. *PloS One* 2015;10:e0119916.
21. Devadas D, Sinha U, Kumar S. Perceived stress in undergraduate medical and non-medical students of Andaman & Nicobar Islands– a comparative study. *J Medical Biomed Sci* 2020;4:135-9.
22. Jafri S, Zaidi E, Aamir I, Aziz HW, Husnain Shah E, Husnain Shah M. Stress Level Comparison of Medical and Nonmedical Students: A Cross Sectional Study done at Various Professional Colleges in Karachi, Pakistan. *Acta Psychopathol* 2017;3:1-6.
23. Ghaderi M, Hardani F, Nasiri M, Fakouri E. Assessment of mental health and its related factors in Jiroft students of Higher Education Centers in 2013. *J Rafsanjan Uni Med Sci* 2015;13:949-60. [In Persian]
24. Sajadi M, Mehrabi F. Relationship between Clinical Environment Stressors and Nursing Students Self-Efficacy in Clinical Performance. *J Nurs Edu* 2019;8:44-50. [In Persian]
25. Kim NC, Kim SH, Lhm HK, Kim JH, Jung HS, Park JC, et al. Comparison of stress and life satisfaction between non-medical and medical college students. *Korean J Psychol Med* 2015;23:47-56.
26. Park S, Jang H, Lee E-S. Major stressors among Korean adolescents according to gender, educational level, residential area, and socioeconomic status. *Int J Enviro Res Pub Health* 2018;15:2-9.

Psychometrics of the self-efficacy instrument of clean intermittent urinary catheterization in patients with neural bladder admitted to rehabilitation hospitals in Tehran in 2019

Afsaneh Mostagim Ahmadabadi, Faezeh Sahbaeiroy, Shirin Hejazi

Department of Nursing, Faculty of Nursing and Midwifery, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: The incidence of neural bladder is increasing today and these people need catheterization. Intermittent clean urinary catheterization is a low-risk method for the patients.

Materials and methods: This was a descriptive methodological and validation research. For content validity, 10 people were selected by purposive method. For face validity, 25 people were chosen by convenience method. Aimed at structural validity, gradual method was used from sounding conductors. For the reliability of the questionnaire, 10 people completed the questionnaire.

Results: First, a draft was developed and two qualitative and quantitative methods were used for face validity. The effect scores of the items were not less than 1.5. None of the items less than 62% were deleted according to the table. In construct validity, exploratory factor analysis and varimax rotation methods were used and the adequacy of sample size was 0.78 by KMO test, and the results of Bartlett sphericity test were significant (4017/486 $p < 0.001$). 5 items with a share of less than 0.4 were removed and factor analysis was performed again and the number of factors was reduced to four with a variance of 40.136. The results of internal consistency of Cronbach's alpha coefficient of the whole questionnaire with 32 items were equal to 0.862 and 0.859 for women and men respectively. The results of the stability of the verification tools and the result of the ICC test (0.949) showed a good correlation coefficient for each structure.

Conclusion: The tools designed in this study are valid and reliable and can be used in various studies.

Keywords: *Psychometrics, Clean intermittent urinary catheterization self-efficacy instrument, Patients with neural bladder.*

Cited as: Mostagim Ahmadabadi A, Sahbaeiroy F, Hejazi SH. E Psychometrics of the self-efficacy instrument of clean intermittent urinary catheterization in patients with neural bladder admitted to rehabilitation hospitals in Tehran in 2019. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): 450-458.

Correspondence to: Faezeh Sahbaeiroy

Tel: +98 9123189830

E-mail: fsahbaei@sbm.ac.ir

ORCID ID: 0000-0002-2230-4377

Received: 24 Feb 2021; **Accepted:** 6 Oct 2021

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۴۵۰ تا ۴۵۸

روان‌سنجی ابزار خودکارآمدی سونداژ متناوب تمیز ادراری در بیماران مبتلا به مثانه عصبی بستری در بیمارستان‌های توانبخشی منطقه یک شهر تهران سال ۱۳۹۸

افسانه مستقیم احمدآبادی، فائزه صحبایی روی، شیرین حجازی

گروه پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: بروز مثانه عصبی در حال افزایش است و این افراد به سونداژ نیاز دارند. سونداژ متناوب تمیز ادراری روشی کم خطر برای بیماران است.

روش بررسی: این مطالعه، پژوهش توصیفی از نوع روش شناختی و اعتبارسنجی بود. برای روایی محتوا ۱۰ نفر به روش هدفمند، برای روایی صوری ۲۵ نفر به روش آسان و برای روایی سازه به روش تدریجی از مجریان سونداژ انتخاب شدند. جهت پایایی ابزار، پرسشنامه توسط ۱۰ نفر تکمیل شد.

یافته‌ها: ابتدا پیش نویس تدوین و از دو روش کیفی و کمی برای روایی صوری استفاده شد. نمرات تأثیر گوئیها کمتر از ۱/۵ نبودند. بر اساس جدول لاوشه هیچیک از گوئیهای کمتر از ۰/۶۲ حذف نشدند. در روایی سازه، از روش تحلیل عاملی اکتشافی و چرخش واریمکس استفاده شد و کفایت حجم نمونه، با آزمون $KMO = 0/78$ بود و نتایج آزمون کروییت بار تلت معنی دار بود ($p < 0/01$ ، $40/17/486$). ۵ گوئی با اشتراک کمتر از ۰/۴ حذف و تحلیل عاملی دوباره انجام شد و تعداد عوامل به چهار عدد با واریانس ۴۰/۱۳۶ رسید. نتایج همسانی درونی ضریب آلفای کرونباخ کل پرسشنامه با ۳۲ گوئی برای زنان معادل ۰/۸۶۲ و برای مردان ۰/۸۵۹ بود. نتایج ثبات عامل‌های ابزار تأیید شد و نتیجه آزمون $ICC (0/949)$ ضریب همبستگی مناسبی را در خصوص هر سازه نشان داد.

نتیجه‌گیری: ابزار طراحی شده در این مطالعه روا و پایا است و می‌تواند در مطالعات مختلف مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: روان‌سنجی، ابزار خودکارآمدی سونداژ متناوب تمیز ادراری، بیماران مبتلا به مثانه عصبی.

مقدمه

مطالعات نشان می‌دهند که بیش از ۸۴٪ افراد با صدمات نخاعی نیز دچار اختلال عملکرد مثانه می‌شوند که بر اساس سطح ضایعه متغیر است (۲،۳). مثانه عصبی تحت تأثیر بعضی بیماری‌ها از جمله دیابت، آسیب و تروما به کمر یا نخاع، دیسک کمر و گردن، مهره‌ها و جراحی در این مناطق و نیز بیماری‌هایی مانند ام‌اس و پارکینسون بیشتر بروز می‌کند (۴). نتایج تحقیقات نشان داده‌اند که در کشور انگلیس ۴۰ درصد زنان بالای ۴۵ سال گرفتار اختلالات ادراری و لذا نیازمند سونداژ هستند (۵).

از پیامدهای مثانه عصبی، انزوای اجتماعی، افسردگی، تحمیل هزینه‌های سنگین، از دست دادن شغل، ایجاد بیماری‌های

میزان بروز مثانه عصبی (Neurogenic bladder) در کشورهای در حال توسعه بطور دقیق مشخص نیست. آمارها نشان می‌دهند که در این کشورها شیوع مشکل در بیماران مبتلا به سکته مغزی ۲۹٪، در مبتلایان به مولتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis) ۵۲٪ تا ۹۷٪ و در افراد مبتلا به پارکینسون (Parkinson) بیش از ۷۲٪ است (۱). نتایج

آدرس نویسنده مسئول: تهران، گروه پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه

آزاد اسلامی، فائزه صحبایی (email: fsahbaei@sbmu.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0002-2230-4377

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۱۲/۶

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۷/۱۴

در زمینه انجام سونداژ که یک مقیاس مهارتی است، مقیاس خودکارآمدی سونداژ متناوب تمیز اداری بیماران و مراقبین در ایران وجود ندارد. لذا محقق بر آن شد تا مطالعه‌ای با عنوان روان‌سنجی (Psychometric Properties) ابزار خودکارآمدی سونداژ متناوب تمیز اداری در بیماران مبتلا به مثنه عصبی بستری در بیمارستان‌های توانبخشی منطقه یک شهر تهران سال ۱۳۹۸ انجام دهد.

مواد و روشها

پژوهش حاضر یک مطالعه توصیفی از نوع روش شناختی و اعتبارسنجی بود که در بیمارستان‌های توانبخشی منتخب منطقه یک شهر تهران انجام شد. روش نمونه‌گیری و حجم نمونه در مراحل مختلف، متفاوت و به شرح زیر بود. در بخش روایی محتوا بر اساس قضاوت خبرگان صاحب‌نظر در حوزه دانش موردنظر و همچنین متخصص در زمینه ابزارسازی تعیین شد (۱۶). برای تعیین روایی محتوا در این مطالعه، با استناد به مطالعات مشابه (۱۷)، که در این زمینه انجام گرفته است. تعداد ۱۰ نفر از خبرگان دارای دانش و تجربه کافی در زمینه روان‌سنجی، به روش هدفمند انتخاب شدند.

در روش نمونه‌گیری هدفمند، بخشی از جامعه، بر اساس قضاوت و نظر کارشناسی اساتید تحقیق و پژوهشگر و همچنین تأیید افراد صاحب‌نظر در امر تحقیق، به عنوان نمونه انتخاب می‌شوند. نمونه‌گیری هدفمند به نمونه‌گیری قضاوتی نیز معروف است و در این روش پژوهشگر، با توجه به آشنایی قبلی با جامعه برای رسیدن به هدف خود (یعنی درک عمیق پدیده مورد نظر) به صورت قضاوتی افرادی را انتخاب می‌کند که اطلاعات و درک آنها در زمینه مورد بررسی بسیار زیاد و عمیق است. این روش اساساً زمانی کاربرد دارد که تعداد افراد دارای ویژگی یا شرایط لازم در زمینه مورد مطالعه، محدود باشند. قصد پژوهشگر در این روش انتخاب مواردی است که با توجه به هدف پژوهش، اطلاعات زیادی داشته باشند. در این شرایط حجم نمونه معمولاً کوچک و محدود است (۱۸).

در بخش روایی صوری ابزار، همانند مطالعات مشابه تعداد ۳۰ نفر از مراقبین واجد شرایط، به روش آسان یا در دسترس (Convenience Sampling) انتخاب شدند که این تعداد در قسمت روایی سازه وارد مطالعه نشدند. در روش نمونه‌گیری آسان یا در دسترس که از انواع نمونه‌گیری غیراحتمالی است، برای سهولت و آسانی کار از افراد و واحدهایی در نمونه مورد

جدید، عفونت‌های مکرر اداری و افزایش مرگ و میر را می‌توان نام برد (۶).

نتایج مطالعات نشان داده‌اند که هر ساله ۱۳۰۰۰ مرگ به دلیل عفونت‌های اداری اتفاق می‌افتد؛ به علاوه ۸۰٪ عفونت‌های اداری به دلیل استفاده از سوند با ماندگاری بالا هستند. در ایالات متحده ۴۰٪ عفونت‌های بیمارستانی مربوط به عفونت‌های اداری است که علت عمده آن استفاده از سوندهای اداری طولانی مدت است. اما نتایج مطالعات نشان داده‌اند که بیماران با استفاده از روش سونداژ موقت، در مقایسه با سونداژ دائمی، کمتر دچار عفونت اداری می‌شوند (۹-۶).

سونداژ اداری دائمی عوارض متعددی مانند عفونت‌های اداری، تنگی مجرای اداری، سوراخ شدن مجرای اداری و خونریزی دارد. نتایج تحقیقات نشان داده‌اند که عفونت اداری حدود ۴۲٪ در بیماران دارای سوند اتفاق می‌افتد که می‌تواند به صورت اورتریت، سیستیت، پیلونفریت و یا باکتری می‌گذرا باشد (۱۰).

مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها گزارش کرده است که سوندهای اداری موجب ۷۵ درصد از عفونت‌هایی می‌شوند که افراد در بیمارستان به آنها دچار می‌شوند و زمان استفاده از سوند دائمی، خطر ابتلا به عفونت به بالاترین میزان خود می‌رسد (۱۱). استفاده از هر گونه اقدامی جهت کاهش یا جلوگیری از بروز عفونت‌های اداری ناشی از سونداژ اهمیت فراوانی دارد، زیرا پیدایش باکتری همراه با علائم و عوارض به طولانی شدن مدت بستری در بیمارستان و همچنین افزایش میزان مرگ و میر می‌انجامد (۱۲).

تخلیه متناوب مثنه یکی از روش‌های مهم درمانی برای بسیاری از بیماران نیازمند سونداژ است (۱۳). سونداژ متناوب در تخت، توالیت و حتی روی ویلچر قابل انجام است. نتایج تحقیقات نشان داده است که انجام به موقع سونداژ تمیز متناوب توسط خود فرد به اندازه سونداژ استریل سبب پیشگیری از عفونت اداری می‌شود. به علاوه این روش جهت پیشگیری از عفونت اداری از سونداژ دائمی مناسب‌تر است و با سونداژ توسط خود فرد احتمال انتقال عفونت از فرد دیگر به شخص دچار آسیب نخاعی کمتر می‌شود (۱۴). بیمار و یا فردی که سونداژ متناوب تمیز اداری را انجام می‌دهد باید مهارت و خودکارآمدی مورد نیاز را داشته باشد. مقیاس‌های مختلفی در زمینه‌های متفاوت از خودکارآمدی وجود دارد (۱۵).

مطالعه استفاده می‌شود که در زمان مطالعه در دسترس هستند (۱۹).

در بخش روایی سازه، نمونه‌گیری به روش تدریجی (consecutive) از مراقبین بیماران مبتلا به مئانه عصبی انجام شد. در روش نمونه‌گیری تدریجی، همه افراد واجد شرایط ورود به مطالعه و حاضر در محل یا محل‌های نمونه‌گیری، در صورت رضایت می‌توانند در مطالعه شرکت کنند. نمونه‌گیری تا زمانی که تعداد نمونه‌ها به اندازه موردنظر برسد، ادامه پیدا خواهد کرد. کتاب‌های معتبر به طور متداولی کفایت حجم نمونه را در مطالعات تحلیل عاملی بر اساس قانون سرانگشتی (Rule of thumb)، نسبت بین تعداد متغیرها یا گویه‌ها (سوالات) به شرکت کنندگان، می‌دانند. گورساج (Gursuch) به ازای هرمتغیر (سوالات پرسشنامه) به پنج شرکت کننده اشاره کرده و تاکید می‌کند که حجم نمونه نباید کمتر از ۱۰۰ نفر باشد، حتی اگر تعداد سوالات (متغیرها) کمتر از ۲۰ باشد (۲۰). بنابراین با توجه به تعداد سوالات پرسشنامه این تحقیق به ازای هر سوال، ۵ شرکت کننده در نظر گرفته شد، لذا با توجه به ۴۰ سوال پرسشنامه سونداژ زنان، تعداد ۲۰۶ مجری سونداژ زنان و به ازاء ۴۰ سوال پرسشنامه مردان تعداد ۲۰۶ مجری سونداژ مردان و در کل ۴۱۲ نفر در مطالعه شرکت داده شدند.

جهت پایایی ابزار در مطالعه حاضر از روش آزمون مجدد (Test Re Test) استفاده شد (۲۱). برای این کار پرسشنامه توسط ۱۰ نفر از نمونه‌های واجد شرایط تحقیق تکمیل و بعد از حداقل ده روز دوباره پرسشنامه توسط همان افراد تکمیل و نتایج با استفاده از روش‌های آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

در بخش پایایی برای ثبات (آزمون-آزمون مجدد)، از ۱۰ نفر از مراقبین واجد شرایط که در روایی صوری نیز مشارکت داشتند، استفاده شد. برای این کار پرسشنامه توسط ۱۰ نفر از نمونه‌های واجد شرایط تحقیق تکمیل و سپس بعد از حداقل ده روز پرسشنامه دوباره توسط همان افراد تکمیل شد و نتایج مورد تحلیل قرار گرفت. این ۱۰ نفر در پژوهش اصلی در نظر گرفته نشدند (۲۲).

در بخش پایایی برای تعیین ثبات سازه از همسانی درونی استفاده شد.

معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از:

-مجریان سونداژ سابقه مراقبت از بیمار مبتلا به مئانه عصبی حداقل دو هفته را دارا بودند.
-محدوده سنی ۱۸ تا ۶۰ سال داشتند.

-توانایی برقراری ارتباط شفاهی به زبان فارسی را داشتند.
-قادر بودن به انجام سوندگذاری متناوب ادراری و داشتن آگاهی‌های لازم در زمینه انجام سونداژ بودند.

-بیمارانی که مجری سونداژ بودند، عدم ابتلا به بیماری‌هایی که منجر به ناتوانی در امر سوندگذاری می‌شود (ناتوانی‌های جسمی- حرکتی، کاهش سطح هوشیاری و غیره) را دارا بودند.
مجریان سونداژ حداقل سواد خواندن و نوشتن جهت تکمیل پرسشنامه را داشتند.

معیارهای خروج از مطالعه شامل موارد زیر بودند:

-عدم تمایل به ادامه همکاری در طول مطالعه

-تکمیل ناقص پرسشنامه

-شرایط حاد جسمانی یا روانی مجریان سونداژ در طی مطالعه ابزار گردآوری اطلاعات، پرسشنامه خودکارآمدی سونداژ تمیز ادراری بود که با توجه به شرایط کشور ایران و نیازهای بیمارانی که از سونداژ متناوب ادراری استفاده می‌کنند ساخته و روان‌سنجی شد. به علاوه برای بخش اطلاعات دموگرافی مجریان سونداژ نیز از پرسشنامه محقق ساخته استفاده شد.

ابتدا ابزار توسط پژوهشگر و تیم تحقیق ساخته شد، سپس برای انجام مطالعه، بعد از کسب اجازه از کمیته اخلاق و اخذ کد اخلاق، پژوهشگر در محیط‌های تحقیق حضور یافت و پرسشنامه در اختیار خبرگان و مجریان سونداژ بیماران دارای مئانه عصبی قرار داده شد.

تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۴ و نرم افزار لیزرل ویرایش ۸/۸ و Amos 24.0 انجام شد. آزمون‌های مورد استفاده در بخش اطلاعات دموگرافی آزمون‌های آمار توصیفی و در بخش روایی و پایایی آزمون‌های سی وی آی، سی وی آر و در بخش تحلیل عاملی، شاخص نمونه گیری کیسر مایر الکین بودند.

یافته‌ها

برای پاسخگویی به اهداف ویژه شامل تعیین روایی صوری تعیین روایی محتوی و تعیین روایی سازه و همچنین تعیین همسانی درونی و تعیین ثبات ابزار در ابتدا پیش نویس پرسشنامه تدوین گردید. برای تعیین روایی صوری ابزار از دو روش کیفی و کمی استفاده شد. جهت بررسی کیفی روایی ابزار با ده نفر از افراد متخصص مصاحبه به عمل آمد و بنا به توصیه آنان به دلیل وجود ابهامات در معانی سوالات پرسشنامه، در جلوی بعضی از سوالات، راهنما قرار داده شد. در پرسشنامه مربوط به زنان سوالات ۵، ۸ و ۱۴ و همچنین در پرسشنامه

مربوط به مردان سوالات ۵ و ۸ مربوط به مراقبین بود که در جلوی سوال، جمله "مربوط به مراقب" اضافه شد.

در مرحله بعد پرسشنامه‌ها از نظر روایی صوری کمی مورد بررسی قرار گرفتند. برای این کار از نظرات گروه متخصص و هدف استفاده شد. برای بررسی نمرات تأثیر ابتدا از شرکت کنندگان خواسته شد تا میزان اهمیت هریک از گویه‌های پرسشنامه را در یک طیف لیکرتی ۵ قسمتی از ۱ (اصلاً مهم نیست) تا ۵ (کاملاً مهم است) مشخص کنند. سپس نمرات تأثیر از طریق فرمول نمره تأثیر محاسبه شد. در این تحقیق تمامی گویه‌ها به دلیل آن که هیچ یک کمتر از ۱/۵ نبودند، تایید شدند.

برای بررسی روایی محتوی از ده نفر از متخصصان درخواست شد تا پس از بررسی کیفی پرسشنامه‌ها، نظرات خود را براساس معیارهای رعایت دستور زبان، استفاده از واژه‌های مناسب و نمره‌دهی مناسب ارائه کنند. پس از اصلاح موارد، محاسبه شاخص‌های نسبت اعتبار محتوی (Content Validity Ratio (CVR) و شاخص اعتبار محتوی (Content Validity Index (CVI) انجام شد.

بر اساس جدول لاوشه نسبت روایی محتوی گویه‌هایی که میزان عددی CVR آن‌ها بر اساس نظرات ۱۰ نفر از متخصصین کمتر از ۰.۶۲ بود باید حذف می‌شد که طبق جدول هیچ یک از آنها از عدد اعلام شده کمتر نبودند.

جدول ۱. شاخص نمونه‌گیری کیسر-مایر-الکین (KMO) و نتایج آزمون کرویت بارتلت

| آماره KMO | ۰/۷۸ |
|---------------|----------|
| آزمون بارتلت | ۴۰۱۷/۴۸۶ |
| سطح معنی داری | <۰/۰۰۱ |

برای تعیین روایی سازه، پرسشنامه‌های تهیه شده با توجه به تعداد گویه‌ها در هر بخش به حداقل ۵ برابر تعداد سوالات به مجریان سونداژ متناوب تمیز ادرازی معادل ۲۰۶ نفر، که بیماران زن را سونداژ می‌کردند و همچنین ۲۰۶ نفر از مجریان سونداژ متناوب تمیز ادرازی معادل ۲۰۶ نفر که بیماران مرد را سونداژ می‌کردند داده شد. کلیه مجریان سونداژ زن اعم از حرفه‌ای و غیر حرفه‌ای (۱۰۰٪) زن بودند. بیشتر زنان (۴۴/۲ درصد) ۲۰-۳۰ ساله بودند. بیشترین درصد زنان (۵۹/۲ درصد) دیپلمه و کمترین درصد (۱/۰ درصد) آنان فوق لیسانس بودند. بیشترین درصد (۳۲/۵ درصد) مراقب حرفه‌ای و کمترین درصد (۲/۹ درصد) آنان بیماران بودند. بیشترین سابقه سونداژ (۴۳/۷ درصد) مربوط به شش ماه تا یک سال و کمترین درصد

(۱/۵ درصد) ۲ تا ۴ هفته بود. بیشترین درصد مجریان سونداژ (۴۴/۲ درصد) سه میلیون و کمترین درصد (۱/۹ درصد) آنان یک میلیون تومان دریافت می‌کردند. بیشترین درصد (۹۷/۶ درصد) بیماران زن سالم بود. بیشترین درصد (۶۸/۹ درصد) زنان مجرد و مابقی (۳۱/۴ درصد) متأهل بودند.

جدول ۲. عامل‌های مشخص شده توسط تحلیل عاملی

| ردیف عامل | عنوان عامل | واریانس تبیین شده |
|----------------|----------------------|-------------------|
| ۱ | اجرای پروسیجر | ۵/۵۱۸ |
| ۲ | مسائل مربوط به ادرار | ۴/۹۸۹ |
| ۳ | وسایل | ۴/۴۸۱ |
| ۴ | نظافت فردی | ۵/۳۱۱ |
| جمع کل واریانس | | ۴۰/۱۳۶ |

نتایج پژوهش در رابطه با سن مجریان سونداژ مردان نشان می‌دهد که بیشترین درصد مردان (۴۴/۲ درصد) ۲۰-۳۰ ساله و کمترین درصد آنان (۹/۷ درصد) ۶۰-۵۱ سال بودند. بیشترین درصد (۹۷/۱ درصد) واحدهای مورد پژوهش مرد و کمترین درصد (۲/۹ درصد) زن بودند. بیشترین درصد مردان (۳۵/۴ درصد) دیپلمه و کمترین درصد (۱/۵ درصد) آنان فوق لیسانس بودند. در رابطه با وضعیت مراقبت افرادی که مردان را سونداژ می‌کردند، بیشترین درصد (۲۶/۷ درصد) پرستار و کمترین درصد (۲/۹ درصد) آنان بیماران بودند.

در رابطه با سابقه سونداژ افرادی که مردان را سونداژ می‌کردند بیشترین سابقه سونداژ (۴۴/۷ درصد) مربوط به بیش از یک سال و کمترین درصد (۶/۳ درصد) ۲ تا ۴ هفته بود. بیشترین درصد (۳۳/۰ درصد) سه میلیون و کمترین درصد (۲/۹ درصد) آنان یک میلیون تومان دریافت می‌کردند. بیشترین درصد (۹۷/۰ درصد) بیماران مرد سالم بودند.

بیشترین درصد (۵۲/۴ درصد) مردان مجرد و مابقی (۴۷/۶ درصد) متأهل بودند.

در مرحله روایی سازه محقق با استفاده از نرم افزار لیزرل ورژن ۸/۸ از روش تحلیل عاملی (Factor Analysis) اکتشافی با شیوه تحلیل مولفه‌های اصلی و چرخش واریماکس برای تعیین روایی سازه استفاده کرد. قبل از انجام تحلیل عاملی اکتشافی و برای اطمینان از کفایت حجم نمونه، آزمون کیسر-مایر-الکین ((Kaiser-Mayer-Olkin (KMO) انجام شد (جدول ۱).

ملاک KMO در این تحقیق ۰/۷۸ بود. نتیجه نشان داد حجم نمونه برای تحلیل مؤلفه‌های اصلی مناسب است. به علاوه آزمون کرویت بارتلت ((Bartlett's Test of Sphericity (BT) نیز معنی‌دار بود ($p < 0.001$)، 4017.486) که نشان داد به

بالاترین ضریب آلفای کرونیخ مربوط به عامل شماره یک (۰/۹۶۹) اجرای پروسیجر و کمترین ضریب آلفای کرونیخ مربوط به عامل شماره ۴ (۰/۸۴۹) نظافت فردی بود.

برای تعیین پایایی، تعداد ۲۵ نفر از بیماران شرکت کننده در نظر گرفته شدند و ابزار ساخته شده توسط تیم تحقیق در دو نوبت و به فاصله ۱۵ روز توسط آنان تکمیل شد. بر اساس نتایج ثبات سازه‌ها، ارتباط معنی‌داری بین میانگین نمره پیش آزمون و پس آزمون در کلیه سازه‌های پرسشنامه دیده شد. نتایج ثبات عامل‌های ابزار سونداژ تمیز اداری را تأیید کرد. به علاوه بر اساس نتایج همبستگی هر سازه با نمره کل، ضریب همبستگی مناسبی در خصوص هر سازه وجود داشت و نتیجه آزمون ICC مقدار ۰/۹۴۹ را نشان داد.

بحث

نتایج این مطالعه شواهد مناسبی در خصوص استحکام ساختار عاملی و پایایی ابزار سونداژ تمیز اداری، بر اساس انجام فرایند روان سنجی مورد مطالعه را فراهم کرد. در بسیاری از تحقیقات به نظر می‌رسد که علیرغم توجه زیادی که پژوهشگران به روش شناسی پژوهش و یا تحلیل داده‌ها معطوف می‌دارند، در مورد اعتبار ابزار تحقیق، دقت نظری کمتر می‌شود و اغلب به معتبر بودن ابزار در مطالعات پیشین اکتفا می‌شود.

در هنگام انتشار یافته‌های مطالعه، بیان این جملات کلی و بدون ذکر جزئیات روایی ابزار تحقیق با بهره‌گیری روش‌های مورد استفاده غیر قابل قبول و فاقد اعتبار مناسب که از پیشنهاد چند نفر ارائه شده و یا بر اساس بررسی متون، مورد تأیید قرار گرفته است این امکان وجود دارد که یک ابزار معتبر در یک جمعیت یا موقعیت خاص، در یک جمعیت یا موقعیت دیگر، الزماً معتبر نباشد، چرا که غالباً، ابزارهای تحقیق جهت یک گروه خاص و یا یک هدف معین طراحی می‌شوند (۲۴، ۲۵).

به علاوه باید مشخص کرد که آیا سنجش اعتبار ابزار در مطالعات قبلی به شیوه صحیح انجام شده است یا خیر و همچنین ابزار مورد نظر، تا چه حد می‌تواند در موقعیت جدید نیز معتبر باشد.

برای تعیین اعتبار علمی در مطالعه حاضر ابزار اولیه طراحی شده در اختیار ده نفر از متخصصان خبره قرار گرفت. در بیشتر مطالعات برای تعیین اعتبار ابزار از افراد غیرمتخصص بهره گرفته می‌شود. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای با هدف تهیه ابزار مقیاس خودکارآمدی در مورد زایمان برای انجام اعتبار

منظور انجام تحلیل بین متغیرها همبستگی وجود دارد و در نهایت تحلیل عاملی اکتشافی با چرخش واریماکس بر روی ۳۷ گویه برای زنان و ۳۸ گویه برای مردان انجام شد.

در این پژوهش جهت تعیین تعداد عوامل در تحلیل عاملی اکتشافی از روش نمودار شن ریزه و مقدار مشخصه جهت تعیین تعداد سازه‌های پرسشنامه سونداژ تمیز اداری استفاده شد.

در پژوهش حاضر از چرخش واریماکس جهت ساده کردن و قابل تفسیر نمودن سازه‌های عاملی پرسشنامه سونداژ تمیز اداری در بیماران استفاده شد. پس از استخراج عوامل هر یک از آنها براساس متغیرهای هر عامل نام گذاری شده و میزان هم‌خوانی این عوامل با ابعاد پرسشنامه مورد بررسی قرار گرفت. در تحلیل عوامل از بارهای عامل بیش از ۰/۴ استفاده شد، و این بدان معنی است که ضریب همبستگی ۰/۴ به عنوان حداقل درجه همبستگی قابل قبول میان هر گویه و عوامل استخراج شده تعیین شد (۲۳).

در ابتدای تحلیل عاملی اکتشافی تعداد عوامل استخراج شده معادل ۶ عامل بود و در مجموع حدود ۶۵/۸۷۲ درصد واریانس را نشان می‌داد. در مرحله بعد اشتراک گویه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار از آماره اشتراک برای تشخیص متغیرهای نامناسب که واریانس آنها در توضیح واریانس عوامل اصلی کاربردی ندارد استفاده شد.

نتایج نشان داد که ۵ گویه دارای اشتراک کمتر از ۰/۴ بودند، که از مجموعه سوالات حذف شدند. این سوالات عبارت بودند از:

"دستان خود را با آب و صابون می‌شویم."

"دستان خود را با دستمال، کاملاً خشک می‌کنم."

"بسته بندی لوبریکانت یا روان کننده را باز می‌کنم."

"انتهای سوند را در ظرف جمع آوری ادرار قرار می‌دهم."

"ادرار را در توالت خالی می‌کنم."

سپس دوباره تحلیل عاملی انجام شد و با حذف گویه‌ها تعداد عوامل به چهار عدد و مقدار واریانس تبیین شده به ۴۰/۱۳۶ رسید (جدول ۲).

جهت تعیین همسانی درونی، ضریب آلفای کرونیخ برای کل پرسشنامه و هریک از ابعاد پرسشنامه محاسبه شد. آلفای کرونیخ در صورت حذف ۴ گویه پرسشنامه، بالای ۰/۸ بود و ضریب آلفای کرونیخ کل پرسشنامه برای ۳۲ گویه پرسشنامه زنان معادل ۰/۸۶۲ و برای پرسشنامه مردان ۰/۸۵۹ بود.

می‌تواند از این پس در مطالعات مختلف مورد استفاده قرار گیرد.

از محدودیت‌های پژوهش می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱- محدودیت‌های در اختیار پژوهشگر

پژوهش حاضر همانند سایر مطالعات، با محدودیت‌هایی همراه بوده است. از محدودیت‌های در اختیار پژوهشگر شرایط زمانی و مکانی نامناسب در هنگام پاسخگویی مشارکت کنندگان به سوالات پژوهش بود، که سعی شد این پژوهش در زمان و مکانی مناسب انجام شود.

حضور پژوهشگر در حین انجام مصاحبه در بخش کیفی تا حدودی بر پاسخ‌ها تاثیر گذار بود؛ لذا سعی شد تا جای امکان موازین انجام مصاحبه رعایت شود.

به علاوه خستگی مشارکت کنندگان در این تحقیق، از محدودیت دیگر این مطالعه بود که برای پیشگیری، پژوهشگر سعی کرد موضوع را لحاظ کرده و در شرایط مناسبی کار تحقیق و جمع‌آوری اطلاعات را انجام دهد.

۲- محدودیت‌های خارج از اختیار پژوهشگر

تعداد محدود مشارکت کنندگان خبره را نمی‌توان گویای کل جامعه دانست، که این مقوله از عهده پژوهشگر خارج بود.

وضعیت روحی و روانی مشارکت کنندگان خبره و بیماران در نحوه پاسخگویی آنان تاثیر گذار بود که پژوهشگر قادر به کنترل آنان نبود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران با کد اخلاق IR.IAU.TMU.REC.1398.223 است. در اینجا لازم است از واحدهای پژوهشی و کلیه کسانی که ما را در انجام پژوهش یاری کردند، کمال تشکر و قدردانی به عمل آید.

محتوایی از پانل شش نفره و گاه غیرمخصص استفاده شده است (۲۶، ۲۷)، که به نظر می‌رسد در موضوعاتی که ماهیت و ابعاد محدود دارند، شاید این تعداد و نوع افراد منطقی باشد، ولی در موضوعاتی که دارای ابعاد گسترده‌ای از لحاظ بهداشتی و سلامتی بهره گرفتن از تعداد بیشتری از متخصصان و صاحب‌نظران در عرصه‌های مختلف که به طور مستقیم با موضوع در ارتباط است بسیار کمک کننده و مفید است.

در این تحقیق در مرحله تعیین اعتبار، نظرات و نکات ارزشمند و متنوعی جمع‌آوری شد که نشان دهنده ارزشیابی ابزار از زوایای مختلف توسط اعضاء خبرگان است. از آنجا که موضوعات پژوهش در حیطه سلامت در خصوص انجام رفتار مناسب است و پیچیدگی ماهیت رفتار بر کسی پوشیده نیست، لازم است که برای دستیابی به نتایج دقیق‌تر و کامل‌تر تا حد امکان در تعیین پانل متخصصان برای اعتباریابی ابزار این گونه تحقیقات ترکیب مناسبی از صاحب‌نظران اتخاذ شود.

برای تعیین اعتماد علمی در مطالعه حاضر از سه نوع روش استفاده شد. همان گونه که در قسمت یافته‌ها نشان داده شد ضرایب پایایی به دست آمده برای مقیاس‌ها در هر سه روش با حد قابل قبول این ضرایب در متون آماری همخوانی دارد.

یافته‌ها و گزارش‌های مقیاس‌های معتبر خارجی نیز در خصوص پایایی می‌تواند تائیدی بر نتایج این پژوهش باشد؛ برای مثال یافته‌های تحقیق دیم و همکاران، اسپیر و همکاران و دولت یار و همکاران بیانگر این مطلب هستند (۲۸-۳۰).

مقیاس طراحی شده در این مطالعه دارای اعتماد علمی تائید شده نیز می‌باشد و برای استفاده در پژوهش‌های مرتبط ارایه و توصیه می‌شود. در این مطالعه تلاش شد تعیین روایی ابزار تحقیق، تا حد امکان بر اساس فرایند روان‌سنجی و با ذکر جزئیات مربوطه، اجرا شود تا شواهدی مناسب جهت کسب اطمینان از اعتبار ابزار، فراهم نماید. لذا کلیه نتایج این بررسی، پس از اصلاحات اولیه و اعمال نظرات متخصصین نشان داد که ابزار طراحی شده در مطالعه حاضر، ابزاری روا و پایا است و

REFERENCES

1. Panicker JN, Fowler CJ, Kessler TM. Lower urinary tract dysfunction in the neurological patient: clinical assessment and management. *Lancet Neurol* 2015;14:720-32.
- 2-Dorsher PT, McIntosh PM. Neurogenic bladder. *Adv Urol* 2012;2012: 816274.
- 3-Weber DJ, Sickbert-Bennett EE, Gould CV, Brown VM, Huslage K, Rutala WA. Incidence of catheter-associated and non-catheter-associated urinary tract infections in a healthcare system. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011;32:822-3.
- 4-Geng V, Cobussen-Boekhorst H, Farrell M, Gea-Sánchez I, Pearce T, Schwennesen S, et al, Editors. Evidence-based Guidelines for Best Practice in Urological Health Care. Catheterisation: indwelling catheters in adults. Arnhem (NL): European Association of Urology Nurses; 2018.
- 5-Mahajan ST, Frasure HE, Marrie RA. The prevalence of urinary catheterization in women and men with multiple sclerosis. *J Spinal Cord Med* 2013;36:632-7.

- 6-Przydacz M, Denys P, Corcos J. What do we know about neurogenic bladder prevalence and management in developing countries and emerging regions of the world? *Ann Phys Rehabil Med* 2017 ;60:341-346.
- 7-Feneley RC, Hopley IB, Wells PN. Urinary catheters: history, current status, adverse events and research agenda. *J Med Eng Technol* 2015;39:459-70.
- 8-Centers for Disease Control Prevention. Urinary tract infection (catheter-associated urinary tract infection and non-catheter-associated urinary tract infection and other urinary system infection) events. Atlanta, GA: CDC; 2015.
- 9-Rezai MS, Bagheri-Nesami M, Nikkhah A. Catheter-related urinary nosocomial infections in intensive care units: An epidemiologic study in North of Iran. *Caspian J Intern Med* 2017;8:76-82.
- 10-Ginsberg D, Gousse A, Keppenne V, Sievert KD, Thompson C, Lam W, et al. Phase 3 efficacy and tolerability study of onabotulinumtoxinA for urinary incontinence from neurogenic detrusor overactivity. *J Urol* 2012;187:2131-9.
- 11-Vahr S, Cobussen-Boekhorst H, Eikenboom J, Geng V, Holroyd S, Lester M, et al. Catheterisation: urethral intermittent in adults. Arnhem (NL): European Association of Urology Nurses; 2013.
- 12-Ministry of Health and Long-Term Care. Health data branch web portal: Ontario case costing. Toronto (ON): Queen's Printer for Ontario; 2018.
- 13-Birmingham SL, Hodgkinson S, Wright S, Hayter E, Spinks J, Pellowe C. Intermittent self catheterisation with hydrophilic, gel reservoir, and non-coated catheters: a systematic review and cost effectiveness analysis. *BMJ*. 2013; 346: e8639.
- 14-Skelly J, Eyles P, Hilts L, Worrall J, Campbell L, North J. Intermittent self-catheterization: a guide for men and women [Internet]. Hamilton: Canadian Nurse Continence Advisors; c1986–2016.
- 15-Henseler J, Ringle C.M, Sarstedt M. A new criterion for assessing discriminant validity in variance-based structural equation modeling. *J Acad Mark Sci* 2015;43:115–35.
- 16- Mokkink LB, Prinsen CA, Bouter LM, Vet HC, Terwee CB. The Consensus-based Standards for the selection of health Measurement INstruments (COSMIN) and how to select an outcome measurement instrument. *Braz J Phys Ther* 2016;20:105-113.
- 17-Llewellyn, Ellardus. Van, Zyl. Rothmann, Sebastiaan. Positive Psychological Intervention Design and Protocols for Multi-Cultural Contexts. Cham, Switzerland: Springer Nature Switzerland; 2018.
- 18-Bonett DG, Wright TA. Cronbach's alpha reliability: Interval estimation, hypothesis testing, and sample size planning. *J Organiz Behav* 2015;36:3-15.
- 19-Allame Z, Heydarinasab L, Fasanghari M, Shahmohammadi M. Examination of the Psychometric Properties of the Persian Version of the Multidimensional Orientation Toward Dying and Death Inventory Among Students. *Pract Clin Psychol* 2018; 7: 291-302.
- 20-Zyl LEV, Efendic E, Rothmann S, Shankland R. Best-practice guidelines for positive psychological intervention research design. Cham, Switzerland; Springer Nature Switzerland AG; 2019.
- 21- Souza AC, Alexandre NMC, Guirardello EB. Psychometric properties in instruments evaluation of reliability and validity. *Epidemiol Serv Saude* 2017;26:649-59.
- 22-Heale R, Twycross A, Validity and reliability in quantitative studies. *Evid Based Nurs* 2015;18:66-7.
- 23-Streiner D L, Norman G R, Cairney J. Health measurement scales: a practical guide to their development and use. USA: Oxford University Press; 2015.
- 24-Vakili MM, Jahangiri N. Content Validity and Reliability of the Measurement Tools in Educational, Behavioral, and Health Sciences Research. *J Med Educ Dev* 2018; 10:105-117.
- 25-Mohammadbeigi A, Mohammadsalehi N, Aligol M. Validity and Reliability of the Instruments and Types of MeasurementS in Health Applied Researches. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences (JRUMS)*. 2015;13:1153-1170. [In Persian]
- 26-Diem KG. A step-by-step guide to developing effective questionnaires and survey procedures for program evaluation & research. Rutgers Cooperative Research & Extension, NJAES, Rutgers, The State University of New Jersey Retrieved from University of Canberra E-reserve 2016. Available from:www.rce.rutgers.edu/evaluation. <http://orsp.rutgers.edu/humans1.html>.
- 27-Sahbaeiroy F, Ramezankhani A, Alhani F. Explanation of Pharmaceutical Care of Cardiovascular Patients Hospitalized in Hospitals Affiliated with Shahid Beheshti University of Medical Sciences. *Int J Pharm Res Allied Sci* 2016, 5:277-283.

- 28-Speyer R, Cordier R, Kertscher B, Heijnen BJ. Psychometric properties of questionnaires on functional health status in oropharyngeal dysphagia: a systematic literature review. *Biomed Res Int* 2014;2014:458678.
- 29-Moon S, Kim DH, Kim EJ, Kim YJ, Lee S. Evaluation of the validity and reliability of the Korean version of the Nursing Professional Values Scale-Revised. *Nurse Educ Today* 2014;34:325-30.
- 30-Demetrovics Z, Kiraly O, Koronczai B, Griffiths MD, Nagygyorgy K, Elekes Z, et al. Psychometric properties of the problematic internet use questionnaire Short-Form (PIUQ-SF-6) in a nationally representative sample of adolescents. *PLoS ONE* 2016; 11: e0159409.

Upper limb deep vein thromboembolism: a case report

Azin Hossein Dokht¹, Hesam Aldin Varpaei², Mostafa Mohammadi³, Hamidreza Amiri³

¹ MD, Resident of Anesthesiology, Tehran University of Medical sciences, Tehran, Iran

² BS in Nursing, Islamic Azad University Tehran Medical Sciences, Tehran, Iran

³ MD, Associate Professor, Department of Anesthesiology and Critical Care, Tehran University of Medical sciences, Tehran, Iran

Abstract

Upper limbs deep vein thrombosis is a rare event in patients, although increasing incidence is seen due to higher cancer diagnosis rate and the use of various vascular catheters. A 58-year-old man with a history of anemia was scheduled for radical prostatectomy due to prostate adenocarcinoma. The patient underwent surgery under general anesthesia. After surgery, he was transferred to the intensive care unit. At the beginning of admission, right limb edema in the distal part of the right limb (hands and wrists) was observed that was accompanied by cyanosis and pain. The patient was diagnosed with deep vein thrombosis and was treated with anticoagulant drugs. He was discharged after 4 days in a good general condition and uneventfully. This report shows that patients with venous catheters, especially patients who are candidates for surgery, are at high risk of deep vein thrombosis and need careful monitoring after surgery.

Keywords: *Deep vein thrombosis, Anesthesia, Cancer, Surgery, Heparin, Warfarin.*

Cited as: Hossein Dokht A, Varpaei HA, Mohammadi M, Amiri HR. Upper limb deep vein thromboembolism: a case report. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): **459-463**.

Correspondence to: Mostafa Mohammadi

Tel: +98 9302162867

E-mail: mohammady_mm@tums.ac.ir

ORCID ID: 0000-0002-7084-0182

Received: 5 Jul 2021; **Accepted:** 25 Oct 2021

ترومبوز وریدهای عمقی در اندام فوقانی: گزارش مورد

آذین حسین دخت^۱، حسام الدین وریانی^۲، مصطفی محمدی^۳، حمیدرضا امیری^۳^۱رزیدنت بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران^۲کارشناس پرستاری، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران^۳دانشیار، گروه بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده

ترومبوز ورید عمقی در اندام‌های فوقانی پدیده‌ای نادر در بیماران است، هر چند به دلیل افزایش تشخیص سرطان و استفاده از کاتترهای عروقی گوناگون این آمار رو به افزایش است. بیمار آقای ۵۸ ساله‌ای با سابقه آنمی بود که به دنبال علائم ادراری و با تشخیص آدنوکارسینوم پروستات کاندید جراحی رادیکال پروستاتکتومی بود. بیمار تحت بیهوشی عمومی، جراحی شد. پس از جراحی به بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) منتقل شد. در بدو پذیرش ICU ادم اندام فوقانی راست (مچ و دست) همراه با سیانوز مشاهده شد که گوده گذار نبود و با درد اندام بود. پس از بررسی‌های لازم تشخیص ترومبوز وریدهای عمقی اندام فوقانی برای بیمار مطرح شد که با هیپارین و وارفارین تحت درمان قرار گرفت. بیمار پس از ۴ روز با حال عمومی خوب و فاقد علائم پاتولوژیک ترخیص شد. از این گزارش نتیجه گیری می‌شود بیماران دارای کاتترهای وریدی، به خصوص بیماران کاندید جراحی در معرض ریسک بالای ترومبوز وریدهای عمقی هستند و نیازمند پایش دقیق از این نظر پس از جراحی هستند.

واژگان کلیدی: ترومبوز ورید عمقی، بیهوشی، سرطان، جراحی، هیپارین، وارفارین.

مقدمه

است و در برخی موارد مانند سرطان می‌تواند یک عامل پیش بینی کننده باشد (۴). هر چند تعداد اندکی به عوارض مرگبار ناشی از ترومبوز مبتلا می‌شوند، ولی با توجه به اینکه عوارض ناشی از ترومبوز اندام فوقانی مثل آمبولی ریه و سندروم پست ترومبوتیک طی مقالات با اندام تحتانی مشابه است (۵)، تشخیص به موقع و درمان آن مسأله مهمی است. این مقاله گزارشی از وقوع یک مورد ترومبوز اندام فوقانی و بررسی علت آن در این بیمار است.

معرفی بیمار

آقای ۵۸ ساله‌ای با سابقه آنمی به دنبال علائم ادراری (دیزوری، هماچوری، Terminal dribbling و کراتین بالا) تحت بررسی قرار گرفتند. در بررسی‌ها PSA بالا و افزایش حجم پروستات داشتند که تحت بیوپسی قرار گرفته و با تشخیص آدنوکارسینوم پروستات کاندید جراحی رادیکال پروستاتکتومی به همراه دیسکسیون غدد

به طور میانگین سالیانه ۱۳۱/۵ مورد ترومبوز عروق به ازای ۱۰۰،۰۰۰ جمعیت رخ می‌دهد که تنها ۴ تا ۱۰ درصد آن را ترومبوز اندام فوقانی شامل می‌شود (۱). در گذشته ترومبوز اندام فوقانی یک مورد نادر محسوب می‌شد، اما امروزه به دنبال افزایش تشخیص سرطان و استفاده از کاتترهای مرکزی، وقوع آن نیز افزایش یافته است (۲). علل مختلفی برای بروز آن ذکر شده و بررسی‌های متعددی صورت گرفته است؛ تاکنون ارتباط ترومبوز اندام فوقانی با تعبیه کاتتر مرکزی، وضعیت ترومبوفیلیک و سابقه قبلی ترومبوز ثابت شده است (۳). تشخیص ترومبوز اندام فوقانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار

آدرس نویسنده مسئول: تهران، گروه بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، بیمارستان امام خمینی دانشگاه علوم

پزشکی تهران، مصطفی محمدی (email: mohammady_mm@tums.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0002-7084-0182

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۴/۱۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۷/۳

با تشخیص DVT اندام فوقانی (بدون علائم ریوی مطرح کننده PTE، شامل تنگی نفس، درد قفسه سینه و تاکی کاردی) درمان با هپارین با ۵۰۰۰ واحد به صورت stat و سپس ۱۰۰۰ واحد در ساعت انفوزیون آغاز شد و limb elevation انجام شد. با توجه به عدم قرار گیری PTT در محدوده درمانی طی ۱۲ ساعت اولیه، هپارین وی به ۱۲۰۰ واحد در ساعت افزایش یافت. همچنین مشاوره ارتوپدی جهت بررسی برای شکستگی انجام شد که آسیب استخوانی دیده نشد. روز بعد ادم بیمار کاهش یافت، ولی همچنان حرکات اندام دردناک بود. همچنین مشاوره هماتولوژی برای بیمار انجام شد که تحت bridge تریابی با وارفارین قرار گرفت و با توجه به سابقه سرطان حداقل ۶ ماه مصرف آن برای وی تجویز شد.

در طی بستری، نکته پاتولوژیک آزمایشات سیر کاهش یابنده هموگلوبین و آنمی وی همراه با CRP بالا بود که در محدوده پس از عمل (post operation) مورد قبول بود. عمل بیمار بدون عارضه (Complications) انجام شد و علائم حیاتی طی بستری پایدار باقی ماند.

بحث

ترومبوز در اندام فوقانی به دو گروه اولیه و ثانویه تقسیم می‌شود که نوع اولیه آن به طور خودبه خودی و بدون علت مشخص است و در نوع ثانویه یک علت زمینه‌ای وجود دارد که معمولاً سرطان یا یک اقدام تهاجمی در اندام مثل تعبیه کاتتر مرکزی است (۶). هر چند از زمان بیان تریاد ویرشو (رکود جریان خون، افزایش انعقاد پذیری و ضایعه دیواره رگ) در سال ۱۸۴۶ دانش ما در ارتباط با ترومبوز افزایش یافته است، اما باید دانست که بروز ترومبوز در هر فردی به عوامل متفاوتی وابسته است و می‌تواند این مسأله را تحت شعاع قرار دهد.

طی مقالات بروز ترومبوز اندام فوقانی با موارد متفاوتی همراهی دارد که تعبیه کاتتر مرکزی و سرطان از مهم‌ترین علل آن هستند. تقریباً ۳۰ تا ۴۰ درصد موارد ترومبوز اندام فوقانی با سرطان زمینه‌ای ارتباط دارد که در طی بررسی آنتروگرید ۱۰۸۷ بیمار با ترومبوز اندام فوقانی بروز سرطان-های ریه، پروستات و کولون به ترتیب در طی ۶ ماه افزایش یافته بود (۷) که این مورد مستقل از اثر لوکال سرطان در بروز ترومبوز است. همچنین انجام دایسکشن لگنی همراه با پروستاتکتومی و همچنین انجام جراحی به صورت باز که در این مریض انجام شده بود، به طور مستقل باعث افزایش ریسک ترومبوز می‌شوند (۸).

لنفای شدند. قبل از جراحی برای بیمار whole body bone scan انجام شد، که برای متاستاز منفی بود. مشاوره قلب انجام شد که با توجه به METs مطلوب و ECG نرمال ریسک mild از جهت قلبی مطرح شد. در آزمایشات قبل از عمل، آنمی (Hb: ۱۰/۲g/l)، Vit D3: ۲۰/۳ng/ml، Ca: ۹/۲mg/dl، P: ۵/۳mg/dl و BUN=۳۰mg/dl، ESR: ۴۳mm/h، CRP: +۲mg/dl و Cr= نکات مثبت یافت شده بود.

بیمار حین عمل تحت بیهوشی عمومی با اینداکشن توسط پروپوفول و آتراکوریوم و pre medication با فنتانیل، لیدوکائین و میدازولام قرار گرفت و برای maintenance تحت ایزوفلوران بود. عمل حدود ۶ ساعت به طول انجامید. هر ۱ ساعت آتراکوریوم و فنتانیل برای وی تکرار شد و ۱۰ میلی گرم لازیکس نیز در ابتدای عمل جراحی تزریق شد. حین عمل ۴ لیتر مایع رینگر لاکتات و یک واحد P/C برای وی تزریق شد. جهت مانیتورینگ آرترا لاین در دست چپ (شریان رادیال) تعبیه شد. حین عمل علائم حیاتی پایدار بود. جهت مایع درمانی ۲ عدد IV Line، 16G در دست راست نیز تعبیه شد (دورسال متاکارپال و ورید سفالیک در قسمت دیستال). حجم خونریزی تخمینی بیمار ۷۰ میلی لیتر بود.

پس از جراحی و کسب هوشیاری طبق پروتکل بخش، بیمار جهت مراقبت به بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) منتقل شد. در بدو ورود، متوجه ادم قسمت اندام فوقانی راست (دست و مچ) همراه با سیانوز شدیم که گوده گذار نبود و با درد اندام همراه بود. مسیر وریدی (IV Line) های دست خارج شد و بیمار تحت سونوگرافی قرار گرفت. در سونوگرافی معمولی، وریدهای عمقی اولنار و رادیال از قسمت انتهایی (دیستال) تا محل درناژ به ورید براکیال حاوی internal echo و non compressible بود و فلوی وریدی در آنها یافت نشد که مطرح کننده ترومبوز وریدی عمقی (DVT: Deep vein thrombosis) حاد تا تحت حاد (Acute to Subacute) بود. وریدهای براکیال، آگزیلاری و ساب کلاوین راست حای فلوی طبیعی بودند. وریدهای سطحی در قسمت رادیال و سطح سنترال ساعد حاوی internal echo و ترومبوزه بودند و در نزدیک محل درناژ این وریدها به ورید براکیال و سفالیک ترومبوز واضح‌تر بودند. وریدها دیلاته بودند که مطرح کننده وریدهای کلترال ترومبوزه بود. همچنین ورید سفالیک در قسمت کودال آن در نزدیکی antecubital fossa ترومبوزه بود. ورید بازیلیک با ضخامت جداری افزایش یافته رویت شد که در ۱/۳ میانی آن حاوی ترومبوز بود. شریان‌های رادیال، اولنار، براکیال، آگزیلاری و ساب کلاوین راست باز و حای فلوی شریانی نرمال و فاقد ترومبوز بودند.

فوقانی را که در گذشته یک مورد نادر محسوب می‌شده را افزایش دهد. با توجه به اینکه این عارضه یکی از علل مهم موربیدیتی و مورتالیتی پس از عمل محسوب می‌شود و می‌تواند در سبک زندگی بیمار تأثیر به‌سزایی داشته باشد، اهمیت تشخیص به موقع و درمان آن را افزایش می‌دهد. باید توجه داشت که روش بیهوشی (بیهوشی عمومی) نیز یکی از عوامل مستعد کننده بروز ترومبوز وریدی است. بنابراین بیماران تحت بیهوشی عمومی که بی حرکت نیز هستند، مستعد بروز ترومبوز وریدی هستند و باید از این نظر تحت بررسی قرار گیرند.

تزریق خون در این بیمار از مسیر رگ اندام فوقانی که دچار ترومبوز شد انجام گرفت. احتمال موارد زیر از نظر خطر ایجاد ترومبوز ممکن است اهمیت داشته باشد:

- ۱ - دوز ناکافی آنتی کواگولانت در کیسه خون و تزریق با استفاده از پمپاژ یا تزریق forceful.
 - ۲ - تزریق خون که باعث استاز در ورید مربوطه شده باشد.
 - ۳ - ناسازگاری مخفی خون تزریقی با خون بیمار که با روش‌های ارزیابی انجام شده قابل تشخیص نباشد.
- پیشنهاد می‌شود، تزریق خون ترجیحاً از رگ Large boring و فلوی کافی باشد و از رگ‌هایی با قطر کم و محیطی (collapsible) تزریق نشود.
- این مطالعه با کد اخلاق IR.TUMS.VCR.REC.1399.389 به تصویب رسیده است.

از دیگر علل موثر در بروز ترومبوز، تزریق خون در حوالی عمل است که دیده شده با افزایش خطر اتفاقات ترومبوآمبولیک همراه است. در بررسی بیماران تحت جراحی آرتروپلاستی شانه (۹) و در مقاله دیگری به دنبال جراحی قلب (۱۰) بروز ترومبوز عروق عمقی افزایش نشان داده است، که این مورد با میزان محصول خونی دریافت شده ارتباط دارد. هر چند بروز ترومبوز اندام فوقانی به طور مجزا در این مقالات افزایش درصدی نشان نداده است، با افزایش بروز همه انواع ترومبوز بروز آن افزایش پیدا کرده است.

دیده شده تا ۷۰ درصد موارد ترومبوز اندام فوقانی با تعبیه کاتتر مرکزی از طریق دسترسی محیطی همراهی داشته است (۱۱). حتی در کودکان که بروز اتفاقات ترومبوآمبولیک به نسبت نادرتر است، دیده شده تعبیه کاتتر مرکزی از دسترسی محیطی با افزایش ریسک ترومبوز اندام فوقانی همراه است که با افزایش تعداد کاتتر تعبیه شده ارتباط معنی‌داری داشته است (۱۲). هر چند در این بیمار کاتتر مرکزی تعبیه نشده بود، الگوی ترومبوز و اینکه دقیقاً در محل آنژیوکت تعبیه شده بود می‌تواند احتمال همراهی این دو مورد را برانگیزد.

امروزه با افزایش امید به زندگی با افزایش بروز و تشخیص سرطان و جراحی‌های مرتبط با آن روبه‌رو هستیم. به دنبال پیشرفت تکنیک‌های جراحی، بهبود مراقبت‌های پس از آن و افزایش امکانات جهت حل مشکلات رخ داده حین و پس از عمل با افزایش بروز عوارض ناشی از این مداخلات نیز روبه‌رو هستیم که می‌تواند بروز برخی عوارض مانند ترومبوز عروق

REFERENCES

1. Martinez C, Cohen AT, Bamber L, Rietbrock S. Epidemiology of first and recurrent venous thromboembolism: a population-based cohort study in patients without active cancer. *Thromb Haemost* 2014;112:255-63.
2. Baarslag HJ, Koopman MM, Reekers JA, van Beek EJ. Diagnosis and management of deep vein thrombosis of the upper extremity: a review. *Eur Radiol* 2004 ;14:1263-74.
3. Prandoni P, Polistena P, Bernardi E, Cogo A, Casara D, Verlato F, et al. Upper-extremity deep vein thrombosis: risk factors, diagnosis, and complications. *Arch Int Med* 1997;157:57-62.
4. Girolami A, Prandoni P, Zanon E, Bagatella P, Girolami B. Venous thromboses of upper limbs are more frequently associated with occult cancer as compared with those of lower limbs. *Blood coagulation & fibrinolysis: J Thromb Haemost* 1999;10:455-7.
5. Sajid MS, Ahmed N, Desai M, Baker D, Hamilton G. Upper limb deep vein thrombosis: a literature review to streamline the protocol for management. *Acta Haematologica* 2007;118:10-8.
6. Leebeek FW, Kappers-Klunne MC, Gómez-García EB. Deep venous thrombosis of the arm: etiology, diagnosis and treatment. *Ned Tijdschr Geneesk* 2000;144:361-4. [In Dutch]
7. Adelborg K, Horváth-Puhó E, Sundbøll J, Prandoni P, Ording A, Sørensen HT. Risk and prognosis of cancer after upper-extremity deep venous thrombosis: A population-based cohort study. *Thromb Res* 2018;161:106-110.
8. Tyrantzis SI, Wallerstedt A, Steineck G, Nyberg T, Hugosson J, Bjartell A, et al. Thromboembolic complications in 3,544 patients undergoing radical prostatectomy with or without lymph node dissection. *J Urol* 2015;193:117-25.
9. Grier AJ, Bala A, Penrose CT, Seyler TM, Bolognesi MP, Garrigues GE. Analysis of complication rates following perioperative transfusion in shoulder arthroplasty. *J Shoulder Elbow Surg* 2017;26:1203-1209.

10. Ghazi L, Schwann TA, Engoren MC, Habib RH. Role of blood transfusion product type and amount in deep vein thrombosis after cardiac surgery. *Thromb Res* 2015;136:1204-10.
11. ALKindi SY, Chai-Adisaksopha C, Cheah M, Linkins LA. Management of cancer-associated upper extremity deep vein thrombosis with and without venous catheters at a tertiary care center. *Thromb Res* 2018;166:92-95.
12. Gnannt R, Waespe N, Temple M, Amirabadi A, Liu K, Brandão LR, et al. Increased risk of symptomatic upper-extremity venous thrombosis with multiple peripherally inserted central catheter insertions in pediatric patients. *Pediatr Radiol* 2018;48:1013-1020.

Early dysfunction of transplanted kidney revealed the cause of recurrent nephrolithiasis: a case report of primary hyperoxaluria

Roxana Peysepar¹, Farahnaz Pasha², Ahmad Firoozan³, Amirhossein Zabolian⁴

¹ MD, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

³ Associate Professor, Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Shahid Labbafinejad Medical Center, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran

⁴ Young Researcher and Elite Club, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Primary hyperoxaluria (PH) disorder causes end-stage renal disease (ESRD). Missed diagnosis or relapse in transplanted kidney is common. We present a 36-year-old patient with a history of recurrent renal calculus which progressed to end-stage renal disease. He underwent kidney-transplant surgery. Renal function tests had worsening progressively at first-week post-transplant. Transplanted kidney biopsy lead to the underlying PH. His several admissions and complications make us to report the case and suggest re-evaluation of PH before the kidney transplant in ESRD.

Keywords: *End-stage renal disease (ESRD), Primary hyperoxaluria (PH), Kidney transplant.*

Cited as: Peysepar R, Pasha F, Firoozan A, Zabolian AH. Early dysfunction of transplanted kidney revealed the cause of recurrent nephrolithiasis: a case report of primary hyperoxaluria. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): 464-467.

Correspondence to: Farahnaz Pasha

Tel: +98 21 22006660

E-mail: fpasha@iautmu.ac.ir

ORCID ID: 0000-0002-9326-072X

Received: 15 May 2021; **Accepted:** 6 Jul 2021

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۴۶۴ تا ۴۶۷

افت عملکرد زود هنگام کلیه پیوندی در بیمار با سابقه سنگ کلیه متعدد: گزارش مورد هایپراگزالوری اولیه

رکسانا پی سپار^۱، فرحناز پاشا^۲، احمد فیروزان^۳، امیرحسین زابلیان^۴

^۱ پزشک، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^۲ استادیار، بخش نفرولوژی، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^۳ دانشیار، بخش نفرولوژی، گروه پزشکی داخلی، مرکز پزشکی شهید لبافی نژاد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
^۴ محقق باشگاه پژوهشگران جوان و باشگاه نخبگان، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

هایپراگزالوری اولیه می‌تواند منجر نارسایی کلیه شود و احتمال عدم تشخیص این مشکل یا عود در کلیه پیوندی شایع است. در این مقاله یک بیمار ۳۶ ساله با سابقه عود متعدد سنگ کلیه که منجر به نارسایی کلیوی شده است را معرفی می‌کنیم که تحت پیوند کلیه قرار گرفت و در عرض یک هفته کلیه پیوندی عملکرد خود را از دست داد و بیوپسی از کلیه پیوندی، بیماری زمینه‌ای هایپراگزالوری اولیه را تشخیص داد. بستری‌های متعدد و عوارض این بیمار ما را بر آن داشت تا با گزارش این مورد پیشنهاد بررسی مجدد هایپراگزالوری اولیه پیش از پیوند و در مرحله نارسایی انتهایی کلیوی را بدهیم.
واژگان کلیدی: نارسایی کلیوی، هایپراگزالوری اولیه، پیوند کلیه.

مقدمه

مشکلات متابولیسم کلسیم، اوریک اسید، اگزالات، سیستئین یا عفونت‌های مکرر سیستم ادراری از علل شناخته شده عود سنگ‌های ادراری هستند. اگزالات می‌تواند سبب تولید کریستال‌های داخلی توبولی و تولید سنگ‌های کلیوی شوند. هایپراگزالوری اکثراً ثانویه به افزایش مصرف یا افزایش برداشت روده‌ای است. تولید اندوژن اگزالات به علت نقص ژنتیکی و در نتیجه نقص آنزیم کبدی در مسیر متابولیسم اگزالات سبب هایپراگزالوری تحت عنوان هایپراگزالوری اولیه می‌شود (۱). در ادامه بیماری با سابقه سنگ کلیه عود کننده منجر به نارسایی کلیوی مرحله انتهایی را تشریح خواهیم کرد که بعد از پیوند

کلیه نیز دچار رسوب اگزالات در کلیه پیوندی و سبب تشخیص هایپراگزالوری اولیه نوع یک در این بیمار شد.

معرفی مورد

مرد ۳۶ ساله تک کلیوی با سابقه هشت ساله عود سنگ کلیه که منجر به نارسایی کلیه و دیالیز شده بود، بعد از چهار ماه از شروع دیالیز تحت پیوند کلیه از دهنده زنده قرار گرفت. بیمار تحت درمان القایی با متیل پردنیزولون و التوزومب و سپس مایکوفنولات، پردنیزولون و سیکلوسپورین به عنوان درمان نگه دارنده قرار گرفت. بعد از پنج روز از پیوند حجم ادرار وی کاهش ناگهانی پیدا کرد و میزان کراتینین سرم افزایش یافت. درمان آنتی تیموس گلوبین، سیکلوسپورین و تاکرولیموس برای بیمار شروع شد. روز هفت بعد از پیوند به علت افزایش پتاسیم دوباره دیالیز با فیلتر با شار بالا برای بیمار شروع شد. در بررسی کالرداپلر هماتوم یا ترومبوز گزارش نشد. در اسکن DTPA کاهش عملکرد

آدرس نویسنده مسئول: تهران، بخش نفرولوژی، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، فرحناز پاشا (email: fpasha@iautmu.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0002-9326-072X

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۲/۲۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۴/۱۵

و پرفیوژن کلیه پیوندی گزارش شد. بررسی پاتولوژی نمونه بیوپسی از کلیه پیوندی مؤید آسیب توبولی ناشی از رسوب کریستال‌های اگزالات بود و شواهدی از پس زدن حاد، نفریت بینابینی و توکسیسیته ناشی از مهار کننده های کلسی نورین وجود نداشت. بررسی های تکمیلی نشان دهنده هایپراگزالوری اولیه بود. در بررسی ژنتیک، موتاسیون هموزیگوت AGXT1 در اگزون هفت گزارش شد و تایید کننده هایپراگزالوری اولیه تیپ یک بود.

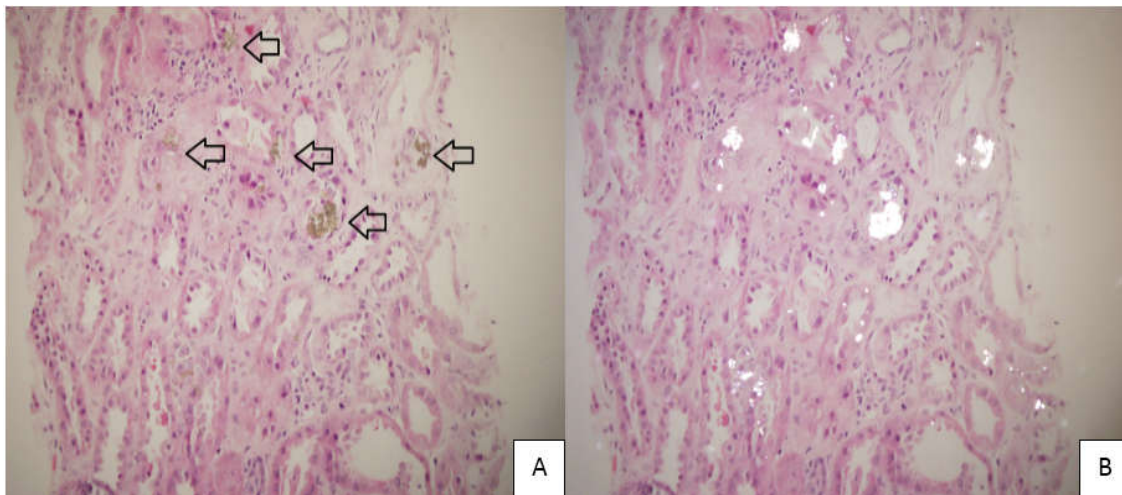
درمان به صورت کاهش مصرف مواد حاوی اگزالات و درمان با پیریدوکسین در کنار همودیالیز شروع شد. سه ماه بعد، بیمار با درد پهلو و تب بستری شد و به علت پایداری تب و کشت خون مثبت بعد از درمان طولانی مدت آنتی بیوتیکی تصمیم به خروج کلیه پیوندی گرفته شد. کلیه پیوندی بسیار بزرگ، سخت و احاطه شده با تجمعات چرکی متعدد و حاوی سنگ‌های متعدد کلسیم اگزالات بود. در بررسی میکروسکوپی رسوب کلسیم اگزالات و میکروکلسیفیکاسیون گزارش شد. بیمار تحت پیوند همزمان کبد و کلیه قرار گرفت (شکل ۱).

بحث

هایپر اگزالوری در اثر فقدان نسبی یا کامل آلانین گلی اگزالات ترانس آمیناز (AGT) ایجاد می‌شود، که باعث افزایش تولید کلسیم اگزالات و رسوب آن در اعضای مختلف، به ویژه سیستم ادراری می‌شود که می‌تواند به صورت سنگ ادراری، نفروکلسینوز و کاهش عملکرد کلیه تظاهر کند. ظرفیت پاک سازی اگزالات از سرم با کاهش کلیرانس کلیوی به کمتر از

۴۰ ml/min کاهش پیدا می‌کند. افزایش اگزالات سرم به بالای ۳۰ micromoles/L سبب رسوب کلسیم اگزالات در بافت‌های مختلف از جمله شبکه، بافت عصبی، میوکاردا، عروق خونی، پوست، مفاصل، مغز استخوان می‌شود. هایپراگزالوری می‌تواند سبب کاهش بینایی، نوروپاتی، بیماری اسکمییک قلبی، آریتمی، لیویدورتیکولاریس، گانگرن پوستی، کلسیفیلاکسی، کندروکلسینوز، سینوویت و دفرمیتی های استخوانی شود (۲). بیمار مورد بحث از سن ۲۸ سالگی سنگ کلیه را تجربه کرده است که به صورت رنال کولیک تظاهر پیدا کرده است و در سونوگرافی متوجه نبود کلیه سمت راست در محل آناتومیک خود شده‌اند. در پیلوگرافی با تزریق داخل وریدی (IVP) کلیه راست به صورت چروکیده، کوچک، کلسیفیه و بدون عملکرد گزارش شد که احتمالاً این تغییرات به علت بیماری زمینه‌ای ناشناخته هایپراگزالوری اولیه است. مشخص نیست چرا کلیه راست در این حد شدید درگیر شده بود و تظاهر بالینی نداشت، در حالی که در کلیه چپ تنها درگیری به صورت سنگ کلیه بود و تست‌های عملکرد کلیوی را در حد نرمال حفظ کرده بود.

هایپر اگزالوری اولیه تا زمان ایجاد نارسایی کلیوی مرحله نهایی یا رسوب کلسیم اگزالات در کلیه پیوندی ممکن است تشخیص داده نشده باقی بماند (۸-۳). در ۳۰ الی ۶۰ درصد موارد رسوب کلسیم اگزالات در کلیه پیوندی سبب تشخیص هایپراگزالوری اولیه است. همچنان که در مورد بیمار این گزارش چنین رخ داده است (۹). تشخیص هایپراگزالوری بسیار دشوار است، چرا که طیف وسیعی از تظاهرات را ممکن



شکل ۱. نمونه بیوپسی از کلیه پیوندی زیر میکروسکوپ نوری. A: رسوبات قهوه‌ای کلسیم اگزالات زیر نور عادی، B: رسوبات کلسیم اگزالات زیر نور پولاریزه

بیماران با هایپر اگزالوری اولیه و نارسایی انتهایی کلیوی در قیاس با بیماران با نارسایی کلیوی بدون هایپراگزالوری اولیه بیشتر است (۱۱) که در این مرحله گرچه بررسی برای هایپراگزالوری دیر به نظر می‌رسد، ولی اگر در مورد بیمار ما دوباره در مرحله نارسایی انتهایی کلیه سطح سرمی اگزالات اندازه گیری می‌شد می‌توانست به تشخیص زودتر بیماری زمینه‌ای کمک کند و از اینکه بیمار دو نوبت تحت پیوند قرار گیرد و از عوارض بعد از پیوند اولیه جلوگیری کند. پیشنهاد نویسندگان این مقاله انجام آزمایش ژنتیک بررسی هایپراگزالوری در بیماران با سابقه سنگ کلیه عود کننده منجر به نارسایی انتهایی کلیه، پیش از پیوند کلیه است. این مقاله با کد اخلاق IR.IAU.TMU.REC.1399.568 به تصویب رسیده است.

است بروز دهد. بسیاری از افرادی که به عنوان هایپراگزالوری ثانویه در نظر گرفته شده‌اند ممکن است دچار هایپراگزالوری اولیه باشند (۱۰). از زمان آنوریک شدن بیمار حدود دو هفته بعد از پیوند کلیه برای بیمار پیریدیکسین برای کاهش تولید میزان اگزالات تجویز شد (۳). افزایش مصرف آب، قرص پتاسیم سترات و هیدروکلروتیازید با توجه تحت دیالیز بودن بیمار تجویز نشد.

برای جلوگیری از ایجاد مشکل برای پیوند کلیه، تست‌های متابولیک خون و ادرار شامل بررسی هایپراگزالوری پیش از پیوند کلیه در بیماران با سابقه سنگ کلیه یا نفروکلکسینوز توصیه می‌شود (۳). در بررسی‌های اولیه به علت تکرار سنگ کلیه برای بیماران انجام شد و متأسفانه نتیجه به نفع هایپراگزالوری اولیه وجود نداشت. میزان اگزالات سرم در

REFERENCES

1. Marques S, Santos S, Fremin K, Fogo AB. A Case of Oxalate Nephropathy: When a Single Cause Is Not Crystal Clear. *Am J Kidney Dis* 2017;70:722-724.
2. Cochat P, Rumsby G. Primary hyperoxaluria. *N Engl J Med* 2013;369:649-58.
3. Rios JFN, Zuluaga M, Higuera LMS, Florez A, Bello-Marquez DC, Aristizábal A, et al. Primary hyperoxaluria diagnosed after kidney transplantation: report of 2 cases and literature review. *J Bras Nefrol* 2017;39:462-466. [In English, Portuguese]
4. Naderi G, Tabassomi F, Latif A, Ganji M. Primary hyperoxaluria type 1 diagnosed after kidney transplantation: The importance of pre-transplantation metabolic screening in recurrent urolithiasis. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2015;26:783-5.
5. Spasovski G, Beck BB, Blau N, Hoppe B, Tasic V. Late diagnosis of primary hyperoxaluria after failed kidney transplantation. *Int Urol Nephrol* 2010;42:825-9.
6. Madiwale C, Murlidharan P, Hase NK. Recurrence of primary hyperoxaluria: an avoidable catastrophe following kidney transplant. *J Postgrad Med* 2008;54: 206-8.
7. Malakoutian T, Asgari M, Houshmand M, Mohammadi R, Aryani O, Mohammadi Pargoo E, et al. Recurrence of primary hyperoxaluria after kidney transplantation. *Iran J Kidney Dis* 2011;5:429-33.
8. Alsuwaida A, Hayat A, Alwakeel JS. Oxalosis Presenting as Early Renal Allograft Failure. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2007;18:253-6
9. Lorenzo V, Torres A, Salido E. Primary hyperoxaluria. *Nefrologia* 2014;34:398-412. [In English, Spanish]
10. Hoppe B, Langman CB. A United States survey on diagnosis, treatment, and outcome of primary hyperoxaluria. *Pediatr Nephrol* 2003;18:986-91.
11. Hoppe B, Kemper MJ, Bökenkamp A, Portale AA, Cohn RA, Langman CB. Plasma calcium oxalate supersaturation in children with primary hyperoxaluria and end-stage renal failure. *Kidney Int* 1999;56:268-74.

Content

- **Cytotoxicity effect of secondary metabolites of *Streptomyces koyangensis* and *Streptomyces tunisiensis* isolated from saline soils of Garmsar City on human breast cancer cell line (MCF-7, IBRC C10082)**

Maryam Nikbakht, Behin Omid, Mohammad Ali Amoozegar, Kumars Amini

- **Optimized preconcentration of Imatinib using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC-UV**

Pegah Poormand, Mahnaz Qomi, Javad Hosseini

- **Role of Propolis as a pharmaceutical candidate on interleukin-1 β proinflammatory cytokine expression in Alzheimer's rat**

Maryam Saeidi, Fatemeh Rouhollah

- **Study on the effect of acetyl L-carnitine on cognitive and cellular disorders resulting from lipopolysaccharide-induced inflammation in male rats: emphasis on AKT / mTOR cell pathways and inflammation in the hippocampus**

Nida Jamali-Raeufy, Motahareh Zeinivand, Fahimeh Alizadeh, Soraya Mehrabi

- **Determination of hemolysine genes frequency in antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from wound and urine samples of patients**

Mina Aghsafi, Zahra Tahmasebi Fard

- **The effect of leisure time regular exercise on neutrophil function, myeloperoxidase levels, and antioxidant capacity in middle-aged men**

Seyed Reza Rahimi Moghaddam, Alireza Elmieh, Mohammad Reza Fadaei Chafy

- **Effects of optimized photorefractive keratectomy (PRK) operation on the asphericity and high-order aberration changes**

Ali Zare Joshaghani, Alireza Baradaran Rafii, Farhad Adhami Moghaddam

- **Comparing the effectiveness of reality therapy and the approach of interactional behavior analysis on character strength in infertile women**

Razieh Zahedi, Mina Mojtabaie, Amin Rafiepour

- **Comparative study of stressors in medical and non-medical students of Tehran Islamic Azad University**

Niloufar Jeyhani, Bahareh Akbarzadeh, Narges Hasanmoradi, Mohammad Sahebalzamani

- **Psychometrics of the self-efficacy instrument of clean intermittent urinary catheterization in patients with neural bladder admitted to rehabilitation hospitals in Tehran in 2019**

Afsaneh Mostagim Ahmadabadi, Faezeh Sahbaeiroy, Shirin Hejazi

- **Upper limb deep vein thromboembolism: a case report**

Azin Hossein Dokht, Hesam Aldin Varpaei, Mostafa Mohammadi, Hamidreza Amiri

- **Early dysfunction of transplanted kidney revealed the cause of recurrent nephrolithiasis: a case report of primary hyperoxaluria**

Roxana Peysepar, Farahnaz Pasha, Ahmad Firoozan, Amirhossein Zabolian

INSTRUCTION TO AUTHORS

Aims and Scope: The “Medical Sciences Journal of Islamic Azad University Tehran Medical Branch” is published quarterly in Persian language to increase the knowledge of professors, researchers, physicians, residents, medical students and making them aware of the recent technologies, some of the new medical developments and findings in basic clinical and hygienic sciences.

Type of articles: This journal accepts Original Papers, Review Articles from the experts and experienced people in the related fields only if personal sources and experiences have been used in them Case Reports which should be of rare cases or complications of the common diseases.

Ethical considerations: Studies that need to be reviewed by the ethics committee can be registered and judged under the ethics committee approval number.

Submission Process:

- **Electronic submission:** In case of electronic submission of the manuscript the authors must declare that it is being exclusively contributed to medical Sciences Journal of Islamic Azad University Tehran Medical Branch. The text should be submitted in Microsoft Word format as an attachment. The figures should be sent in a format of JPEG or GIF which will produce high quality images in the online edition of the journal. **Submission is also acceptable via Journal URL : <http://www.iau-tmuj.ir>**

Protection of Patients` Right : Identity information should not be included in articles, pictures, and pedigrees ; unless, it is necessary for scientific aims, provided the patient (or his parents or guardian) have signed the written permission for publication. In this regard, human experiments` rules according to helsinki declaration should be taken into account.

The manuscript should include: Title page; the Abstract; Introduction; Materials & Methods; Results; Discussion; Acknowledgement ; References; Pictures; Figures and Tables:

- **The title page:** The complete title of the manuscript, the name of all the authors with their highest qualifications, the department or institution to which they are attached, address for correspondence with telephone numbers, e-mail, and Fax number
- **The Abstract:** All original articles must accompany a structured abstract up to 250 words. It should be structured as **Background, Methods, Results and Conclusion** followed by **3 to 5 Keywords**. Keywords will assist indexers in cross indexing the article as they are published with abstract. Use terms from the Medical Subject Headings (MeSH) list of index medicus (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>). If for the newly introduced terms, no suitable terms exist in the mesh , therefore ,new terms can be used .
- **Introduction:** After a short review of the literature, the aim of the research should be mentioned along with the logic of the research or observation in brief. Only the completely related references should be mentioned and not the data or the results.

Materials & Methods: The community of investigation and sampling method should be explained with clearly. Age, sex, and other important characteristics have to be mentioned.

- Procedures, tools, and steps are to be explained with sufficient explanation so that other researchers can reevaluate the results or repeat the whole research. If drugs or chemicals are used, their generic name, dosage and route of administration must be given.

The incidental clinical trial reports should provide information on all the important aspects of the research including the research protocol, the type of interference, and blinding the research.

- **Observance of ethical principles:**

- Do not mention the patient's name.
- If the image is inserted, the patient's eye should be covered and consent should be received.
- In case of working with laboratory animals, the rules of care and use of laboratory animals should be observed.

- Observe the Copyright in providing information from other sources. For example, in the subtitle of an image taken from another source, permission must be given to present the said image from its real or legal owner.
- For studies that require the permission of the Medical Ethics Committee; It is necessary to obtain the mentioned permission before conducting the study and this issue should be mentioned in the article.
- Registration of clinical trial studies is required before publication in journals and before starting work in the National Committee for Registration of Clinical Trials.

Statistical analysis: The used statistical test for any of the research variables should be indicated. Naming the used software is essential but not sufficient. Try to use median, mean, variance, and standards deviation for mentioning the results.

- **Results:** Results should be presented in a logical sequence in the content. Tables, diagram and pictures are allocated to this section. In analytic researches and Clinical trial, first characteristics of the control and experimental group should be compared, and later the results of experiments indicated. The contents of the tables should not be all repeated in the text. Instead, reference to the table number may be given. The data should be only mentioned in one of the forms of table or diagram. The methods, analytical, procedures and the discussion should not be mentioned in this section.

- **Discussion:** In the first paragraph of this section, the important results which have answered the research questions are to be mentioned, important, and new aspects of the research and the results based on them should be emphasized. The data or other information relating to the introduction or results should not be repeated. In the discussion, the inference of the result and their limitation should be mentioned and results should be compared to the findings of other researchers and the reason for the difference with others findings if any should be analyzed. Results should be compared with the research aim, but, unclear statements and any claims which are not supported by the findings should be avoided. If necessary, new hypotheses can be mentioned and further suggestions should come at the end of the discussion.

- **Acknowledgment:** All contributors who do not meet the criteria for authorship should be covered in the acknowledgement section. It should include persons who provided technical help, writing assistance and departmental head who only provided general support. Financial and material support should also be acknowledged.

- **References:** References should be numbered respectively according to the references sequence in the content. References in the content of tables and tables` footnote should be distinguished by number. References which have been accepted for publication in journals and have not yet been published should be mentioned by the name” under publication”. In these cases, a copy of the accepted letter for publication should be enclosed. Articles which have been handed to the journal, but have not yet been accepted can not be mentioned as a reference.

Standard journal Article: The first six authors have to be mentioned and then the term et al. Then the title of the article, summarized title of the journal, publication year, volume number, and the first and the last page of the article should be mentioned. Special care concerning punctuation in the references is necessary. If the abstract of the article has only been used the word “abstract” should be mentioned at the end of the references.

Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al.
Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up Br J
Cancer 1996; 73: 1006-12.

Books: Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

Books chapter: Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995:465-75

Institute as Author and Publisher: Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute; 1992.

Conference paper: Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

Journal article in electronic format: Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1336 Jun 5]; 1(1): [24 screens]. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Thesis: Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly's access and utilization [dissertation]. St. Louis (MO): Washington Univ.; 1995.

- **Tables:** Each table is to be typed on a separate page, leaving one line space in between, and not presented as pictures. Tables are to be numbered respectively in the sequence of reference in the article, each having a short label. Horizontal and vertical lines for dividing different sections of the table are not necessary, and one line dividing the top columns is sufficient. All the non-standard abbreviations used in each table are to be explained in the footnote. Statistical measures for standard deviations should be distinguished and mentioned.

- **Figures:** Figures and pictures drawn by hand, and typed are not accepted. Radiographic imaging and other investigations are to be bright in black and white, preferably in 127×73 mm size, yet, maximum 203×254 mm. Diagrams and pictures are to be numbered respectively and ordered according to the order of reference in the article. Each figure should be individually clear, and there should be no need to read the text in order to understand it.

Proof Reading: Proofs are sent to the corresponding author for proof reading before publication in order to avoid any mistakes. Corrections should be marked clearly and sent immediately to the Journal office.

Abbreviations and symbols: Use only standard abbreviations. **Avoid using them in the title and abstract.** The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.

Conflicts of interest: Authors must acknowledge and declare any sources of funding and potential conflicting interest, such as receiving funds or fees by, or holding stocks and shares in, an organization that may profit or lose through publication of your paper. Declaring a competing interest will not lead to automatic rejection of the paper, but we would like to be made aware of it.

Copyright: Include the responsibility of the correspondent and co-author:

- a) Acceptance of the content responsibility, and ability to defend it in scientific gatherings.
- b) Giving the copyright permission to the journal, and answering all the legal claims concerning the author's right or content.
- c) Avoidance of sending the article to any other journal until the final point of view of the authors' council (maximum 3 months the journal office declare receiving the article) is declared.
- d) Authors have the responsibility to answer those whom they thank by name in the acknowledgement.
- e) Authors are responsible for the truthfulness of the content or otherwise.

Peer review process: After the article has been received, it will be sent for the judges. Later on the article will be revised by the responsible author, and then confirmed in the editorial board and printed in the journal according to the preparation time.

Journal obligations:

a) The journal will not take any responsibility concerning the disagreements among the authors, and authors with other investigations.

b) The journal is free to accept or reject articles. It also has the right to edit and summarize them scientifically and lexically. The final version of the article will be seen by the authors before being uploaded on the site.

Address: Medical Science Journal Office, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University,

Post Box: 19398/1495 , Zargandeh St, Shariati Av.

Tel,Fax: 22618551

Email: info@iau-tmuj.ir

Web Site: www.iau-tmuj.ir



IN THE NAME OF GOD

**MEDICAL SCIENCES JOURNAL OF ISLAMIC AZAD UNIVERSITY
TEHRAN MEDICAL BRANCH**

Owner & Publisher:,Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University

Chairman and Editor-in-Chief:Seyed Hossein Yahyavi,MD

Assistant to the Editor-in-Chief: Mehrangiz Zanganeh,MD

Editor: Hamid Mohaghegh Shelmani

Website Administrator: Afsaneh Aminian

Executive Manager: Afsaneh Aminian

p-ISSN:1023-5922

e-ISSN:2008-3386

Vol.31, No 4, Serial , 107, Fall 2022

| Editorial Board: | Advisory Board(Alphabetically) |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Shahla Chaichian, MD• Mehrangiz Zanganeh,MD• Seyed Davar Siadat, PhD• Hamed Shafaroodi,PhD• Seyed Mohammad Masoud Shoushtarian,PhD• Mahboubeh Safavi,PhD• Abolfazl Mehdizadeh, MD• Seyedeh Maryam Vahdat Shariatpanahi, MD• Seyed Hossein Yahyavi,MD | <ul style="list-style-type: none">• Hassan Argani , MD• Khadijeh Haji Naghi Tehrani, MD• Setareh Haghighat ,PhD• Shahrzad Khakpour, PhD• Mohammad Zare, PhD• Seyed Davar Siadat, PhD• Seyed Mohammad Masoud Shoushtarian,PhD• Faezeh Sahbaei, PhD• Mahboubeh Safavi,PhD• Mansour Ali Mehdi, PhD• Amir Hossein Abdolghafari, PhD• Farshid Gholami, MD• Mehrdad Gholamzad, PhD• Ensie Ghasemi, PhD• Seyedeh Zahra Mousavi, PhD• Seyed Hossein Yahyavi,MD |

Web Designer : Yekta Web Afzar Shargh

Type and Layout: Islamic Azad University Publication Organization

Circulation: Online

Address:Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University,Khaghani St, Shariati Ave,
Tehran

P.O Box:19395/1495

Telephone: (98-21) 22618551

Fax: (98-21) 22618551

E-mail: info@iau-tmuj.ir, medical.journal@yahoo.com

Homepage:www.iau-tmuj.ir

Indexing :

1. **International :** Index Medicus (EMRO), Index Copernicus, google scholar, CAB Abstracts & Global Health,Cinahl
2. **Local :** SID , Magiran , Iran Medex , ISC