

## اثر جداگانه و همزمان یک دوره‌ی تمرین شنا و مصرف مکمل کورستین بر استئوآرتروز زانوی موش صحرائی

دکتر اکبر حاجی‌زاده مقدم<sup>۱</sup>، سید حسین میرکریم‌پور<sup>۲</sup>، دکتر محمد حسین علیزاده<sup>۳</sup>،  
دکتر محمدرضا کردی<sup>۴</sup>، محمد فلاح محمدی<sup>۵</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** استئوآرتروز (Osteoarthritis یا OA) یکی از شایع‌ترین اختلالات عضلانی-اسکلتی است که می‌تواند به درد مزمن و ناتوانی شدید بیمار منجر شود و پیش‌بینی شده است با افزایش سن جمعیت، شیوع آن در آینده به طور چشمگیری افزایش یابد.

**روش‌ها:** در تحقیق تجربی حاضر، ۳۰ موش صحرائی نر نژاد ویستار (میانگین وزن  $1 \pm 173$  گرم و سن ۸ هفته) به طور تصادفی به ۵ گروه ۶‌تایی شامل گروه‌های شاهد سالم، شاهد پایه، کورستین، شنا و نیز کورستین + شنا تقسیم شدند. برای ایجاد استئوآرتروز از تزریق درون مفصلی، مونو سدیم یدواستات ( $50 \mu l$ ) در زانوی راست نمونه‌ها استفاده شد. پروتکل تمرینی این پژوهش شامل شنا با شدت متوسط و به مدت ۲۸ روز بود. پس از اتمام دوره، حیوانات کشته شدند و مفاصل زانوی هر گروه آن‌ها مورد بررسی هیستوپاتولوژیکی قرار گرفت. از آزمون آماری One-way ANOVA (One-way analysis of variance) ( $P \leq 0/050$ ) و سپس آزمون تعقیبی Tukey به منظور تجزیه و تحلیل کمی یافته‌ها استفاده شد.

**یافته‌ها:** در رابطه با شاخص نسبت عمق ضایعه تفاوت معنی‌داری بین گروه کورستین ( $P = 0/002$ )، شنا ( $P = 0/001$ ) و کورستین + شنا ( $P = 0/001$ ) با گروه شاهد پایه وجود داشت ( $P = 0/001$ ). همچنین در رابطه با شاخص عرض کل ناحیه‌ی تخریب شده و عرض ناحیه‌ی تخریب شده به طور معنی‌دار، تفاوت معنی‌داری بین تمامی گروه‌ها با گروه شاهد پایه وجود داشت ( $P = 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** مصرف مکمل کورستین و تمرین شنا با شدت متوسط، هر یک به تنهایی و به صورت ترکیبی می‌توانند اثر مثبتی در بهبود علائم استئوآرتروز زانوی موش‌های صحرائی داشته باشند.

**واژگان کلیدی:** تمرین شنا، کورستین، استئوآرتروز زانوی موش صحرائی

**ارجاع:** حاجی‌زاده مقدم اکبر، میرکریم‌پور سید حسین، علیزاده محمد حسین، کردی محمدرضا، فلاح محمدی محمد. اثر جداگانه و همزمان یک دوره‌ی تمرین شنا و مصرف مکمل کورستین بر استئوآرتروز زانوی موش صحرائی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۸):

??

- ۱- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
  - ۲- دانشجوی دکتری، گروه بهداشت و طب ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
  - ۳- دانشیار، گروه بهداشت و طب ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
  - ۴- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
  - ۵- دانشجوی دکتری، گروه آسیب‌شناسی ورزشی و حرکات اصلاحی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
- نویسنده‌ی مسؤول: سید حسین میرکریم‌پور  
Email: shmirkarimpour@ut.ac.ir

## مقدمه

استئوآرتریت (OA یا Osteoarthritis) یکی از شایع‌ترین اختلالات عضلانی-اسکلتی است (۱)؛ به طوری که تنها در آمریکا ۲۱ میلیون نفر از افراد میانسال و مسن به این بیماری مبتلا هستند (۲) و پیش‌بینی شده است که با افزایش سن جمعیت، شیوع آن در آینده به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (۱). وقوع این بیماری بین مفاصل تحمل‌کننده‌ی وزن بدن مانند زانو و ران رایج‌تر است (۳)؛ به طوری که می‌توان گفت در بین افراد مسن، استئوآرتریت زانو مهم‌ترین علت ناتوانی مزمن در کشورهای پیشرفته می‌باشد (۲) و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۲۰ تعداد افراد ناتوان مبتلا به استئوآرتریت دو برابر خواهد شد (۴).

با وجود روش‌های درمانی متعددی که برای استئوآرتریت به کار رفته است، متأسفانه هیچ درمان قطعی برای آن یافت نشده است (۵). روش‌های درمانی حاضر برای استئوآرتریت موجب کاهش درد و التهاب می‌شوند، اما در جلوگیری از پیشرفت بیماری اثر چشمگیری ندارند (۶). در واقع مکانیزم از بین رفتن غضروف مفصلی، دارای دلایل مختلفی است و به طور کلی به عدم تعادل بین فرایندهای تخریبی و ترمیمی/ستزی غضروف مفصلی می‌انجامد (۷).

بر اساس توصیه‌های انجمن بین‌المللی تحقیقات استئوآرتریت (OARSI یا Osteoarthritis research society international)، درمان مطلوب‌علایم استئوآرتریت ران و زانو شامل ترکیبی از روش‌های درمانی دارویی و غیر دارویی می‌باشد (۸). با توجه به این که درمان‌های دارویی در جلوگیری از پیشرفت این بیماری به مرحله‌ی فرسایش مفصلی غیر قابل برگشت و دفرمیتی ناکافی به نظر می‌رسند، امروزه

توجه بیشتری به خواص دارویی مواد طبیعی (Natural products) معطوف شده است (۹). یکی از این مواد طبیعی کورستین (Quercetin)، رایج‌ترین فلاونول موجود در رژیم غذایی انسان است که در اشکال گلیکوسیدی گوناگونی یافت می‌شود و دارای خاصیت درمانی برای انسان است. در حقیقت، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد تکثیری مواد پلی‌فنولی طبیعی همچون کورستین که در میوه‌ها و سبزیجاتی مانند گینکگو بیلوبا (Kinkgo biloba)، چای، کاشن (Lovage)، پیاز و سیب وجود دارد و به طور معمول توسط انسان جذب می‌شود، نشان از بروز و ظهور راه جدیدی برای درمان استئوآرتریت می‌دهند (۶).

از سوی دیگر، مطالعات بسیاری به بررسی نقش روش‌های غیر دارویی، به ویژه ورزش، در درمان یا مدیریت علایم استئوآرتریت پرداخته‌اند (۲۱-۱۰)؛ به طوری که ورزش درمانی به عنوان اصل بنیادی در درمان غیر جراحی این بیماری مطرح شده است (۱۱). ورزش درمانی برای استئوآرتریت ممکن است روی زمین با در یک محیط آبی اجرا شود (۱). با وجود محبوبیت زیاد ورزش‌های آبی، اثرات کمی این برنامه‌های تمرینی هنوز به طور کامل و دقیق بررسی نشده است (۲۲، ۱).

بنابراین پیش از توصیه‌ی این برنامه‌ها، سودمندی آن‌ها باید به طور کمی مشخص شود. تحقیقات متعددی، هم روی مدل حیوانی و هم روی مدل انسانی، وجود دارند که تأثیر مکمل‌های دارویی مختلف را، هم به صورت رژیم تک دارویی و هم به شکل ترکیبی از چند مکمل، روی درمان و پیشگیری از استئوآرتریت بررسی نموده‌اند (۳۱-۲۳، ۶-۵، ۳)،

صحرائی نر ویستار با تزریق داخل مفصلی مونسو سدیم یدواستات در زانوی آزمودنی‌ها - انجام شد.

### روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع تجربی بود که برای این منظور ۳۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی شامل گروه‌های شاهد سالم، شاهد پایه، کورستین، شنا و نیز کورستین + شنا تقسیم شدند. حیوانات به صورت ۳ تایی در قفس‌های مخصوص، در محیطی با دمای  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  و چرخه‌ی روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت هوای  $50 \pm 5$  درصد نگهداری شدند و موارد مندرج در بیانیه‌ی Helsinki در خصوص کار با حیوانات آزمایشگاهی در مورد آنان رعایت شد.

غذای آزمودنی‌های این پژوهش، محصول شرکت توراک دام به‌پرور بود که به طور آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت. همچنین آب مورد نیاز هر حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ ml ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آن‌ها قرار داده شد. قبل از اجرای پروتکل تمرینی، آزمودنی‌ها به مدت چند روز با نحوه‌ی انجام فعالیت راس‌ت مخصوص جوندگان آشنا شدند. پروتکل تمرینی این پژوهش شامل شنا در حوضچه‌ی مخصوص جوندگان با دمای  $32^{\circ}\text{C}$ ، با سرعت  $3-4/5 \text{ m/s}$  به مدت ۱۵ دقیقه در هر جلسه و برای ۲۸ روز بود (۳۲).

به منظور ایجاد استئوآرتريت در زانوی موش‌های صحرائی، از تزریق درون مفصلی مونسو سدیم یدواستات استفاده شد. بدین جهت، ابتدا حیوان با تزریق زیر صفاقی کتامین ( $50-30 \text{ mg/kg}$ ) و زایلازین ( $3-5 \text{ mg/kg}$ ) بی‌هوش می‌شد و سپس به

اما با توجه به مروری که بر تحقیقات گذشته انجام شد، مطالعات کمتری به بررسی تأثیر ترکیب هر دو روش دارویی و غیر دارویی پرداخته‌اند.

همچنین لازم به ذکر است که در این مطالعات محدود، تغییراتی که در بافت آسیب دیده رخ می‌دهد، به خوبی مشخص نشده است. به همین منظور و برای بررسی دقیق تغییراتی که پس از اجرای پروتکل درمانی روی بافت آسیب دیده روی می‌دهد، نیاز به بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی می‌باشد. بدیهی است چنین روش‌های مطالعاتی روی مدل‌های انسانی قابل انجام نیست و برای این منظور، نیاز به یک مدل حیوانی است که هم از نظر بافت مفصلی و هم از نظر پاتولوژی استئوآرتريت، به انسان شباهت بسیاری داشته باشد.

بر طبق مطالعات به عمل آمده، مویبق داخل مفصلی مونسو سدیم یدواستات (MIA یا Monosodium iodoacetate) در مدل‌های حیوانی (همچون موش صحرائی)، منجر به ایجاد تغییرات پاتولوژیکی مشابه استئوآرتريت در انسان می‌شود (۳).

مونسو سدیم یدواستات، مهارکننده‌ی گلیسرالدهید ۳-فسفات دهیدروژناز (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) است و با مهار گلیکولیز منجر به مرگ کندروسیت‌ها، متلاشی شدن تراکول‌های استخوانی همراه با فیروز و افزایش استئوکلاست‌ها، تشکیل تراکول‌های جدید و کیست‌های ساب کندرال می‌گردد (۳).

با توجه به آن چه مورد اشاره قرار گرفت، تحقیق حاضر با هدف مطالعه‌ی اثر جداگانه و تعاملی دو عامل مهم یعنی فعالیت بدنی شامل یک دوره‌ی ۴ هفته‌ای شنا با شدت متوسط و مصرف مکمل کورستین بر بهبود استئوآرتريت زانوی موش‌های

تخریب شده‌ی کندروسیت‌ها و پروتئوگلیکان‌ها) می‌باشد که از نقطه‌ی وسط هر دو برش ساجیتال و فرونتال از درشت نی به دست می‌آید. عرض کل ناحیه‌ی تخریب شده، همان عرض کل ناحیه‌ی از غضروف مفصلی است که دچار تغییرات دژنراتیو (تخریب/ فیبریلاسیون ماتریکس، تخریب پروتئوگلیکان، همراه با یا بدون مرگ کندروسیت) شده است.

همچنین، عرض ناحیه‌ی تخریب شده به طور معنی‌دار نیز اندازه‌ی عرض غضروف درشت نی است که ضخامت آن به میزان ۵۰ درصد یا بیشتر، به طور جدی تخریب گشته است (۳۵). بسته به میزان صدمات، به هر یک از شاخص‌های پیش‌گفته، نمراتی بر حسب میکرومتر تعلق می‌گرفت تا بتوان این اطلاعات را به صورت کمی (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد) بیان نمود و آنالیز آماری دقیقی را در مورد میزان کل صدمات پاتولوژیکی ارائه کرد (۳۴).

قسمت‌های مختلف مفصل و نحوه‌ی محاسبه و ارزیابی شاخص‌های هیستوپاتولوژیک پیش‌گفته، در فوتو میکروگراف‌های گرفته شده به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری از مقاطع رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین-ئورین، در شکل ۱ آمده است.

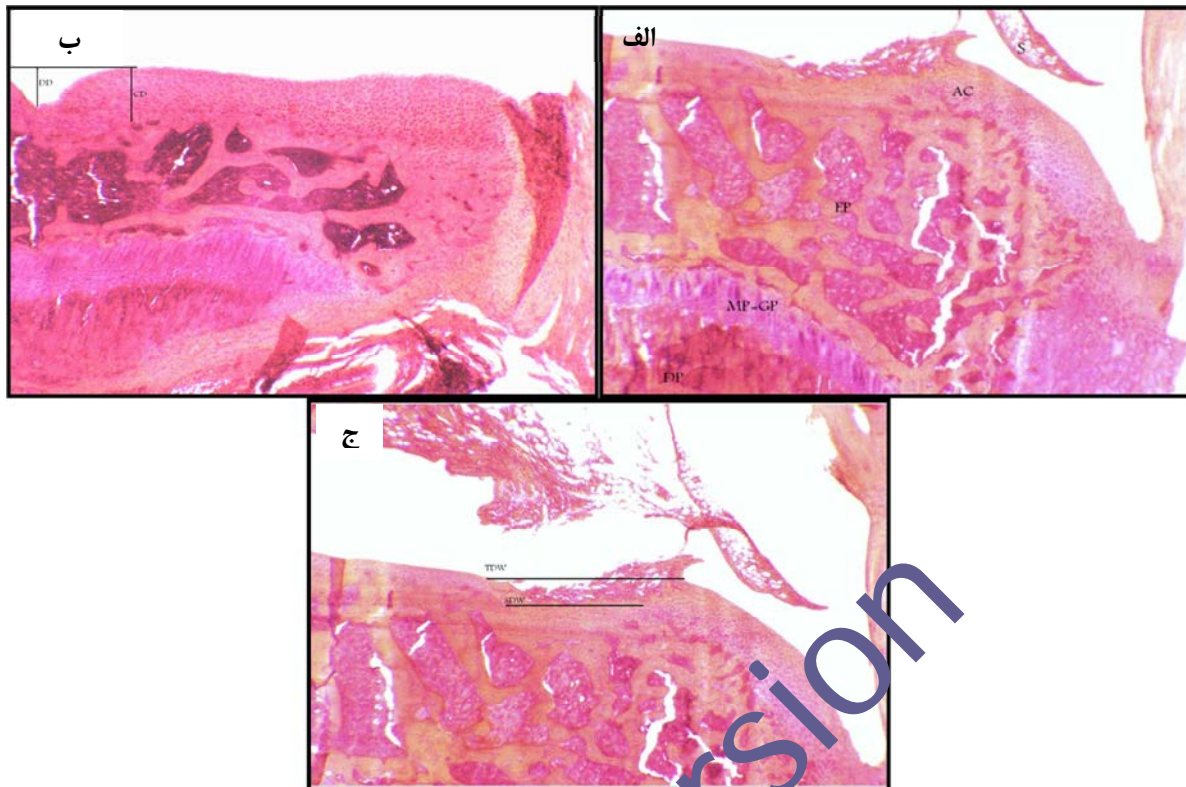
به منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل، از آزمون One-way ANOVA (One-way analysis of variance) در سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  و سپس جهت تعیین آن که میانگین کدام گروه‌ها با یکدیگر دارای تفاوت معنی‌دار هستند، از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. کلیه‌ی مراحل تجزیه و تحلیل آماری و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد.

پشت قرار می‌گرفت و زانوی مورد نظر در زاویه‌ی  $90^{\circ}$  خم شدن قرار می‌گرفت. تاندون کشککی در زیر استخوان کشکک لمس شد و سپس اقدام به تزریق تک دوز مونو سدیم یدواستات (Sigma-Aldrich) با حجم  $50 \mu l$  و غلظت  $1 \text{ mg}$  (با استفاده از سرنگ انسولین U-100) در این ناحیه صورت گرفت. به همین شکل در زانوی چپ آزمودنی،  $50 \mu l$  سالین تزریق گردید (۳۳-۳۴).

یک روز پس از تزریق مونو سدیم یدواستات، برنامه‌ی تمرینی آغاز گردید و پس از اتمام دوره در روز ۲۸، تمام گروه‌ها با شرایط مشابه و در شرایط پایه با تزریق زیر صفاقی ماده‌ی بی‌هوشی ترکیبی از کتامین و زایلازین بیهوش و کشته شدند.

برای جمع‌آوری نمونه‌ها، مفاصل زانوی هر دو پای آزمودنی‌ها (شامل ناحیه‌ی دیستال ران و پروکسیمال درشت نی) توسط قیچی مخصوص جدا و بافت‌های نرم آن با دقت برداشته شد. آن گاه، هر زانو به صورت جداگانه در داخل ویال  $50 \text{ CC}$  با پرچسب کددار حاوی محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت و به آزمایشگاه پاتولوژی فرستاده شد.

مقاطع تهیه شده توسط رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئورین توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. شاخص‌های مهم هیستوپاتولوژیکی در این آزمایش‌ها بر اساس دستورالعمل انجمن بین‌المللی تحقیقات استئوآرتریت (OARSI)، شامل نسبت عمق ضایعه (Depth ratio of lesions)، عرض کل ناحیه‌ی تخریب شده (Total degeneration width) و عرض ناحیه‌ی تخریب شده به طور معنی‌دار (Significant degeneration width) بود. نسبت عمق ضایعه، میزان عمق دژنراسیون غضروف (شامل نواحی



شکل ۱. نمونه‌های شاخص‌های هیستوپاتولوژیک

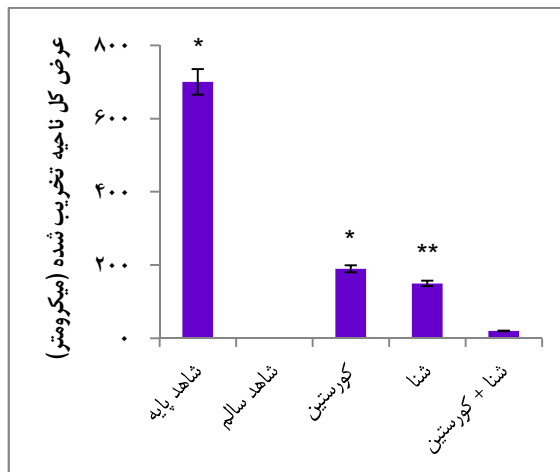
الف) قسمت‌های مختلف قابل مشاهده در فوتومیکروگراف: S (Synovial membrane) یا غشای سینویال، AC (Articular cartilage) یا غضروف مفصلی، EP (Epiphysis) یا اپی‌فیز استخوان، MP (Metaphysis) یا متافیز استخوان، DP (Diaphysis) یا دیافیز استخوان (ب) فوتومیکروگراف متعلق به آزمودنی گروه مکمل کورستین با درشت‌نمایی ۳/۲ برابر که نحوه‌ی ارزیابی نسبت یا کسر عمق ضایعه را نشان می‌دهد؛ نسبت عمق ضایعه از تقسیم عمق ناحیه‌ی تخریب بر ضخامت (عمق) غضروف بر حسب  $\mu\text{m}$  به دست می‌آید. عمق ضایعه (DD یا Degeneration depth)، عمق غضروف (CD یا Cartilage depth) و نسبت عمق ضایعه (DD/CD یا Degeneration depth ratio)؛ هر چه عدد به دست آمده به عدد ۱ نزدیک‌تر باشد، شدت ضایعه بیشتر است. (ج) فوتومیکروگراف متعلق به آزمودنی گروه شاهد پایه که نشان دهنده‌ی تکنیک اندازه‌گیری پرامترها، استئوآرتریت در این مطالعه می‌باشد (بزرگ‌نمایی ۳/۲ برابر)؛ TDW (Total degeneration width) عرض کل ناحیه‌ی تخریب شده که از سطح اصلی غضروف اندازه‌گیری می‌شود و شامل کل ناحیه است که دچار هر گونه تخریب گشته است. (Significant degeneration width) عرض ناحیه‌ی تخریب شده به صورت معنی‌دار که نشانگر عرض غضروف مفصلی است که در آن ۵۰ درصد یا بیشتر ضخامت غضروف مفصلی از بین رفته است.

شنا و مکمل کورستین ( $P = ۰/۰۴۰$ ) تفاوت معنی‌داری وجود داشت. در رابطه با اثر شنا بر شاخص نسبت عمق ضایعه بین گروه شنا با گروه شاهد پایه ( $P = ۰/۰۰۱$ ) تفاوت معنی‌داری وجود داشت، اما بین گروه ترکیب شنا و مکمل کورستین با گروه شنا تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P < ۰/۰۵۰$ ).

### یافته‌ها

#### نسبت عمق ضایعه

تجزیه و تحلیل آماری در مورد اثر مصرف مکمل کورستین بر شاخص نسبت عمق ضایعه نشان داد که بین گروه مکمل کورستین با گروه شاهد پایه ( $P = ۰/۰۰۲$ )، گروه شنا ( $P = ۰/۰۲۲$ ) و گروه ترکیب



شکل ۳. نمرات پاتولوژی (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد) شاخص عرض کل ناحیه تخریب شده بر حسب  $\mu\text{m}$ . نمرات بالاتر نشان دهنده صدمات بیشتر می‌باشد.

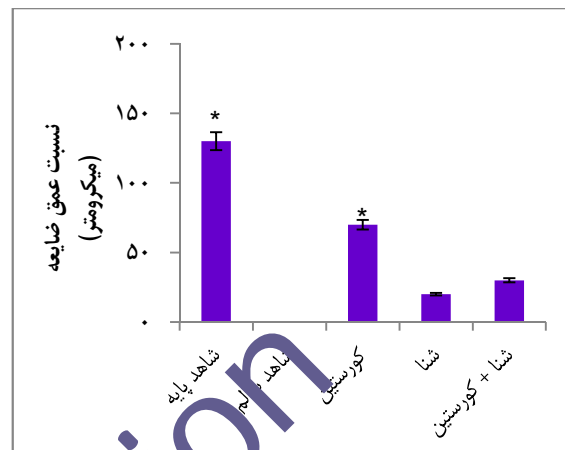
\* نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه کورستین + شنا و شنا می‌باشد.

\*\* نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه کورستین + شنا می‌باشد.

### شاخص عرض ناحیه تخریب شده به طور معنی‌دار

تجزیه و تحلیل آماری در مورد اثر مصرف مکمل کورستین بر شاخص عرض ناحیه تخریب شده به طور معنی‌دار نشان داد که بین گروه مکمل کورستین با گروه شاهد پایه، گروه شنا و گروه ترکیب شنا و مکمل کورستین، تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $P = 0/001$ ). در رابطه با اثر شنا نتایج نشان داد که بین گروه شنا با گروه شاهد پایه تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $P = 0/001$ )، اما بین گروه ترکیب شنا و مکمل کورستین با گروه شنا، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P < 0/050$ ). حال آن که گروه ترکیب شنا و مکمل کورستین با گروه شاهد پایه، دارای اختلاف معنی‌دار نبود ( $P = 0/001$ ). (شکل ۴).

بین گروه ترکیب شنا و مکمل کورستین با گروه شاهد پایه تفاوت معنی‌داری ( $P = 0/001$ ) مشاهده شد (شکل ۲).

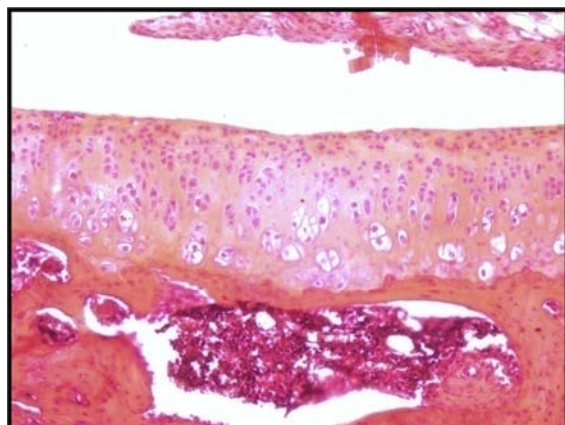


شکل ۲. نمرات پاتولوژی (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد) شاخص نسبت عمق ضایعه بر حسب  $\mu\text{m}$ . نمرات بالاتر نشان دهنده صدمات بیشتر می‌باشد.

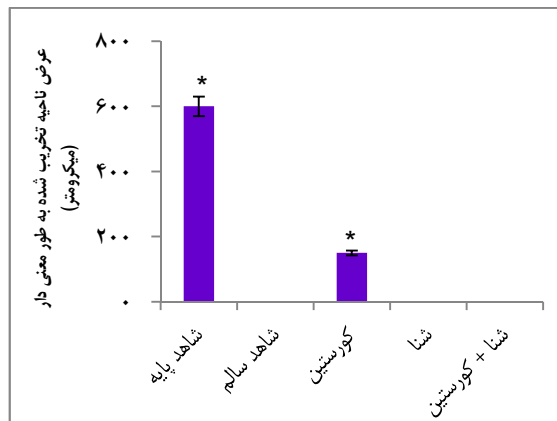
\* نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه کورستین + شنا و گروه شنا و گروه کورستین است.

### شاخص عرض کل ناحیه تخریب شده

تجزیه و تحلیل آماری در مورد اثر مصرف مکمل کورستین بر شاخص عرض کل ناحیه تخریب شده، بیانگر این است که بین گروه مکمل کورستین با گروه شاهد پایه ( $P = 0/001$ )، گروه شنا ( $P = 0/012$ ) و گروه ترکیب شنا و مکمل کورستین ( $P = 0/001$ ) تفاوت معنی‌داری وجود داشت. در رابطه با اثر شنا نتایج نشان داد که بین گروه شنا با گروه شاهد پایه ( $P = 0/001$ ) و گروه ترکیب شنا و مکمل کورستین ( $P = 0/001$ )، اختلاف معنی‌داری وجود داشت. همچنین گروه ترکیب شنا و مکمل کورستین تفاوت معنی‌داری ( $P = 0/001$ ) با گروه شاهد پایه داشت (شکل ۳).



شکل ۶. فوتومیکروگراف مربوط به آزمودنی گروه شاهد سالم؛ غضروف تغییر خاصی را نشان نداده است (بزرگ‌نمایی ۱۰ برابر).

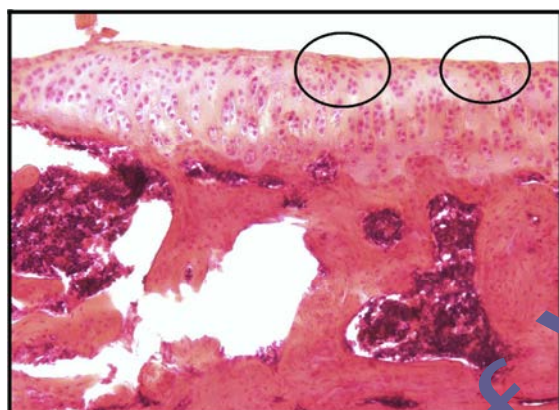


شکل ۴. نمرات پاتولوژی (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد) عرض ناحیه‌ی تخریب شده به طور معنی‌دار بر حسب  $H\mu m$ . نمرات بالاتر نشان دهنده‌ی صدمات بیشتر می‌باشد.

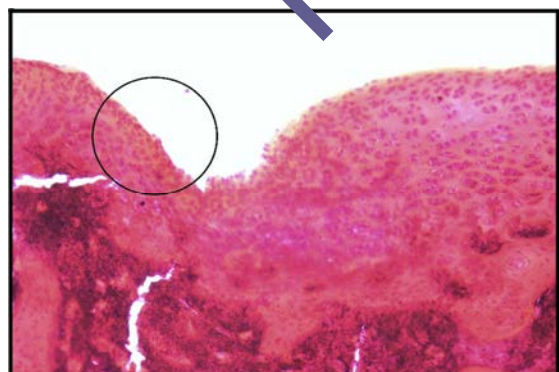
\* نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار با گروه کورستین + شنا و شنا می‌باشد.

### تغییرات هیستومورفولوژیک مشاهده شده در فوتومیکروگراف‌ها

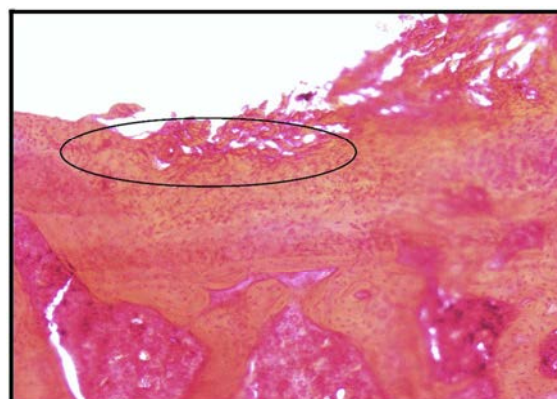
فوتومیکروگراف‌های گرفته شده توسط میکروسکوپ نوری از مقاطع رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین-ائوزین مربوط به همه‌ی گروه‌ها در شکل‌های ۵ تا ۹ ارایه شده است.



شکل ۷. فوتومیکروگراف مربوط به گروه شنا؛ در این گروه تخریب بسیار سطحی بود؛ به طوری که تنها یک تغییر رنگ ماتریکس کم عمق مشاهده می‌شود و در مقابل آن، سلول‌های غضروفی در عمق سالم هستند (بزرگ‌نمایی ۱۰ برابر).



شکل ۸. فوتومیکروگراف مربوط به گروه مکمل کورستین که حاکی از یک ضایعه‌ی به نسبت عمیق است (بزرگ‌نمایی ۱۰ برابر).



شکل ۵. فوتومیکروگراف مربوط به آزمودنی گروه شاهد پایه؛ ضایعات استئوآرتریت با از بین رفتن سلول‌های غضروفی و ایجاد یک فرورفتگی در سطح غضروف استخوان درشت نی دیده می‌شود. به رنگ قرمز- صورتی محل ضایعه دقت فرمایید (بزرگ‌نمایی ۱۰ برابر).

راستای تحقیق حاضر می‌باشد (۶).

Huang و همکاران در مدل تجربی آرتریت ناشی از نقرس، اثر کورستین را بر التهاب ایجاد شده توسط تزریق درون مفصلی کریستال‌های اورات مونو سدیم در مفصل میچ پای موش‌های صحرایی بررسی کردند. در نهایت، محققان نتیجه گرفتند که کورستین دارای اثر ضد التهابی بسیار قوی است که می‌تواند در درمان آرتریت ناشی از نقرس مفید باشد. این نتایج نیز اثر مثبت ناشی از مصرف کورستین در تحقیق حاضر را توجیه می‌کند (۳۶). کورستین رایج‌ترین فلاونول موجود در گیاهان است (۳۷) که در مطالعات اخیر تأثیر آن در کنترل بیماری روماتوئید آرتریت اثبات شده است (۴۱-۳۸، ۹). احتمال می‌رود دلیل اثربخشی این ماده در بهبود شاخص‌های هیستوپاتولوژیکی استئوآرتریت در تحقیق حاضر، خاصیت ضد التهابی، ضد اکسیدانی و ضد پرولیفراسیونی آن است. این ماده همچنین جنبه‌ی التهابی عملکرد سلول‌های سینه‌ویال، فعالیت نوتروفیل را مهار می‌کند (۳۸). همچنین به دلیل توانایی آنتی‌اکسیداتیو این مکمل در پاک‌سازی گونه‌های اکسیژن واکنشی و نیز توقف تولید نیتریک اکساید، کورستین می‌تواند موجب کاهش ظرفیت ماکروفاژها در تولید نیتریک اکساید (NO یا Nitric oxide) و TNF- $\alpha$  (Tumor necrosis factor- $\alpha$ ) که نقش اصلی را در فرایند التهابی آرتریت بر عهده دارند، شود. نکته‌ی مهم‌تر این است که کورستین می‌تواند موجب بهبود ضایعات (Lesions) شود که این اثر درمانی در ضایعات شدیدتر (مرحله‌ای از ضایعه که با پرولیفراسیون شدید همراه است) بیشتر است. این یافته‌ها در مورد کورستین، از مطالعه بر روی ضایعات



شکل ۹. فوتومیکروگراف مربوط به آزمودنی گروه ترکیب شنا و مکمل کورستین که در آن تخریب بسیار سطحی بود؛ به طوری که تنها یک تغییر رنگ ماتریکس کم عمق و در مقابل آن سلول‌های غضروفی در عمق سالم هستند (بزرگ‌نمایی ۱۰ برابر).

### بحث

هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر یک دوره‌ی ۴ هفته‌ای شنا با شدت متوسط و مصرف مکمل کورستین بر استئوآرتریت زانوی موش‌های صحرایی نر و بیستار بود. در زمینه‌ی اثر مصرف مکمل کورستین به مدت ۴ هفته بر شاخص‌های هیستوپاتولوژیکی زانوی موش‌های صحرایی مبتلا به استئوآرتریت، نتایج نشان داد که بین گروه مکمل کورستین با گروه شاهد پایه در هر سه شاخص، تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

Lay و همکاران با استفاده از غضروف مفصلی گاو دریافتند که مکمل کورکومین و کورستین موجب مهار کاتابولیسم اگرکان موجود در غضروف گردید. همچنین محققان اثر محافظتی این دو مکمل را بلند مدت ذکر کرده‌اند؛ به طوری که پس از دوره‌ی درمانی نیز باقی می‌ماند. آنان دلیل این موضوع را ناشی از توانایی آنتی‌اکسیداتیو این دو مکمل در پاک‌سازی گونه‌های اکسیژن واکنشی و نیز توقف تولید نیتریک اکساید دانستند. این نتایج نیز در



استرس اکسایشی گردید که شاید ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر ورزش و کاهش صدمات اکسیداتیو و افزایش مقاومت بافت در برابر رادیکال‌های آزاد است (۱۹).

به طور کلی، استئوآرتریت یک بیماری پویا است که فعالیت‌های آنابولیک و کاتابولیک به طور همزمان در آن رخ می‌دهد و زمانی ایجاد می‌شود که عدم تعادل در توازن پویای بین تجزیه و ترمیم بافت‌های مفصل ایجاد شود (۴۳). بار متوسط و متناوب به نظر سودمند می‌رسد و برای عملکرد سالم مفصل ضروری است (۴۴). به طور کلی، ورزش یا به طور دقیق‌تر سیگنال‌های بیومکانیکی، در غضروف مفصلی مبتلا به استئوآرتریت به واکنش‌های بیوشیمیایی تبدیل می‌شوند و می‌توانند تغییرات آنابولیک را در این بافت‌ها ایجاد کنند (۱۹).

مطالعات نشان داده‌اند که نیروهای فشاری (۴۵)، حرکت برشی یا چرخشی شدید و طولانی مدت، به طور مستقیم می‌توانند موجب تولید اینترلوکین- $\beta 1$  و فشار مکانیکی دایم می‌تواند موجب فعالیت P38MAPK شود (۴۶).

در مقابل حرکت چرخشی فشاری پویا به صورت متناوب کاتابولیسم ناشی از اینترلوکین- $\beta 1$  را مهار می‌کند (۴۷). شنا یک نمونه‌ی چرخه‌ای از حرکت متناوب اندام است. به نظر می‌رسد چرخه‌ی متناوب فشار پویا دارای اثر محافظتی بر کندروسیت‌های غضروف است که این امر از طریق مهار فعالیت P38MAPK و مهار اینترلوکین- $\beta 1$  صورت می‌گیرد که موجب تحریک اثرات بیولوژیکی و سنتزی می‌شود (۳۲).

سلول‌های عضله‌ی صاف (Smooth muscle cells) (قلب) به دست آمده است (۴۲). مکانیزم پیشنهادی برای این خاصیت کورستین این است که این ماده بر روی ژن‌های مرتبط با پاسخ التهابی/دفاعی و کنترل چرخه‌ی سلول اثرگذار است و از این طریق، موجب التیام ضایعات می‌شود.

در زمینه‌ی اثر شنا بر شاخص‌های هیستوپاتولوژیکی زانوی موش‌ها، نتایج نشان داد که بین گروه شنا با گروه شاهد پایه در هر سه شاخص تفاوت معنی‌داری وجود دارد. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج تحقیقات Galois و همکاران (۱۸)، Cifuentes و همکاران (۱۹) و Zhang و همکاران (۲۰)، و Changjie (۳۲) همخوانی دارد.

Galois و همکاران در مطالعه‌ی خود به بررسی اثر یک برنامه‌ی تمرینی با سه شدت کم، متوسط و زیاد روی تردمیل بر پیش‌روی ضایعات زانوی رت‌های مبتلا به استئوآرتریت پرداختند. محققان به این نتیجه رسیدند که تمرین با شدت کم و متوسط اثر مثبتی بر شدت ضایعات غضروفی در مدل تجربی استئوآرتریت دارد که شاید به دلیل کاهش سطح مرگ سلولی کندروسیت‌ها از طریق ظرفیت‌های آنتی‌آپوپتوتیک (Anti-apoptotic) بوده است. در مقابل، تمرین شدید موجب از بین رفتن این اثر محافظتی می‌شود (۱۸).

Cifuentes و همکاران به ارزیابی اثر تمرین بر روی تردمیل بر غضروف مفصلی رت‌های مبتلا به استئوآرتریت پرداختند. محققان دریافتند که برنامه‌ی تمرینی موجب محافظت غضروف مفصلی در برابر استئوآرتریت و افزایش مکانیزم دفاعی در مقابل

موجب بهبود علایم استئوآرتریت شد؛ اما میزان اثربخشی آن نسبت به دو گروهی که از برنامه‌ی ورزشی شنا و ترکیب شنا و کورستین پیروی کردند، کمتر بود.

در پایان با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مصرف مکمل کورستین و تمرین شنا با شدت متوسط، هر یک به تنهایی و به صورت ترکیبی می‌توانند اثر مثبتی در بهبود علایم استئوآرتریت زانوی موش‌های صحرایی داشته باشند. این امر زمینه را برای تحقیقات آتی در رابطه با آثار درمانی این متغیرها در نمونه‌های انسانی فراهم می‌کند. همچنین محققان و متولیان سلامت جامعه را بر آن می‌دارد تا با اطمینان و قطعیت بیشتری مبتلایان به استئوآرتریت را به فعالیت بدنی و ورزش، به خصوص ورزش‌های آبی تشویق کنند.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات دکتر آیدین دیلمقانیان در رابطه با بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی سپاسگزاری می‌گردد.

مهم‌تر این که نیروهای فشاری در اندازه‌های کوچک خاصیت ضد التهابی دارند (۱۹). همچنین بیان شده است که ورزش در حفظ پروتئوگلیکان‌ها که به عنوان سیستم جذب ضربات مکانیکی به خصوص در غضروف مفصلی مطرح هستند، نقش دارد. علاوه بر این، فشار کششی چرخه‌ای از طریق تحریک mRNA ACAN (Aggrecan messenger RNA) و کاهش مهار سنتز پروتئوگلیکان موجب افزایش ترمیم غضروف می‌شود (۱۹).

نتایج به دست آمده در این تحقیق بیانگر این بود که تمرین شنا با شدت متوسط به نهایی موجب بهبودی به طور تقریبی کامل در علایم استئوآرتریت زانوی موش‌های صحرایی در ۳ شاخص هیستوپاتولوژیکی (نسبت عمق ضایعه، عرض کل ناحیه‌ی تخریب شده و عرض ناحیه‌ی تخریب شده به طور معنی‌دار) گردید. ترکیب شنا و مصرف مکمل کورستین نیز دارای آثار مشابهی بر علایم استئوآرتریت زانوی آزمودنی‌ها بود. اما ترکیب شنا و مکمل کورستین در مقایسه با شنا به تنهایی دارای آثار بهتری نبود. مصرف مکمل کورستین نیز به تنهایی

### References

- Hinman RS, Heywood SE, Day AR. Aquatic physical therapy for hip and knee osteoarthritis: results of a single-blind randomized controlled trial. *Phys Ther* 2007; 87(1): 32-43.
- Bayat N, Gharibdoost F, Nasiri Afshar F, Zamani B. Clinical and radiological analysis of OA patient referring to Baghiatallah hospital during 2003-2004. *Fez* 2006; 10(1): 42-5. [In Persian].
- Hadipour M, Mozaffari R. Protective effects of nutrients on articular cartilage of rats and its histological assessment. *Daneshvar Med* 2008; 15(75): 87-94. [In Persian].
- Gupta S, Hawker GA, Laporte A, Croxford R, Coyte PC. The economic burden of disabling hip and knee osteoarthritis (OA) from the perspective of individuals living with this condition. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44(12): 1531-7.
- Puett DW, Griffin MR. Published trials of nonmedicinal and noninvasive therapies for hip and knee osteoarthritis. *Ann Intern Med* 1994; 121(2): 133-40.
- Lay E, Samiric T, Handley CJ, Ilic MZ. Short- and long-term exposure of articular cartilage to curcumin or quercetin inhibits aggrecan loss. *J*

- Nutr Biochem 2012; 23(2): 106-12.
7. Panico AM, Cardile V, Garufi F, Puglia C, Bonina F, Ronsisvalle G. Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. *Life Sci* 2005; 77(20): 2479-88.
  8. Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, Abramson S, Altman RD, Arden N, et al. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16(2): 137-62.
  9. Guardia T, Rotelli AE, Juarez AO, Pelzer LE. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. *Farmaco* 2001; 56(9): 683-7.
  10. Clyman B. Exercise in the treatment of osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2001; 3(6): 520-3.
  11. Bennell KL, Hinman RS. A review of the clinical evidence for exercise in osteoarthritis of the hip and knee. *J Sci Med Sport* 2011; 14(1): 4-9.
  12. Blagojevic M, Jinks C, Jeffery A, Jordan KP. Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18(1): 24-33.
  13. Andersson ML, Thorstensson CA, Roos EM, Petersson IF, Heinegard D, Saxne T. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) increase temporarily after physical exercise in patients with knee osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord* 2006; 7: 98.
  14. Roddy E, Zhang W, Doherty M, Arden NK, Barlow J, Birrell F, et al. Evidence-based recommendations for the role of exercise in the management of osteoarthritis of the hip or knee—the MOVE consensus. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44(1): 67-73.
  15. Ng NT, Heesch KC, Brown WJ. Efficacy of a progressive walking program and glucosamine sulphate supplementation on osteoarthritic symptoms of the hip and knee: a feasibility trial. *Arthritis Res Ther* 2010; 12(1): R25.
  16. Messier SP, Mihalko S, Loeser RF, Legault C, Jolla J, Pfruender J, et al. Glucosamine/chondroitin combined with exercise for the treatment of knee osteoarthritis: a preliminary study. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15(11): 1256-66.
  17. Galois L, Etienne S, Grossin L, Cournil C, Pinzano A, Netter P, et al. Moderate-impact exercise is associated with decreased severity of experimental osteoarthritis in rats. *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42(5): 692-3.
  18. Galois L, Etienne S, Grossin L, Watrin-Pinzano A, Cournil-Henrionnet C, Loeuille D, et al. Dose-response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12(10): 779-86.
  19. Cifuentes DJ, Rocha LG, Silva LA, Brito AC, Rueff-Barroso CR, Porto LC, et al. Decrease in oxidative stress and histological changes induced by physical exercise calibrated in rats with osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18(8): 1088-95.
  20. Lee YJ, Park JA, Yang SH, Kim KY, Kim BK, Lee EY, et al. Evaluation of osteoarthritis induced by treadmill-running exercise using the modified Mankin and the new OARSI assessment system. *Rheumatol Int* 2011; 31(12): 1571-6.
  21. Vignon E, Valat J, Rostignol M, Avouac B, Rozenberg S, Thumie J, et al. Osteoarthritis of the knee and hip and activity: a systematic international review and synthesis (OASIS). *Joint Bone Spine* 2006; 73(4): 442-55.
  22. Fisher NM, Dolan DM, Brenner C, Pendergast DR. Quantitative effects of a water exercise program on functional and physiological capacity in subjects with knee osteoarthritis: a pilot study. *Sport Sci Health* 2004; 1(1): 17-24.
  23. Lohmander LS, Ostergren A, Englund M, Roos H. High prevalence of knee osteoarthritis, pain, and functional limitations in female soccer players twelve years after anterior cruciate ligament injury. *Arthritis Rheum* 2004; 50(10): 3145-52.
  24. Roe J, Pinczewski LA, Russell VJ, Salmon LJ, Kawamata T, Chew M. A 7-year follow-up of patellar tendon and hamstring tendon grafts for arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction: differences and similarities. *Am J Sports Med* 2005; 33(9): 1337-45.
  25. Cohen M, Amaro JT, Ejnisman B, Carvalho RT, Nakano KK, Peccin MS, et al. Anterior cruciate ligament reconstruction after 10 to 15 years: association between meniscectomy and osteoarthrosis. *Arthroscopy* 2007; 23(6): 629-34.
  26. Jarvela T, Paakkala T, Kannus P, Jarvinen M. The incidence of patellofemoral osteoarthritis and associated findings 7 years after anterior cruciate ligament reconstruction with a bone-patellar tendon-bone autograft. *Am J Sports Med* 2001; 29(1): 18-24.
  27. Neuman P, Englund M, Kostogiannis I, Friden T, Roos H, Dahlberg LE. Prevalence of tibiofemoral osteoarthritis 15 years after nonoperative treatment of anterior cruciate ligament injury: a prospective cohort study. *Am J Sports Med* 2008; 36(9): 1717-25.

28. Bitton R. The economic burden of osteoarthritis. *Am J Manag Care* 2009; 15(8 Suppl): S230-5.
29. National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases. Handout on health: osteoarthritis [Online]. [cited 2003 Aug];. Available from: URL: [http://www.niams.nih.gov/Health\\_Info/Osteoarthritis/](http://www.niams.nih.gov/Health_Info/Osteoarthritis/)
30. Manek NJ, Lane NE. Osteoarthritis: current concepts in diagnosis and management. *Am Fam Physician* 2000; 61(6): 1795-804.
31. Lee YC, Shmerling RH. The benefit of nonpharmacologic therapy to treat symptomatic osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2008; 10(1): 5-10.
32. Haihong SHEN, Changjie Z. The interaction of static magnetic field and swimming exercises on articular cartilage of rat's knee osteoarthritis. *Chinese J Rehabil Med* 2009; (24)8: 702-6.
33. Guzman RE, Evans MG, Bove S, Morenko B, Kilgore K. Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: an animal model of osteoarthritis. *Toxicol Pathol* 2003; 31(6): 619-24.
34. Kobayashi K, Imaizumi R, Sumichika H, Tanaka H, Goda M, Fukunari A, et al. Sodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis and associated pain model in rats. *J Vet Med Sci* 2003; 65(11): 1195-9.
35. Gerwin N, Bendele AM, Glasson S, Carlson CS. The OARSI histopathology initiative - recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18(Suppl 3): S24-S34.
36. Huang J, Zhu M, Tao Y, Wan S, Chen J, Sun W, et al. Therapeutic properties of quercetin on monosodium urate crystal-induced inflammation in rats. *J Pharm Pharmacol* 2012; 64(8): 1119-27.
37. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(1 Suppl): 230S-42S.
38. Jackson JK, Higo T, Hunter WL, Burt HM. The antioxidants curcumin and quercetin inhibit inflammatory processes associated with arthritis. *Inflamm Res* 2006; 55(4): 168-75.
39. Kandere-Grzybowska K, Kempuraj D, Cao J, Cetrulo CL, Theoharides TC. Regulation of IL-1-induced selective IL-6 release from human mast cells and inhibition by quercetin. *Br J Pharmacol* 2006; 148(2): 208-15.
40. Min YD, Choi CH, Bark H, Son HY, Park HH, Lee S, et al. Quercetin inhibits expression of inflammatory cytokines through attenuation of NF-kappaB and p38 MAPK in HMC-1 human mast cell line. *Inflamm Res* 2007; 56(5): 210-5.
41. Tiku ML, Gupta S, Deshmukh DR. Aggrecan degradation in chondrocytes is mediated by reactive oxygen species and protected by antioxidants. *Free Radic Res* 1999; 30(5): 395-405.
42. Kleemann R, Verschuren L, Morrison M, Zadelaar S, van Erk MJ, Wielinga PY, et al. Anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-atherosclerotic effects of quercetin in human in vitro and in vivo models. *Atherosclerosis* 2011; 218(1): 44-52.
43. Poole A, Howell D. Etiopathogenesis of osteoarthritis. In: Moskowitz RW, editor. *Osteoarthritis: diagnosis and medical/surgical management*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 27-49.
44. Felson DT, Lawrence RC, Dieppe PA, Hirsch R, Helmick CG, Jordan JM, et al. Osteoarthritis: new insights. Part 1: the disease and its risk factors. *Ann Intern Med* 2000; 133(8): 635-46.
45. Villemure I, Chung MA, Seck CS, Kimm MH, Matyas JR, Duncan NA. Static compressive loading reduces the mRNA expression of type II and X collagen in rat growth-plate chondrocytes during postnatal growth. *Connect Tissue Res* 2005; 46(4-5): 211-9.
46. Fanning PJ, Emkey G, Smith RJ, Grodzinsky AJ, Szasz N, Trippel SB. Mechanical regulation of mitogen-activated protein kinase signaling in articular cartilage. *J Biol Chem* 2003; 278(51): 50940-8.
47. Chowdhury TT, Akanji OO, Salter DM, Bader DL, Lee DA. Dynamic compression influences interleukin-1beta-induced nitric oxide and prostaglandin E2 release by articular chondrocytes via alterations in iNOS and COX-2 expression. *Biorheology* 2008; 45(3-4): 257-74.

## Separate and Concomitant Effect of Swimming Exercise and Quercetin Supplementation on Rat's Knee Osteoarthritis

Akbar Hajizadeh-Moghaddam PhD<sup>1</sup>, Seyed Hossein Mirkarimpour MSc<sup>2</sup>,  
 Mohammad Hossein Alizadeh PhD<sup>3</sup>, Mohammad Reza Kordi PhD<sup>4</sup>,  
 Mohammad Fallah-Mohammadi MSc<sup>5</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Osteoarthritis is the most prevalent musculoskeletal disorder leading to chronic pain and severe disability and its prevalence is predicted to rise significantly in the future as the population ages.

**Methods:** Thirty male Wistar rats (weight of  $173 \pm 1$  g, 8 weeks old) were randomly divided into 5 experimental groups: 1.Intact control, 2.OA, 3.Quercetin 4.Swimming, 5.Quercetin+Swimming (n = 6). Intra-articular injection of MIA (50 $\mu$ l) was applied on rats' right knee, similarly saline was injected in left knees. Training program used in the study was swimming in moderate intensity for 28 days. After the completion of the protocol, rats were killed and both knee of the animals were assessed histopathologically. One-way ANOVA (P < 0/05) and post-hoc Tukey test were used for statistical analysis of data.

**Findings:** Results indicated that there was a significant difference between Quercetin group, Swimming group and Quercetin+Swimming with OA group (P = 0/001).

**Conclusion:** Regarding results of the study it can be concluded that swimming exercise at moderate intensity and Quercetin supplementation either alone or in combination have a positive effect on improvement of osteoarthritis symptoms of rats' knee. But it seems that separate effect of Quercetin supplementation and its combination with swimming exercise does not excel the effect of Swimming exercise alone.

**Keywords:** Swimming exercise, Quercetin, Rat's knee osteoarthritis

**Citation:** Hajizadeh-Moghaddam A, Mirkarimpour SH, Alizadeh MH, Kordi MR, Fallah-Mohammadi M. **Separate and Concomitant Effect of Swimming Exercise and Quercetin Supplementation on Rat's Knee Osteoarthritis.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(288): ??.

1- Associate Professor, Department of Biology, School of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

2- PhD Student, Department of Sport Medicine, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

3- Associate Professor, Department of Sport Medicine, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.

4- Associate Professor, Department of Sport Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

5- PhD Student, Department of Sport Traumatology, School of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Seyed Hossein Mirkarimpour MSC, Email: shmirkarimpour@ut.ac.ir