

## اثر تجویز نانوذره اکسید روی بر کاهش بروز درد نوروپاتییک حرارتی ناشی از تجویز حاد و مزمن پاکلی تاکسل در موش‌های سوری

زهرا کرمی<sup>۱\*</sup>، مجید حسن‌پورعزتی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۶/۰۶/۲۵ تاریخ پذیرش ۱۳۹۶/۰۸/۲۶

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** مدارک متعددی دال بر اثر کاهش‌دهنده التهاب عصبی توسط نانوذرات اکسید روی (نانواکسید روی) در دست است که با مکانیسم‌های برانگیخته‌شده توسط پاکلی تاکسل در تضاد می‌باشند. در این مطالعه اثر تجویز موضعی و تجویز داخل صفاقی نانواکسید روی بر درد حرارتی حاد و مزمن نوروپاتییک ناشی از پاکلی تاکسل در موش سوری مورد ارزیابی واقع شده است.

**مواد و روش کار:** موش‌های سوری نر بالغ (۴۰-۳۵ گرم) ابتدا به گروه‌های مطالعاتی حاد و مزمن تقسیم شدند. گروه‌های حاد، پاکلی تاکسل (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تک‌دوز، i.p.) و نانواکسید روی (۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم، کف پا) و گروه‌های مزمن، پاکلی تاکسل (۴/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، i.p.) به مدت ۴ روز و نانواکسید روی (۱، ۰، ۱، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، i.p.) را توأم دریافت کردند. گروه کنترل، پاکلی تاکسل (۴/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، i.p.) را به مدت ۴ روز در هفته دریافت کردند. زمان تأخیر تا پاسخ پس کشیدن پا از آب گرم (۴۶ درجه سانتی‌گراد) و سرد (۳-۲ درجه سانتی‌گراد) پس از هر یک از درمان‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** پاکلی تاکسل در گروه درمان مزمن سبب پردردی حرارتی گرمایی و سرمایی شد، ولی در شرایط تجویز حاد فقط سبب القای پردردی گرمایی شد. درمان با نانو اکسید روی در شرایط مزمن سبب سرکوب وابسته به دوز و معنی‌دار پردردی گرمایی و سرمایی و همچنین سبب تخفیف پردردی گرمایی القاشده در شرایط درمان حاد با پاکلی تاکسل در موش‌ها شد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهد که نانو اکسید روی می‌تواند هایپرآلجیای نوروپاتییک حرارتی گرمایی القاء شده توسط مدل‌های حاد و مزمن القاشده توسط پاکلی تاکسل را کاهش دهد. اثربخشی درمان با نانوذره اکسید روی بر پردردی حرارتی القاشده توسط پاکلی تاکسل در هر دو مدل حاد و مزمن در موش‌ها می‌تواند مدرک مفیدی برای انجام تحقیقات بالینی متعاقب بر روی این نانوذره باشد.

**کلیدواژه‌ها:** نانوذرات، اکسید روی، پاکلی تاکسل، پردردی، موش

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هشتم، شماره دهم، ص ۶۰۰-۵۸۹، دی ۱۳۹۶

آدرس مکاتبه: تهران - خیابان آیت‌الله کاشانی، خیابان سازمان برنامه شمالی، کوچه شهید حورآبادی (سوم مرکزی)، پلاک ۷، واحد ۲، تلفن: ۴۴۱۰۵۰۷۳-۰۲۱

Email: tanhasetareyeshab@gmail.com

### مقدمه

داروهای رایج ضد درد مانند داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی و اپیوئیدها دارای کارایی اندکی در درمان این نوع درد هستند (۲). گرچه مکانیسم دقیق بروز دردهای نوروپاتییک نامشخص باقی مانده است ولی التهاب عصبی به‌عنوان یکی از عمده‌ترین دلایل بروز این پدیده مطرح شده است (۳).

درد نوروپاتییک به‌عنوان یک عارضه جانبی مصرف داروهای شیمی‌درمانی همچنان به‌عنوان یکی از مشکلات حل‌نشده بالینی باقی مانده است. این نوع درد خود به انواع مرکزی و محیطی، و همچنین حرارتی و مکانیکی تقسیم‌بندی می‌شود (۱).

<sup>۱</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد، علوم جانوری گرایش فیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

<sup>۲</sup> استادیار، فیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

### حیوانات آزمایشگاهی:

در این پژوهش که از نوع تجربی است از موش نر بالغ سوری با نژاد Swiss و جنسیت نر با وزن تقریبی ۳۵-۴۰ گرم استفاده شد. هر گروه شامل ۱۰ سر موش بود. تمامی مراحل انجام این مطالعه، شامل شرایط و محل نگهداری و روش معدوم کردن حیوانات بر اساس قوانین تدوین شده از حمایت از حیوانات در دانشگاه شاهد به انجام رسیده است.

### داروها:

داروهای مورد استفاده در این پژوهش شامل: داروی پاکلی تاکسل با غلظت ۶ میلی گرم در میلی لیتر، محصول شرکت دارویی Stragen، ژنو، سوئیس؛ ویکل به عنوان حلال پاکلی تاکسل، نانو اکسید روی و روغن کرچک (Castor Oil) به عنوان حلال نانوذره بودند.

### طرز تهیه داروها:

#### طرز تهیه ویکل (حلال پاکلی تاکسل):

۵، ۰ سی سی اتانول خالص ۹۰ درصد را در کف یک فالكون ریخته و سپس برای چند لحظه در بین ماری ۴۰-۵۰ درجه گذاشته تا فقط لوله گرم شود. سپس با خم نگه داشتن لوله و قطره قطره اضافه کردن ۵، ۰ سی سی روغن کرچک به الکل گرم شده و هم زدن در دست، اتانول و روغن کرچک را مخلوط کردیم. سپس ۸ سی سی نرمال سالین را قطره قطره از گوشه‌ی ظرف اضافه کردیم. هر چند لحظه یک بار فالكون را داخل بین ماری گذاشته و دوباره فالكون هم زده شد. در نهایت محلول نیمه شفاف یکدست (حالت امولسیون) با حجم کلی ۹ سی سی به دست آمد.

#### سنتز نانوذره اکسید روی:

محلول ۰،۱ مولار از استات روی با محلول ۰،۱ مولار آگسالیک اسید به کمک همزن مغناطیسی به خوبی به آهستگی با هم مخلوط شدند. محلول حاصل به مدت ۴ ساعت توسط همزن مغناطیسی در دمای اتاق مخلوط شد. رسوب حاصله پس از جداسازی با مخلوط ۵۰-۵۰ آب مقطر و اتانول سه مرتبه شسته شو داده شد و در دمای محیط به مدت ۲۴ ساعت برای خشک شدن نگهداری شد. رسوب حاصله در ادامه برای کلسینه شدن به مدت دو ساعت در کوره با دمای ۴۵۰°C حرارت داده شد (۱۵).

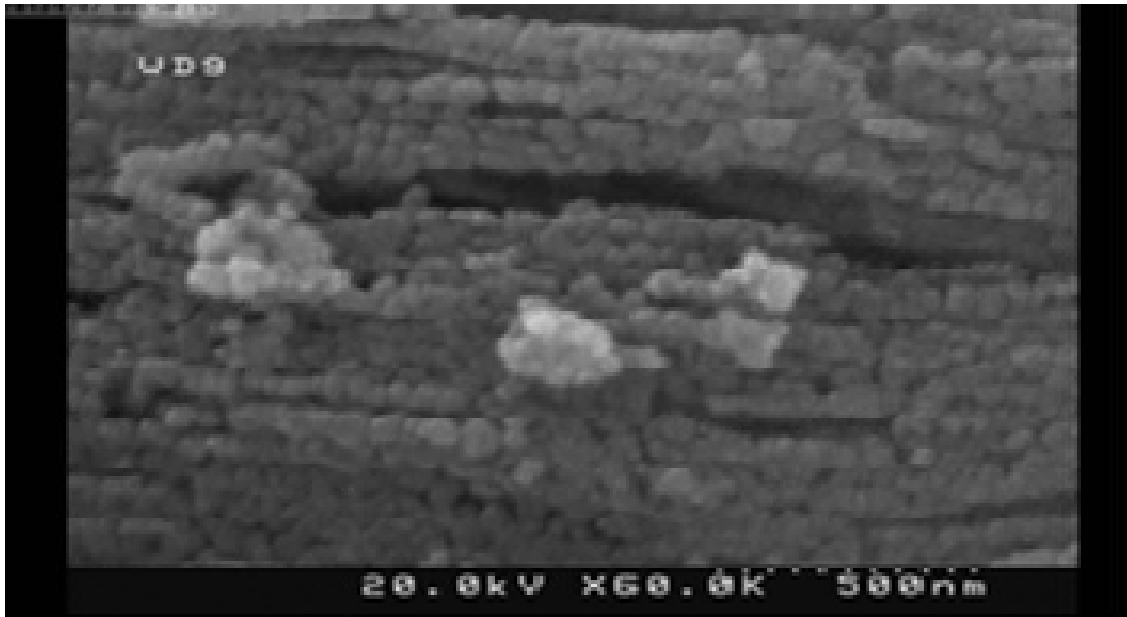
پاکلی تاکسل یکی از داروهای شیمی درمانی است که مشخص شده است تجویز آن می تواند یک مدل معتبر از درد حرارتی را در انواع مختلفی از نژادهای موش سوری ایجاد کند (۴). یافته های جدید گویای این نکته هستند که فرایندهای التهاب عصبی در میانجی گری اثرات نوروپاتییک ناشی از تجویز این ترکیب نقش عمده ای را بر عهده دارند (۵).

به تازگی مدارکی دال بر استفاده ی دارویی از نانوذرات در امر کنترل درد و التهاب منتشر شده است (۶). نانو اکسید روی یکی از پرکاربردترین نانوذرات اکسید فلزی در زمینه بهداشتی و صنعتی است (۷). مروری بر مقالات گواه این مدعا است که نانوذرات فلزاتی چون روی، نقره، طلا، و آهن به خصوص اکسیدهای آن ها دارای ارزش کاربردی در زیست شناسی و پزشکی هستند (۸). نانوذره اکسید روی به فرم بدون پوشش (Naked particles) و یا به فرم متصل و یا مخلوط با دیگر ترکیبات، خاصیت آنتی اکسیدانی نشان داده است (۹). مشابه با دیگر نانوذرات در مورد نانوذره اکسید روی نیز (وابسته به اندازه و شکل ذرات) گزارش هایی دال برهم اثرات منفی (۱۰) و هم اثرات زیست سازگار و مفید بر ساختارهای زیستی در دست است (۱۱). از سوی دیگر به عنوان مثالی از اثرات تعدیل کننده و مثبت این نانوذره بر سیستم اعصاب، می توان به اثر تقویت کننده حافظه و کاهش دهنده افسردگی آن در مدل القای افسردگی توسط lipopolysaccharides در موش کوچک اشاره کرد (۱۲). اثر ضد سرطانی و تعدیل کننده ی سیستم ایمنی از دیگر اثرات بررسی شده در ارتباط با این نانوذره است (۱۳).

همچنین مدارکی در ارتباط با اثرات ضدالتهابی نانوذره اکسید روی در مدل التهابی القا شده توسط کاراگینین نیز در دست می باشد (۱۴). لذا به نظر می رسد که استفاده از فرم و اندازه خاصی از این نانوذره، با توجه به راحتی ورود آن به درون سیستم اعصاب به دنبال تجویز عمومی بدون اینکه سبب ایجاد اثرات سمی شود، می تواند عرصه جدیدی را برای مطالعه در زمینه محصولات کنترل کننده درد و التهاب ناشی از نوروپاتی حاصل از شیمی درمانی باز کند (۷).

در این پژوهش قصد داریم به اثرات ضد دردی نانوذره اکسید روی در شکل های تجویزی مختلف به عنوان یک محصول کاربردی بر مدل درد نوروپاتییک القا شده توسط پاکلی تاکسل در موش های سوری بپردازیم.

### مواد و روش کار



تصویر میکروسکوپ الکترونی (Scanning Electron Microscope) SEM از نانوذرات اکسیدروی. مقیاس نشان داده شده در تصویر معادل ۵۰۰ نانومتر است. نوع اکسید روی بر اساس تصویر از نوع کرووی (Globular) است.

#### ایجاد مدل درد حاد نوروپاتییک توسط تجویز تک‌دوز

##### پاکلی تاکسل:

داروی پاکلی تاکسل (دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی) چهار مرتبه در مدت یک هفته به موش‌های گروه‌های دریافت‌کننده این ترکیب تجویز شد (۱۹). به این منظور به ازای ۱۰۰ گرم وزن بدن موش ۰،۳۳ سی‌سی از پاکلی تاکسل تزریق شد و هر روز رأس ساعت مشخصی از موش‌ها آزمون درد گرمایی و سرمای‌ی به عمل آمد.

#### آزمون‌های سنجش درد

##### آزمون سنجش درد گرمایی در موش‌ها:

جهت سنجش پاسخ هیپرالجزیک موش‌ها به محرک‌های گرمایی دردزا، موش‌ها توسط یک حوله نگهداری شده و پای آن‌ها در آب داغ ۴۶ درجه سانتی‌گراد فرو برده می‌شد. این آزمایش بر روی هر دو پای موش‌ها به صورت جداگانه انجام می‌شد. زمان پس کشیدن پا توسط موش‌ها توسط کروномتر دیجیتال اندازه‌گیری و ثبت می‌شد. حداکثر زمان قطع آزمون (Cut off time) برای این آزمایش ۲۵ ثانیه در نظر گرفته شده بود. هر موش سه مرتبه و با فاصله ۱۰ ثانیه از هم موردسنجش قرار گرفت. این آزمایش یک بار قبل از شروع تجویز داروها برای به دست آوردن آستانه پایه حس

#### نحوه تهیه محلول تزریقی نانو سوسپانسیون اکسید روی:

به این منظور ۵۰۰ میلی‌گرم نانوذره اکسید روی در ۴/۵ گرم روغن کرچک (Castor Oil) حل شد و سپس غلظت سوسپانسیون نهایی با افزودن روغن به ۱۰۰ میلی‌گرم/گرم رسانده شد. غلظت‌های موردنیاز بعدی برای تجویز کف‌پایی به موش نیز با رقیق کردن بیشتر این سوسپانسیون توسط اضافه کردن روغن تهیه شدند (۱۶).

#### ایجاد مدل درد نوروپاتییک مزمن توسط تجویز مکرر

##### پاکلی تاکسل:

این روش توسط Mo و همکاران در سال ۲۰۱۲ برای ایجاد مدل درد نوروپاتییک مزمن توسط پاکلی تاکسل مورد استفاده واقع شد. داروی پاکلی تاکسل (دوز ۴/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی) چهار مرتبه در مدت یک هفته به موش‌ها تجویز شد (۱۷). موش‌ها در این روش به طور تجمعی میزان ۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم پاکلی تاکسل را دریافت کردند. برای ارزیابی اثرات این تجویز بر آستانه‌ی درد موش‌ها، آستانه پایه درد در موش‌ها ۳ روز قبل از شروع تزریق پاکلی تاکسل توسط روش سنجش درد گرمایی و سرمای‌ی موردسنجش قرار گرفتند. همچنین آستانه درد آن‌ها در روزهای ۷، ۱۰، ۱۴ و ۱۷ بعد از تجویز اولین دوز پاکلی تاکسل توسط روش سنجش درد گرمایی و سرمای‌ی موردسنجش واقع شد (۱۸).

در این پژوهش موش‌ها هم‌زمان در پای چپ نانوسوسپانسیون اکسید روی را به‌صورت تزریق کف‌پایی (در دو دوز مختلف ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم/۱۰ میکرولیتر) و در پای راست روغن (۱۰ میکرولیتر) به‌عنوان حلال نانوسوسپانسیون را به‌تنهایی دریافت کردند. سپس آزمون پاسخ به محرک حرارتی گرمایی و سرمای ۲۴ ساعت پس از تزریق نانوسوسپانسیون اکسید روی از موش‌ها گرفته شد.

### یافته‌ها

#### بررسی اثر تجویز پاکلی تاکسل بر حساسیت نسبت به

##### درد حرارتی گرمایی و سرمای (روش مزمن):

تجویز پاکلی تاکسل (دوز جمعی ۱۸ میلی‌گرم/کیلوگرم در طی چهار روز به‌صورت داخل صفاقی) از روز سوم پس از پایان تجویز سبب شد تا موش‌ها دچار حساسیت معنی‌داری ( $p < 0.01$ ) بیشتری نسبت به محرک گرمایی (آب گرم ۴۶ درجه سانتی‌گراد) و آب سرد (۲-۳ درجه سانتی‌گراد) شود. داده‌های شکل ۱ گویای این نکته هستند که به دنبال تجویز پاکلی تاکسل درد نوروپاتییک نسبت به هر دو محرک گرمایی و سرمای در هر دو پای راست و چپ موش به‌طور معنی‌دار ( $p < 0.01$ ) القا شود. داده‌ها نشان می‌دهند که درد از روز سوم پس از پایان تجویز پاکلی تاکسل آغاز و تا روز چهاردهم آزمایش به‌طور معنی‌دار باقی می‌ماند.

درد در موش و یک بار پس از درمان با دارو یا نانوذره یا هر دو بر روی موش‌ها انجام می‌شد.

#### آزمون سنجش درد سرمای در موش‌ها:

جهت سنجش هیپرآلجی‌ها نسبت به محرک‌های سرمای در موش‌ها، پای موش‌ها در آب سرد ۲-۳ درجه سانتی‌گراد فرو برده می‌شد و زمان پس کشیدن پای موش‌ها ثبت شد. بقیه مراحل نحوه آزمایش مشابه با سنجش پاسخ موش‌ها به تحریک‌های توسط آب گرم بود.

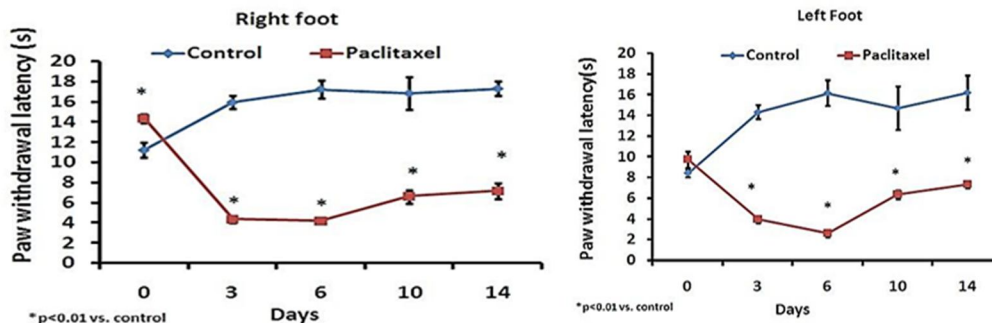
#### آزمون‌های آماری:

داده‌های گردآوری‌شده توسط نرم‌افزار Prism 5 بررسی شدند. داده‌ها به‌صورت میانگین و انحراف معیار محاسبه و نمایش داده شده‌اند. برای انجام آنالیزها با توجه به توزیع داده‌ها از آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی Bonferroni post hoc با سطح معنی‌داری  $p < 0.01$  استفاده شد.

#### ارزیابی اثر تزریق کف‌پایی نانوسوسپانسیون اکسید روی

##### بر نوروپاتی حاد ایجادشده توسط پاکلی تاکسل در عصب

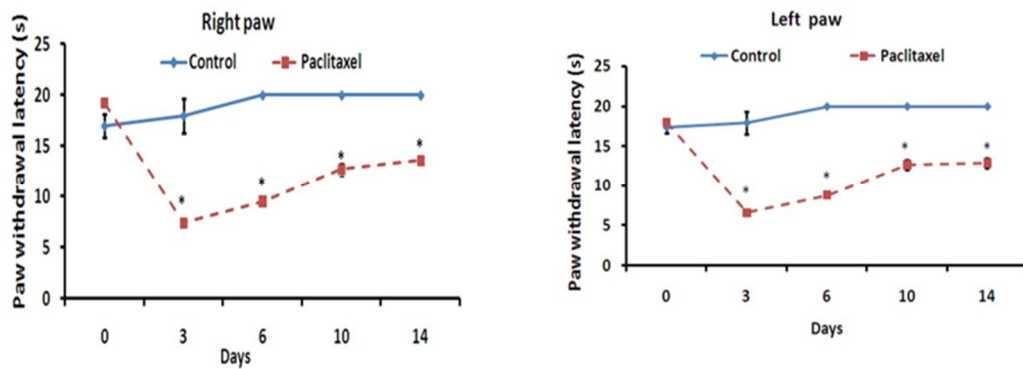
##### سیاتیک:



شکل (۱): اثر تجویز پاکلی تاکسل (۴/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت داخل صفاقی بر آستانه درد حرارتی گرمایی (۴۶ درجه سانتی‌گراد) پا در موش سوری.

دو طرفه و آزمون متعاقب Bonferrini مورد مقایسه قرار گرفته‌اند. هر داده با گروه کنترل مورد مقایسه قرار گرفته است.

داده‌ها نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  SEM زمان تأخیر تا پاسخ موش‌ها نسبت به محرک است. داده‌ها توسط آزمون ANOVA



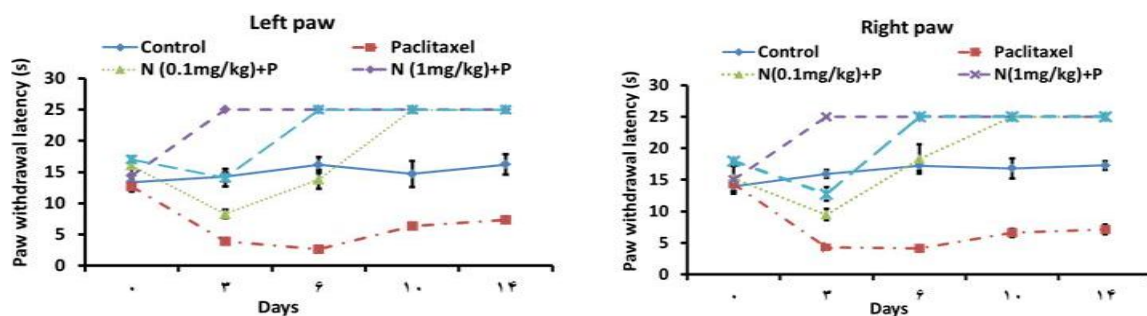
شکل (۲): اثر تجویز پاکلی تاکسل (۴/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی بر آستانه درد حرارتی سرمایی (آب سرد ۲-۳ درجه سانتی‌گراد) پا در موش سوری.

نانوذره اکسید روی (هر سه دوز بکار گرفته شده در این پژوهش) سبب تخفیف پردردی ناشی از پاکلی تاکسل از روز سوم پس از تجویز پاکلی تاکسل در هر دو پای موش‌ها نسبت به محرک گرمایی (آب گرم ۴۶ درجه سانتی‌گراد) به طور معنی‌داری ( $p < 0.0001$ ) می‌شود. داده‌های شکل گویای این نکته هستند که تجویز هر سه دوز نانوذره اکسید روی سبب کاهش پردردی در هر دو پای راست و چپ موش به طور معنی‌دار ( $p < 0.01$ ) نسبت به محرک گرمایی شده است. این پاسخ از روز سوم تا پایان روز چهاردهم به طور معنی‌دار و پایدار در موش‌ها مشاهده شد. منحنی پاسخ بی‌دردی ایجادشده توسط تجویز دوزهای مختلف نانوذره اکسید روی حالت زنگونه ای شکلی را نشان می‌دهد و بیش‌ترین اثر بی‌دردی مربوط به دوز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم می‌باشد. داده‌ها توسط آزمون ANOVA دوطرفه و آزمون Bonferrini مورد تجزیه و تحلیل واقع شده‌اند.

داده‌ها نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  SEM زمان تأخیر تا پاسخ موش‌ها نسبت به محرک است. داده‌ها توسط آزمون ANOVA دوطرفه و آزمون متعاقب Bonferrini مورد مقایسه قرار گرفته‌اند. هر داده با گروه کنترل مورد مقایسه قرار گرفته است. زمان تأخیر تا پاسخ پس کشیدن پا از آب سرد در مقایسه با گروه کنترل ( $p < 0.01 \times$ ).

#### کاهش پردردی حرارتی ناشی از پاکلی تاکسل نسبت به محرک گرمایی بر اثر تجویز داخل صفاقی نانوذره اکسید روی (روش مزمین):

اثر تجویز هر سه دوز نانوذره اکسید روی (دوزهای ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در طی چهار روز به صورت داخل صفاقی) به موش‌هایی که در آن‌ها پردردی به واسطه پاکلی تاکسل القا شده بود در شکل ۳ نشان داده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که تجویز



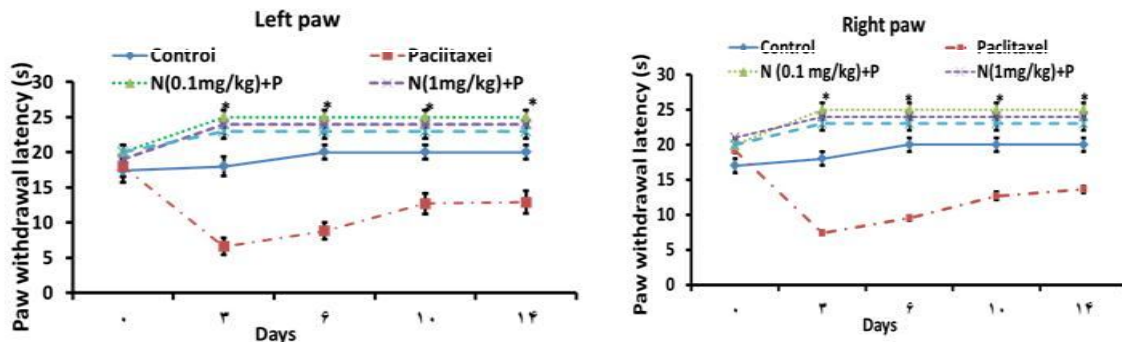
شکل (۳): منحنی‌های زمانی اثر تجویز نانوذره اکسید روی (۰،۱،۱،۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم i.p.) (از روز سوم پس از پایان درمان با پاکلی تاکسل ۴،۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۴ روز متوالی i.p.) بر بروز هایپرالجزیای گرمایی (آب گرم ۴۶ درجه). همه گروه‌ها با گروه کنترل (دریافت‌کننده حلال پاکلی تاکسل) مقایسه شده‌اند ( $*p < 0.0001$ ; Groups vs control).

$n=5, p < 0.0001$

شکل ۴ نشان داده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که تجویز نانوذره اکسید روی (هر سه دوز بکار گرفته شده در این پژوهش) سبب تخفیف پردردی ناشی از پاکلی تاکسل از روز سوم پس از تجویز پاکل تاکسول در هر دو پای موش‌ها نسبت به محرک سرمایی (آب سرد ۲-۳ درجه سانتی‌گراد) به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.0001$ ) می‌شود.

### کاهش پردردی حرارتی ناشی از پاکلی تاکسل نسبت به محرک سرمایی بر اثر تجویز داخل صفاقی نانوذره اکسید روی (روش مزمین):

اثر تجویز هر سه دوز نانوذره اکسید روی (دوزهای ۱، ۰،۱ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در طی چهار روز به‌صورت داخل صفاقی) به موش‌های که در آن‌ها پردردی به‌واسطه پاکلی تاکسل القا شده بود توسط آزمون فروبردن پا در آب سرد (۲-۳ درجه سانتی‌گراد) در

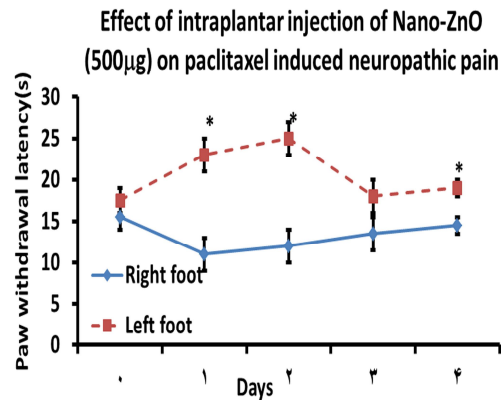
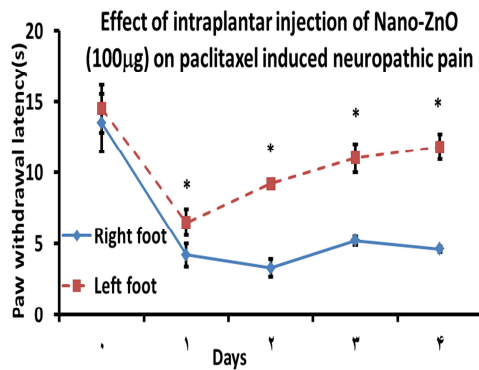


**شکل (۴):** اثر تجویز هر سه دوز نانوذره اکسید روی (دوزهای ۱، ۰،۱ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (i.p) به موش‌هایی که در آن‌ها پردردی به‌واسطه پاکلی تاکسل (۵، ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۴ روز متوالی (i.p) القا شده بود توسط آزمون فروبردن پا در آب سرد (۲-۳ درجه سانتی‌گراد). همه گروه‌ها با گروه کنترل (دریافت‌کننده حلال پاکلی تاکسل) مقایسه شده‌اند ( $p < 0.0001$ ; \*Groups vs control).

تجویز آغاز و تا مدت ۴ روز پس از تجویز پاکلی تاکسل به‌طور معنی‌دار ( $p < 0.01$ ) در مقایسه با پاسخ همان موش‌ها در روز قبل از تزریق پاکلی تاکسل مشاهده می‌شود. میانگین زمان پس کشیدن پای موش‌ها از آب گرم قبل از تزریق پاکلی تاکسل  $14 \pm 2$  ثانیه بود که به دنبال تزریق پاکلی تاکسل به  $5 \pm 0.5$  ثانیه کاهش پیدا کرد. یافته‌ها نشان می‌دهند که اثر پیشگیری‌کننده تجویز موضعی نانوذره روی بر پردردی حرارتی گرمایی وابسته به دوز بود و دوز ۵۰۰ میکروگرم از نانوذره (زمان تأخیر تا پس کشیدن  $22/5 \pm 1/5$  ثانیه در مقایسه با پای درمان‌نشده  $11/5 \pm 1/5$  در روز اول) مؤثرتر از دوز ۱۰۰ میکروگرم نانو اکسید روی (زمان تأخیر تا پس کشیدن  $6/5 \pm 0/75$  ثانیه در مقایسه با پای درمان‌نشده  $4/5 \pm 0/5$  در روز اول) اثر کرده است. یک روند افزایش‌یابنده معنی‌دار ( $p < 0.01$ ) در زمان تأخیر تا پاسخ پای درمان شده با نانوذره اکسید روی موش‌ها دریافت‌کننده پاکلی تاکسل در طی روزهای ۲ تا ۴ پس از تجویز دوز ۵۰۰ میکروگرم نانوذره اکسید روی در مقایسه با پای دریافت‌کننده حلال نانوذره مشاهده می‌شود (شکل ۵).

### کاهش درد نوروپاتییک حاد ناشی از پاکلی تاکسل پس از تزریق نانسوسپانسیون اکسید روی به‌صورت زیر جلدی به کف پای موش‌ها:

یافته‌های این بخش نشان داد که موش به دنبال تزریق تک‌دوز پاکلی تاکسل (۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) فقط دچار پردردی نسبت به محرک گرمایی (آب گرم ۴۶ درجه سانتی‌گراد) می‌شوند (شکل ۵)؛ ولی هیچ‌گونه تغییر معنی‌دار در زمان پاسخ پس کشیدن پای آن‌ها نسبت به محرک آب سرد (۲ تا ۳ درجه سانتی‌گراد) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد (شکل نشان داده نشده است). لذا در ادامه فقط اثر پیش‌درمانی موش‌ها با پیش‌درمانی با تجویز دو دوز (۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم) موضعی و زیر جلدی به کف پای موش‌ها از نانوذره اکسید روی بر زمان پس کشیدن پای موش‌ها از آب گرم (۴۶ درجه سانتی‌گراد) مورد ارزیابی واقع شد. همان‌طور که در شکل ۵ مشخص است پردردی حرارتی نسبت به آب گرم ناشی از تجویز تک‌دوز (۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، داخل صفاقی) پاکلی تاکسل از روز اول پس از



**شکل (۵):** منحنی دوره زمانی، زمان تأخیر تا پس کشیدن پای موش‌ها. تجویز نانوذره اکسید روی (۵۰۰ و ۱۰۰ میکروگرم/۱۰ میکرولیتر) به صورت زیر جلدی به کف پای چپ موش دریافت کننده تک دوز پاکلی تاکسل (۲۰ میلی گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی) سبب جلوگیری از کاهش زمان تأخیر تا پاسخ در این پای موش‌ها در مقایسه با پای راست موش‌ها (دریافت کننده حلال روغن کرچک به تنهای به صورت زیر جلدی) شد. داده‌های پاسخ پس کشیدن پای درمان شده با نانوذره در مقایسه با پای دریافت کننده حلال توسط آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی Bonferroni مورد مقایسه قرار گرفته‌اند (\* $p < 0.05$ ,  $n=5$ ).

دهد. ضمن اینکه این نانوذره منجر به بروز مرگ یا ضایعه حرکتی مشهودی در موش‌های مورد آزمایش نشد. با توجه به گزارش دانشمندی بنام Kim و همکارانش سمیت نانو اکسیدروی با ابعاد این ذره ارتباط دارد و اندازه بکار رفته از نانو اکسید روی در این پژوهش (۵۰ نانومتر) در محدوده سمی از این نانوذره قرار نمی‌گیرد و هیچ گزارشی دال بر مسمومیت با این ابعاد از نانوذره اکسید روز در دست نیست (۲۵). یافته‌هایی در دست می‌باشند که اثربخشی نانوذره اکسید روی بر درد نوسیسپتو حرارتی را در موش بزرگ گزارش کرده‌اند (۲۶). همچنین به نظر می‌رسد که خاصیت ضد دردی اکسید روی مستقل از نانو یا مولکولی بودن آن است و به خود ترکیب و مکانیسم اثرش باز می‌گردد، زیرا گزارش شده است که هر دو فرم نانوذره و مولکولی اکسید روی هر دو سبب کاهش درد نوسیسپتو در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نمی‌شوند (۲۷). یافته‌های این پژوهش در قسمت ارزیابی تجویز تک دوز پاکلی تاکسل دال بر بروز پردردی نسبت به محرک گرمایی و عدم بروز پردردی نسبت به محرک سرمایی است. در توضیحی برای این مشاهده می‌توان به یافته‌های Zhang همکاران اشاره کرد (۲۸). آن‌ها نشان دادند که شدت اثرات تخریبی پاکلی تاکسل بر رشته‌های C بدون میلین دو برابر بیشتر از رشته‌های A میلین دار است. این تفاوت در اثرات می‌تواند توجیهی برای تفاوت مشاهده شده در پردردی حرارتی ناشی

## بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش گویای اثر کاهش دهنده تجویز نانو اکسید روی بر القا درد نوروپاتیک حرارتی توسط داروی پاکلی تاکسل است. بروز نوروپاتی دردناک نسبت به محرک‌های حرارتی توسط تجویز پی‌درپی روزانه پاکلی تاکسل در مدل‌های موشی پیش‌از این نیز گزارش شده است (۲۰). همچنین مشخص شده است که به دنبال تجویز تک دوز غلظت‌های بالای از پاکلی تاکسل نیز پردردی نوروپاتیک به وقوع می‌پیوندد (۲۱).

پژوهشگران مکانیسم‌های پردردی ناشی از تجویز تک دوز و یا مکرر پاکلی تاکسل در مدل‌های مختلف را بررسی و دلایل متفاوتی را برای توجیه یافته‌های خود ارائه کرده‌اند که از آن میان می‌توان به آسیب به آکسون عصب سیاتیک به دنبال تجویز تک دوز غلظت‌های بالا از پاکلی تاکسل اشاره کرد (۲۲). مشخص شده است که فراخوانی ماکروفاژها و تجمع آن‌ها در شاخ خلفی نخاع می‌تواند یکی از دلایل بروز نوروپاتی دردناک ناشی از پاکلی تاکسل باشد (۲۳).

امروزه پژوهشگران اغلب داروها، ترکیبات و روش‌های درمانی را که گزارش‌هایی در مورد اثرات ضد درد آن‌ها در دست است را برای مقابله با درد نوروپاتیک مورد آزمایش قرار می‌دهند (۲۴). یافته‌های ما نشان داد که تجویز صفاقی و موضعی نانو اکسید روی می‌تواند تا حدودی بروز درد حرارتی نوروپاتیک ناشی از پاکلی تاکسل را تخفیف

که نشان می‌دهند اشتراک محل اثرات پاکلی تاکسل و روی در موقعیت مشابه در نخاع هستند (۳۸). ضمن اینکه گزارش شده است که یون روی می‌تواند حساسیت رشته‌های C را تنظیم کند (۳۹). تحقیقات فارماکولوژیک نقش سیستم گابارژیک نخاعی را در بروز و مهار درد نوروپاتیک حرارتی ناشی از پاکلی تاکسل نشان داده‌اند (۴۰). در این ارتباط اثر اکسید روی بر فرایندهای تحت کنترل سیستم گابارژیک نیز مشخص است (۴۲، ۴۱).

نتایج این پژوهش در ارتباط با اثر بی‌دردی ناشی از تجویز نانوذره اکسید روی در مدل درد نوروپاتیک ناشی از داروی شیمی‌درمانی پاکلی تاکسل نشان داد که این نانوذره می‌تواند با موفقیت سبب کاهش درد در مدل‌های درد حرارتی به‌خصوص درد ناشی از محرک‌های گرمایی بشود. در ارتباط با مکانیسم احتمالی نانوذره اکسید روی بر درد نوروپاتیک حرارتی می‌توان پیشنهادی متنوعی را مطرح کرد که به برخی از آن‌ها اشاره شد. ضمن اینکه مدارکی در دست است که نانوذره اکسید روی می‌تواند به‌عنوان یک مهارکننده غیرقابلی گیرنده NMDA گلوتامات عمل کند (۴۵-۴۳). همچنین روی می‌تواند سبب مهار رهایش گلوتامات از طریق رهایش ناقل عصبی مهاری گابا شود (۴۶، ۴۷). این درست عکس مکانیسم بروز درد توسط پاکلی تاکسل است که سبب افزایش رهایش گلوتامات و افزایش حساسیت گیرنده‌های آن در شاخص خلفی نخاع و بروز درد می‌شود (۴۸). همچنین تفاوت اثر نانوذره اکسید روی بر دو نوع مختلف سرمایی و گرمایی بروز درد با گزارش‌های قبلی در ارتباط با دخالت گیرنده‌های NMDA در انواع مختلف درد حرارتی نیز هم‌خوانی دارد.

در پایان پیشنهاد می‌شود که به کمک انواع مختلف فن‌های بافت‌شناسی و سلولی مولکولی اثرات ترمیمی نانو ذرات اکسیدروی بر آسیب‌های وارده بر سیستم اعصاب مورد بررسی واقع شود

### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئول محترم آزمایشگاه فیزیولوژی و محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شاهد تقدیر و تشکر می‌شود.

از پاکلی تاکسل باشد، زیرا نوع رشته انتقال‌دهنده پیام سرما و گرما از گیرنده‌های حرارتی به نخاع متفاوت می‌باشند (۲۹).

در ادامه یافته‌های ما گویای اثر کاهش‌دهنده نانوآکسید روی بر حساسیت القا شده توسط پاکلی تاکسل در موش‌ها نسبت به محرک‌های حرارتی بود که به‌صورت وابسته به دوز (در مدل درد نوروپاتیک مزمن) تحت تأثیر قرار می‌گرفت. در این ارتباط با بررسی هموژنای مغز موش‌ها به دنبال تجویز نانوذره اکسید روی دانشمندی بنام Shim و همکارانش نشان دادند که مهم‌ترین پروتئین‌هایی که این نانوذره در سلول‌های عصبی به آن متصل می‌شوند پروتئین تنظیم‌کننده آکسون‌ها است (۳۰). اثرات تنظیمی این نانوذره مختص به آکسون‌ها نبوده و اثرات تنظیمی را بر آستروسیت‌ها و از این طریق بر التهاب نورونی دارا می‌باشند (۳۱). آستروسیت‌ها مهم‌ترین سلول‌ها در پاتوژنز بروز نوروپاتی دردناک معرفی شده‌اند (۳۲). همچنین در ارتباط با عصب سیاتیک و بروز دردهای نوروپاتیک ناشی از پاکلی تاکسل آستروسیت‌های نخاعی به‌عنوان عامل اصلی این پدیده معرفی شده‌اند (۳۳). در همین ارتباط تأثیر نانوذره اکسید روی بر روی کشت سلولی آستروسیت‌ها به‌تازگی گزارش شده است (۳۴). همین مقاله به اثر تجویز نانوذره اکسید روی بر تعادل روی (zinc homeostasis) در مغز اشاره کرده است. دانشمندی بنام Ciubotariu در سال ۲۰۱۵ به کاهش روی در مغز به‌عنوان عاملی برای بروز نوروپاتی اشاره کرده است (۳۵). بخصوص که رابطه‌ای بین اثربخشی پاکلی تاکسل و میزان محتوای روی در بافت‌های بدن نیز مشخص شده است (۳۶). لذا این فرضیه محتمل به نظر می‌رسد که تجویز نانوذره اکسید روی با ارتقای تعادل روی در سیستم اعصاب از بروز اثرات نوروپاتیک پاکلی تاکسل جلوگیری کرده است. علاوه بر این، مشخص شده است که کانال‌های کلسیمی نوع T (T-type calcium channels) توسط روی مهار شده و سبب کاهش حساسیت گیرنده‌های درد وابسته به فیبرهای عصبی نوع C می‌شوند (۳۷). این مشاهده می‌تواند توجیه‌کننده مشاهدات ما در این پژوهش در ارتباط با تفاوت اثر تجویز نانوآکسید روی بر درد سرمایی و گرمایی باشد. یافته‌های دال بر اثر تعدیل‌کننده روی بر فرایندهای درد در سطح شاخ خلفی نخاعی نیز در دست می‌باشند

### References:

1. Kudo T, Kushikata T, Kudo M, Kudo T, Hirota K. A central neuropathic pain model by DSP-4 induced lesion of noradrenergic neurons: Preliminary report. *Neurosci Lett* 2010; 481(2): 102-4.
2. Park HJ, Joo HS, Chang HW, Lee JY, Hong SH, Lee Y, Moon DE. Attenuation of neuropathy induced

allodynia following intraplantar injection of pregabalin. *Can J Anesth* 2010; 57(7): 664-71.

3. Janes K, Little JW, Li C, Bryant L, Chen C, Chen Z, et al. The development and maintenance of paclitaxel-induced neuropathic pain require activation of the sphingosine 1-phosphate receptor subtype 1. *J Biol Chem* 2014; 289(30):21082-97.



4. - Smith SB, Crager SE, Mogil JS. Paclitaxel-induced neuropathic hypersensitivity in mice: responses in 10 inbred mouse strains. *Life Sci* 2004; 74(21):2593-604.
5. Naguib M, Xu JJ, Diaz P, Brown DL, Cogdell D, Bie B, et al. Prevention of paclitaxel-induced neuropathy through activation of the central cannabinoid type 2 receptor system. *Anesth Analg* 2012; 114(5): 1104-20.
6. Nagai N, Ito Y. Therapeutic effects of gel ointments containing tranilast nanoparticles on paw edema in adjuvant-induced arthritis rats. *Bio Pharm Bull* 2014; 37(1) 96–104.
7. Wang ZL: Splendid one-dimensional nanostructures of zinc oxide: a new nanomaterial family for nanotechnology. *ACS Nano* 2008, 2(10):1987-92.
8. Hirano T., Murakami M., Fukada T., Nishida K., Yamasaki S., Suzuki T. Roles of zinc and zinc signaling in immunity: zinc as an intracellular signaling molecule. *Ad Immuno* 2008; 97: 149-76.
9. Bogutska KI, Sklyarov YP, Prylutsky YI. Zinc and zinc nanoparticles: biological role and application in biomedicine. *Ukrainica Bioorganica Acta* 2013; 11(1): 9-16.
10. Osmond MJ, McCall MJ: Zinc oxide nanoparticles in modern sunscreens: an analysis of potential exposure and hazard. *Nanotoxicology* 2010; 4(1):15-41.
11. Rasmussen JW, Martinez E, Louka P, Wingett DG: Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opin Drug Deliv* 2010; 7(9):1063-77.
12. Xie Y, Wang Y, Zhang T, Ren G, Yang Z. Effects of nanoparticle zinc oxide on spatial cognition and synaptic plasticity in mice with depressive-like behaviors. *J Biomed Sci* 2012; 19:14.
13. Hanley C, Layne J, Punnoose A, Reddy KM, Coombs I, Coombs A, et al. Preferential killing of cancer cells and activated human T cells using ZnO nanoparticles. *Nanotechnology* 2008; 19(29):295103.
14. Olbert M, Gawel M, Lipkowska A, Librowski T. Nanoparticles of zinc oxide and zinc oxide in chronic administration: the influence on the anti-inflammatory and gastric activity of ketoprofen in rats. *Proceedings of the World Congress on New Technologies Barcelona, Spain* 2015; No. 357.
15. Sridevi D, Rajendran K V. Synthesis and optical characteristics of ZnO nanocrystals, *Bull Mater Sci* 2009; 32(2): 165–8.
16. Wei XL, Han YR, Quan LH, Liu CY, Liao YH. Oily nanosuspension for long-acting intramuscular delivery of curcumin didecanoate prodrug: Preparation, characterization and in vivo evaluation. *Eur J Pharmaceutical Sci* 2013; 49: 286–293.
17. Mo M, Erdelyi I, Szigeti-Buck K, Benbow JH, Ehrlich BE. Prevention of paclitaxel-induced peripheral neuropathy by lithium pretreatment. *FASEB J* 26; 2012: 4696–709.
18. Nieto FR, Cend CM, Sanchez-Fernandez C, Cobos EJ, Entrena JM, Tejada MA, et al. Role of sigma-1 receptors in paclitaxel-induced neuropathic pain in mice. *J Pain* 2012; 13(11): 1107-21.
19. Katsuyama S, Kuwahata H, Yagi T, Kishikawa Y, Komatsu T, Sakurada T, Nakamura H. Intraplantar injection of linalool reduces paclitaxel-induced acute pain in mice. *Biomed Res* 2012; 33(3): 175-81.
20. Parvathy SS, Masocha W. Matrix metalloproteinase inhibitor COL-3 prevents the development of paclitaxel-induced hyperalgesia in mice. *Med Princ Pract* 2013; 22(1): 35-41.
21. Authier N, Gillet JP, Fialip J, Eschaliere A, Coudore F. Description of a short-term Taxol-induced nociceptive neuropathy in rats. *Brain Res* 2000; 887: 239–49.
22. Scripture CD, Figg WD, Sparreboom A. Peripheral neuropathy induced by paclitaxel: recent insights

- and future perspectives. *Curr Neuropharmacol* 2006; 4(2): 165-72.
23. Liu CC, Lu N, Cui Y, Yang T, Zhao ZQ, Xin WJ, et al. Prevention of paclitaxel-induced allodynia by minocycline: Effect on loss of peripheral nerve fibers and infiltration of macrophages in rats. *Mol Pain* 2010; 6: 76.
24. Fallon MT. Neuropathic pain in cancer. *Br J Anaesth* 2013; 111(1): 105-11.
25. Kim YR, Park JI, Lee EJ, Park SH, Seong NW, Kim JH, et al. Toxicity of 100 nm zinc oxide nanoparticles: a report of 90-day repeated oral administration in Sprague Dawley rats. *Int J Nanomedicine* 2014; 9 (Suppl 2): 109-26.
26. Kesmatil M, Torabi M, Ghandizadeh-Dezfuli M. Nanoparticles of Zinc Oxide Reduces Acute Somatic Pain in Adult Female Wistar Rats. *Zahedan J Res Med Sci* 2014; 16(2): 24-8.
27. Kesmatil2 M, Torabi M, Malek Shahi Nia H, Teymuri Zamaneh H. Effect of chronic administration of zinc supplements (ZnO and nano ZnO) with and without aerobic exercise on nociception in male rats. *Physiol Pharmacol* 16 (4), 415-22.
28. Zhang J, Tuckett RP. Comparison of paclitaxel and cisplatin effects on the slowly adapting type I mechanoreceptor. *Brain Res* 2008; 1214: 50-7.
29. Dubin AE, Patapoutian A. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J Clin Invest* 2010; 120(11): 3760-72.
30. Shim KH, Hulme J, Maeng EH, Kim MK, An SS. Analysis of zinc oxide nanoparticles binding proteins in rat blood and brain homogenate. *Int J Nanomedicine* 2014; 9(Suppl 2):217-24.
31. Seil JT, Webster TJ. Decreased astroglial cell adhesion and proliferation on zinc oxide nanoparticle polyurethane composites. *Int J Nanomedicine* 2008; 3(4): 523-31.
32. Zhang H, Yoon SY, Zhang H, Dougherty PM. Evidence that spinal astrocytes but not microglia contribute to the pathogenesis of Paclitaxel-induced painful neuropathy. *J Pain* 2012; 13(3): 293-303.
33. Ji RR, Kawasaki Y, Zhuang ZY, Wen YR, Decosterd I. Possible role of spinal astrocytes in maintaining chronic pain sensitization: review of current evidence with focus on bFGF/JNK pathway. *Neuron Glia Biol* 2006; 2(4): 259-69.
34. Sruthi S, Mohanan PV. Investigation on cellular interactions of astrocytes with zinc oxide nanoparticles using rat C6 cell lines. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2015; 133: 1-11.
35. Ciubotariu D, Ghiciuc CM, Lupuşoru CE. Zinc involvement in opioid addiction and analgesia-should zinc supplementation be recommended for opioid-treated persons? *Subst Abuse Treat Prev Policy* 2015; 10: 29.
36. Killilea AN, Downing KH, Killilea DW. Zinc deficiency reduces paclitaxel efficacy in LNCaP prostate cancer cells. *Cancer Lett* 2007; 258(1): 70-9.
37. Nelson MT, Woo J, Kang HW, Vitko I, Barrett PQ, Perez-Reyes E, et al. Reducing agents sensitize C-type nociceptors by relieving high-affinity zinc inhibition of T-type calcium channels. *J Neurosci* 2007; 27(31): 8250-60.
38. Larson AA, Kitto KF. Manipulations of zinc in the spinal cord, by intrathecal injection of zinc chloride, disodium-calcium-EDTA, or dipicolinic acid, alter nociceptive activity in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282(3): 1319-25.
39. Izumi H, Mori H, Uchiyama T, Kuwazuru S, Ozima Y, Nakamura I, et al. Sensitization of nociceptive C-fibers in zinc-deficient rats. *Am J Physiol* 1995; 268(6 Pt 2): R1423-8.
40. Bráz JM, Wang X, Guan Z, Rubenstein JL, Basbaum AI. Transplant-mediated enhancement of spinal cord GABAergic inhibition reverses paclitaxel-induced mechanical and heat hypersensitivity. *Pain* 2015; 156(6): 1084

41. Takeda A, Minami A, Seki Y, Oku N. Differential effects of zinc on glutamatergic and GABAergic neurotransmitter systems in the hippocampus. *J Neurosci Res* 2004; 75(2): 225-9.
42. Torabi M, Kesmati M, Harooni HE, Varzi HN. Effects of nano and conventional zinc oxide on anxiety-like behavior in male rats. *Indian J Pharmacol* 2013; 45(5): 508-12.
43. Westbrook GL, Mayer ML. Micromolar concentrations of Zn<sup>2+</sup> antagonize NMDA and GABA responses of hippocampal neurons. *Nature* 1987; 328(1631): 640-3.
44. Nozaki C, Filliol D, Ouagazzal A.M, Le Goff A, Carvalho S, Reiss D, et al. Zinc alleviates pain through high-affinity binding to the NMDA receptor NR2A subunit. *Nat Neurosci* 2011; 14(8): 1017-22.
45. Mony L, Kew J.N, Gunthorpe M.J, Paoletti P. Allosteric modulators of NR2B-containing NMDA receptors: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Br J Pharmacol* 2009; 157(8): 1301-17.
46. Wang Z, Li J.Y, Dahlstrom A, Danscher G. Zinc-enriched GABAergic terminals in mouse spinal cord. *Brain Res* 2001 921(1-2), 165-72.
47. Takeda A, Minami A, Seki Y, Oku N. Differential effects of zinc on glutamatergic and GABAergic neurotransmitter systems in the hippocampus. *J Neurosci Res* 2004;75(2):225-9.
48. Yan X, Maixner DW, Yadav R, Gao M, Li P, Bartlett MG, et al. Paclitaxel induces acute pain via directly activating toll like receptor 4. *Mol Pain* 2015; 11:10.

## EFFECT OF ADMINISTRATION OF NANO-ZINC OXIDE ON THERMAL HYPERALGESIA INDUCED BY ACUTE AND CHRONIC TREATMENT OF PACLITAXEL IN MICE

Zahra Karami<sup>\*1</sup>, Majid Hassanpou-Ezatti<sup>2</sup>

Received: 16 Sep, 2017; Accepted: 17 Nov, 2017

### Abstract

**Background & Aims:** Multiple evidences available about zinc oxide nanoparticles (nano-ZnO) ameliorative effects on neuroinflammation that worked in contrast to mechanisms activate with paclitaxel. In this study, effect of local and intraperitoneal application of nano-ZnO on paclitaxel-induced acute and chronic thermal hyperalgesia in mice was evaluated.

**Materials & Methods:** Adult male mice (35-40 g) were divided into acute and chronic studies categories. Acute groups received paclitaxel (20 mg/kg, single dose, i.p.) and nano-ZnO (100 and 500 µg, intraplantar) with paclitaxel and Chronic groups received nano-ZnO (0.1, 1, 10, mg/kg, i.p.) and (4.5 mg/kg, i.p.) for 4 days. The control group received paclitaxel (4.5 mg/kg, i.p.) for 4 days. Paw withdrawal latency from hot (46°C) and cold (2-3°C) water was evaluated after each treatment.

**Results:** Paclitaxel caused hot and cold thermal hyperalgesia in chronic regimen but only induced hot thermal hyperalgesia in acute treatment regimen. In mice, treatment with nano-ZnO significantly and dose-dependently suppressed cold and hot hyperalgesia induced by chronic paclitaxel treatment and also reduced hot thermal hyperalgesia in acute paclitaxel treated.

**Conclusion:** The results indicate that nano-ZnO can reduce hot thermal neuropathic hyperalgesia induced by acute and chronic models of paclitaxel hyperalgesia. The efficacy of nano-ZnO treatment on acute and chronic models of paclitaxel-induced painful thermal hyperalgesia can provide useful evidence for further exploring in clinical researches on it.

**Keywords:** Nanoparticles, Zinc oxide, Paclitaxel, Hyperalgesia, Mice

**Address:** Physiology Department, Shahed University, Tehran, Iran

**Tel:** +982144105073

**Email:** tanhasetareyeshab@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2018; 28(10): 600 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> MSc in Physiology, Physiology Department, Shahed University, Tehran, Iran (Corresponding Author)

<sup>2</sup> Assistant Professor, Physiology Department, Shahed University, Tehran, Iran