

مقاله های پژوهشی

- ۹۷۲ شناسایی یوبیکوئیتین D از بافت های پارافینه، در بیماران مبتلا به سرطان روده ی بزرگ
امیر ایزدی، دکتر الهام مسلمی، دکتر سید محمد پورحسینی، دکتر وحید رضا یاسایی، دکتر حمیدرضا خیری منجیلی، حمیدرضا الیکایی
- ۹۸۲ تأثیر استراتژی ها و عوامل کمورادیوتراپی بر بقای پنج ساله ی بیماران مبتلا به سرطان مری
دکتر سید کاظم میری نژاد، دکتر محمد حسین صومی، دکتر فرشاد سیدنژاد، دکتر امیر قاسمی جنگجو، دکتر مرتضی قوجازاده، دکتر محمد محمدزاده، دکتر علیرضا ناصری، دکتر بهنام نصیری، دکتر شهناز نقاشی
- ارزیابی اثرات پیشگیرانه ی مخمر غنی شده با سلنیوم بر بافت شناسی کبد و فعالیت آنزیم های آن پس از القای سرطان کولورکتال در رت
جمیله عابدی، دکتر امیر توکمه چی، دکتر وحید نجاتی، دکتر رحیم حب نقی
- بررسی کمی اثر رفع انقباضی فراکسیون های حاصل از عصاره ی گیاه Pycnocyclus spinosa Decne Ex. Boiss با استفاده از روش Bioassay بر انقباضات ایلئوم رت
دکتر حسن صدرایی، دکتر مصطفی قنادیان، دکتر غلامرضا اصغری، مسعود جاهد

مقاله کوتاه

- ۱۰۱۰ ارتباط میان سطح سرمی منیزیم و پروفایل چربی در بیماران تحت دیالیز صفاقی و همودیالیز
دکتر هوشنگ سنگ گل، دکتر دادخدا اله صوفی، دکتر حمید نصری

Original Articles

- Identifying Ubiquitin D in Paraffin-Embedded Tissues in Patients with Colorectal Cancer 981
Amir Izadi MSc, Elham Moslemi PhD, Seyed Mohammad Poorhosseini MD, PhD, Vahid Reza Yassaee PhD, Hamid Reza Kheiri PhD, Hamid Reza Elikai MSc
- Influence of Chemoradiotherapy Strategies and Factors on the Five-Years Survival of Patients with Esophageal Cancer 990
Seyed Kazem Mirinezhad MD, Mohammad Hossein Somi MD, Farshad Seyednezhad MD, Amir Ghasemi Jangjoo, Morteza Ghojzadeh PhD, Mohammad Mohammadzadeh, Ali Reza Naseri, Behnam Naseri, Shahnaz Naghashi MD
- Preventive Impacts of Selenium-Enriched Yeast on Liver and Enzyme Activity after Inducing Colorectal Cancer in Rat 1003
Jamileh Abedi, Amir Tukmechi PhD, Vahid Nejati PhD, Rahim Hobbenaghi PhD
- Bioassay Guided Fractionation of the Effect of Pycnocyclus Spinosa Extract on Contraction of Rat Ileum ... 1009
Hasan Sadraei PhD, Mostafa Ghanadian PhD, Gholamreza Asghari PhD, Masoud Jahed
- Short Communication
- Correlation of Serum Magnesium and Blood Lipid Profile in Under-Peritoneal Dialysis and Hemodialysis Patients 1017
Houshang Sanadsog MD, Dad-khoda Allah-Soufi MD, Hamid Nasri MD



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۲۹۱)، هفته چهارم مرداد ۱۳۹۳

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

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

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

امور نشر:
(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)
شرکت فرزانتگان راداندیش
اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵
تلفن و دورنگار: ۰۳۱۱-۶۶۸۶۳۰۲
f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
تیراژ: ۵۰۰ نسخه

ناشر:
انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
E-mail: publications@mui.ac.ir
دفتر مجله: دانشکده پزشکی
صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶
مسؤول دفتر: گلناز رجبی
تلفن: ۰۳۱۱-۶۶۹۴۷۳۷
دورنگار: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۲۹۱
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
وب سایت مجله: http://www.journals.mui.ac.ir/jims

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

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

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

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

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

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

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

(EN): Inzer N. Treatment of calcific aortic stenosis. Am J Cardiol 1987; 59(6): 314-7.

(FA): Zini F, Basiri Jahromi Sh. Study of fungal infections in patients with leukemia. Iranian journal of public health 1994; 1(4):89-103.[Persian].

(چنانچه تعداد نویسندگان ۶ نفر یا کمتر باشد، ذکر اسامی آن‌ها ضروری است. اگر تعداد آن‌ها ۷ نفر یا بیشتر باشد، پس از ۶ نفر، عبارت "et al." استفاده شود.)

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

نام خانوادگی و حرف اول نام کوچک نویسنده (نویسندگان). عنوان کتاب. نوبت چاپ. محل نشر؛ ناشر؛ سال انتشار. p. شماره صفحات (نام نویسندگان با علامت کاما از هم جدا شود). مثال:

(EN): Romenes GJ. Cunningham's manual. 15th ed. New York: Oxford Univ Press; 1987.p.43-5.

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

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

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

۱۵- **نمونه‌خوانی (Proofreading):** یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤوّل ارسال می‌گردد که لازم است در کوتاه‌ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وبسایت مجله ارسال نماید.

۱۶- **اختصارات و نشانه‌ها:** تنها از اختصارات و نشانه‌های استاندارد استفاده شود و از ذکر عبارات‌های مخفف در عنوان و خلاصه مقاله خودداری گردد.

۱۷- توضیح کامل در مورد هر کدام از عبارات‌های اختصاری برای اولین بار در متن آورده شود، مگر این که مربوط به مقیاس‌ها و مقادیر استاندارد شناخته شده باشد.

۱۸- پس از چاپ، یک نسخه از مجله برای نویسنده مسؤوّل ارسال خواهد شد.

- ۱۹- **ملاحظات اخلاقی:** این ملاحظات باید در بخش روش‌ها اشاره گردند. اخذ رضایت‌نامه از کلیه‌ی افراد بالغ شرکت‌کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأییدکننده‌ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.
- ۲۰- **تداخل منافع (Conflict of Interest):** نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق‌الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه‌ها، سازمان‌ها، نهادها، شرکت‌ها و سایر منابع که انتشار یافته‌های مطالعه می‌تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.
- ۲۱- **هزینه چاپ:** هیچ‌گونه هزینه‌ای برای چاپ مقالات در این مجله دریافت نمی‌شود.
- ۲۲- **حق نسخه‌برداری (Copyright):** تمامی محتویات مجله دانشکده پزشکی اصفهان تحت قانون حق نسخه‌برداری بین‌المللی قرار دارد. این مجله برای استفاده غیر تجاری در اختیار افراد قرار می‌گیرد. اصلاح، انتشار، انتقال و نمایش هر گونه محتویات مجله بدون ذکر نام این مجله ممنوع است.
- ۲۳- **فرآیند مرور دقیق (Peer Review):** تمام دست‌نوشته‌ها توسط حداقل ۳ نفر از داوران منتخب شورای نویسندگان مجله مورد بررسی دقیق قرار می‌گیرد. نویسنده‌ی مسؤؤل در کوتاه‌ترین زمان در جریان تصمیم‌سردبیر در مورد رد، قبول یا اصلاحات مورد نظر داوران و هیأت تحریریه قرار خواهد گرفت. در صورت پذیرش مقاله برای چاپ، نامه پذیرش به همراه ایمیل برای نویسنده‌ی مسؤؤل ارسال می‌شود و مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت.
- ۲۴- هیأت تحریریه در رد، اصلاح، ویرایش و خلاصه کردن مقاله آزاد است.
- ۲۵- مسؤولیت صحت یا سقم مطالب ارائه شده در مقاله بر عهده‌ی نویسنده یا نویسندگان است.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

۹۷۲..... شناسایی یوبیکوئیتین D از بافت‌های پارافینه، در بیماران مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ.....
امیر ایزدی، دکتر الهام مسلمی، دکتر سید محمد پورحسینی، دکتر وحید رضا یاسایی، دکتر حمیدرضا خیری منجیلی، حمیدرضا الیکایی

۹۸۲..... تأثیر استراتژی‌ها و عوامل کمورادیوتراپی بر بقای پنج‌ساله‌ی بیماران مبتلا به سرطان مری.....
دکتر سید کاظم میری‌نژاد، دکتر محمد حسین صومی، دکتر فرشاد سیدنژاد، دکتر امیر قاسمی جنگجو، دکتر مرتضی قوجازاده، دکتر محمد محمدزاده، دکتر علیرضا ناصری، دکتر بهنام نصیری، دکتر شهناز نقاشی

۹۹۱..... ارزیابی اثرات پیشگیرانه‌ی مخمر غنی شده با سلنیوم بر بافت‌شناسی کبد و فعالیت آنزیم‌های آن پس از القای سرطان کولورکتال در رت.....
جمیله عابدی، دکتر امیر توکمه‌چی، دکتر وحید نجاتی، دکتر رحیم حب نقی

بررسی کمی اثر رفع انقباضی فراکسیون‌های حاصل از عصاره‌ی گیاه *Pycnocycla spinosa* Decne Ex. Boiss بر انقباضات ایلئوم رت
با استفاده از روش **Bioassay**.....
۱۰۰۴.....
دکتر حسن صدراپی، دکتر مصطفی قنادیان، دکتر غلامرضا اصغری، مسعود جاهد

مقاله کوتاه

۱۰۱۰..... ارتباط میان سطح سرمی منیزیم و پروفایل چربی در بیماران تحت دیالیز صفاقی و همودیالیز.....
دکتر هوشنگ سنگدل، دکتر دادخدا اله صوفی، دکتر حمید نصری

شناسایی یوبیکوئیتین D از بافت‌های پارافینه، در بیماران مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ

امیر ایزدی^۱، دکتر الهام مسلمی^۲، دکتر سید محمد پورحسینی^۳، دکتر وحید رضا یاسایی^۴،
دکتر حمیدرضا خیری منجیلی^۵، حمیدرضا الیکایی^۶

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سرطان روده یکی علل مهم مرگ و میر ناشی از سرطان است. یوبیکوئیتین (Ubiquitin D یا UBD) و پروتئین‌های شبه یوبیکوئیتین، ناقلا ن سیگنال رسانی هستند که چندین عملکرد سلولی دارند و ترمیم DNA را کنترل می‌کنند. همچنین افزایش UBD با بیان p53 مرتبط است؛ به طوری که در بسیاری موارد، باعث تسریع پیشرفت سرطان می‌شود. هدف از این مطالعه شناسایی یوبیکوئیتین D به عنوان یک نشانگر جهت تشخیص اولیه‌ی سرطان روده‌ی بزرگ و همچنین بررسی پیشرفت بیماری در افراد مبتلا به بیماری می‌باشد.

روش‌ها: ۳۰ نمونه‌ی بلوک پارافینه‌ی بافت افراد مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ و ۱۰ نمونه‌ی بافت سالم، پس از استخراج RNA (Ribonucleic acid) و سنتز cDNA (Complementary DNA) مطابق دستورالعمل کیت‌های مورد استفاده، آزمایش RT-PCR (Reverse transcription-Polymerase chain reaction) جهت شناسایی ژن UBD و ژن بتا اکتین (β -actin) به عنوان شاهد داخلی بهینه گردید.

یافته‌ها: محصول RT-PCR ژن UBD، ۳۹۵ جفت باز و آمپلیکون تکثیر یافته از ژن β -actin ۳۵۰ جفت باز اندازه شد. آزمایش RT-PCR ژن بتا اکتین در تمامی نمونه‌ها مثبت شد. از ۳۰ نمونه بلوک تهیه شده از افراد مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ، در ۱۸ نمونه (۹۵ درصد) آزمایش RT-PCR در مردان و در ۱۱ نمونه (۱۰۰ درصد) در زنان پاسخ مثبت داشتند که فقط ۱ نمونه (۵ درصد) در مردان منفی گزارش شد و مابقی نمونه‌ها مثبت بودند.

نتیجه‌گیری: UBD نقش مهم و مؤثری در تشخیص سرطان روده‌ی بزرگ به عنوان یک نشانگر مؤثر، مستقل از مرحله‌ی تومور، بر عهده دارد و بررسی آن در شناسایی و تشخیص مراحل اولیه‌ی بیماری مهم و مؤثر است. نتایج نشان داد که در افراد بیمار ۹۷ درصد UBD بیان می‌شود و در افراد سالم این عدد به ۵ درصد کاهش می‌یابد.

واژگان کلیدی: Ubiquitin D، سرطان روده‌ی بزرگ، Reverse transcription-Polymerase chain reaction

ارجاع: ایزدی امیر، مسلمی الهام، پورحسینی سید محمد، یاسایی وحید رضا، خیری منجیلی حمیدرضا، الیکایی حمیدرضا. شناسایی یوبیکوئیتین D از بافت‌های پارافینه، در بیماران مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۱): ۹۷۲-۹۸۱

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق، تهران، ایران

۳- گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- دانشیار، مرکز تحقیقات ژنومی، دانشکده علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵- استادیار، گروه نانوفناوری دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان و مؤسسه‌ی تحقیقاتی بانز اکسیر، تهران، ایران

۶- بخش هماتولوژی-ایمونولوژی، آزمایشگاه پاتوبیولوژی، بیمارستان سجاد و مؤسسه‌ی تحقیقاتی بانز اکسیر، تهران، ایران

مقدمه

سرطان روده یکی از دلایل عمده‌ی مرگ و میر ناشی از سرطان بوده است (۱-۲) و پس از سرطان‌های پستان، پروستات و ریه شایع‌ترین سرطان در دنیا می‌باشد (۳). این بیماری در ایران و همچنین سایر کشورهای جهان، سالانه از لحاظ اقتصادی آسیب‌های بسیار زیادی را وارد می‌کند. میزان سرطان در ۲۰ سال گذشته افزایش چشم‌گیری داشته است که این مطلب ناشی از تغییرات محیط، شیوه‌ی زندگی و نیز عادات غذایی می‌باشد (۴).

در ایران سالانه ۵۰۰۰ مورد جدید ابتلا به سرطان روده بزرگ (۷ در ۱۰۰۰۰) گزارش می‌شود. بر اساس آمار منتشر شده توسط وزارت بهداشت ایران، در سال ۱۳۸۴، حدود ۱۱۳۰ نفر شامل ۴۵۰ زن و ۶۸۰ مرد به علت این سرطان فوت نمودند (۵). در برخی مناطق جهان سرطان روده به دومین دلیل مرگ و میر تبدیل شده است (۶). بنابراین سرطان روده بزرگ، مشکلی مهم و جدی برای سلامت عمومی جامعه به حساب می‌آید. این سرطان به دو نوع ارثی و غیر ارثی تقسیم می‌شود. نوع ارثی نیز خود به دو نوع HNPCC (Hereditary nonpolyposis colorectal cancer) و FAP (Familial adenomatous polyposis) تقسیم می‌شود. به طور تقریبی ۸۰ درصد موارد غیر ارثی می‌باشند و ۲۰ درصد باقی‌مانده ارثی هستند، که از این میان ۱۰-۵ درصد مربوط به HNPCC می‌شود (۷).

در حال حاضر، برای درمان سرطان روده بزرگ به طور گسترده از جراحی استفاده می‌شود که این امر در مرحله‌ای از بیماری است که تومور سرطانی، رشد زیادی داشته است (۸). بنابراین نتایج بالینی که در بیماران تشخیص داده می‌شود، در مرحله‌ی تومورزایی قرار دارد (۹). بدیهی است که یک روش جدید جهت

تشخیص سریع‌تر بیماری و حتی قبل از عود کردن بیماری امری ضروری به نظر می‌رسد. در طی ۱۰ سال گذشته، تعداد زیادی انکوژن و ژن‌های سرکوب‌کننده‌ی تومور برای هر کدام از مراحل ایجاد کننده‌ی مسیر ژنتیکی سرطان کلون شناخته شده است. اگر چه این مطلب بیانگر آن است که موتاسیون به ترتیب خاصی اتفاق می‌افتد، اما تجمع موتاسیون‌ها به مراتب با اهمیت‌تر از ترتیب آن‌ها می‌باشد (۱۱-۱۰).

مطالعات نشان داده است که میزان یوبیکوئیتین D (UBD یا Ubiquitin D) که همچنین به عنوان FAT۱۰ نیز شناخته می‌شود، در سلول‌های سرطانی افزایش می‌یابد. UBD اولین بار در بافت رتیکولو اندوتلیال و سیستم لنفوئیدی مخاطی به عنوان یکی از ژن‌های لوکوس (Major histocompatibility complex) MHC کلاس I واقع در کروموزوم ۶ انسان شناخته شد (۱۲-۱۴). UBD نقش مهمی در تخریب پروتئین‌های مختلف بر عهده دارد، از جمله در تمایز سلولی، تنظیم چرخه‌ی سلولی، امبریوزیز، آپوپتوزیز، انتقال پیام، ترمیم DNA، انتقال عرض سلولی، پاسخ به استرس و پاسخ ایمنی؛ که تمامی این اعمال، به وسیله‌ی تخریب پروتئین‌ها انجام نمی‌شوند. نشانگرهای مولکولی مختلفی مانند p۵۳، K-Ras و DPC۴ در پیش‌بینی وجود سرطان روده بزرگ نقش دارند (۱۵، ۷).

تحقیقات نشان داده است میزان بیان UBD در ایجاد توده‌ی سرطانی مؤثر است (۱۶-۱۷). کاهش بیان UBD منجر به القای غیر طبیعی آپوپتوزیز، تقسیم سلولی و یا ناپایداری کروموزومی می‌شود که با تغییرات نئوپلازی همراه است. از طرف دیگر، افزایش بیان UBD در سرطان‌های کبد، سرویکس،

رعایت عوامل یکسان برای نمونه‌ها و ۱۰ نمونه از افراد سالم با شرایط مشابه جهت برش‌گیری، انتخاب و جمع‌آوری گردید. نمونه‌های تهیه شده مربوط به سال ۱۳۹۰ و افراد انتخاب شده از نظر سنی در طیف ۸۸-۳۰ ساله قرار داشتند. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری به آزمایشگاه انتقال داده شد و مراحل استخراج بلافاصله بر روی آن‌ها انجام گردید. همچنین نمونه‌ها برای نگهداری در زمان طولانی‌تر در یخچال با دمای 4°C درجه قرار گرفت و برای تأیید صحت روش نگهداری نمونه‌ها، پس از ۲ و ۶ ماه بعد، دوباره مورد استخراج RNA قرار گرفتند و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر میزان RNA به دست آمده مقایسه شد که تغییر زیادی در میزان RNA بین دو نمونه بعد از استخراج مشاهده نگردید.

استخراج RNA از بافت پارافینه: برای استخراج RNA از بافت پارافینه، ابتدا توسط دستگاه میکروتوم ۵-۶ برش با اندازه‌ی $10\mu\text{m}$ از بافت تهیه و در میکروتیوب $1/5\text{ ml}$ قرار داده شد. جهت پارافین‌زدایی 1 ml گزیزولوز به نمونه افزوده شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای 56°C انکوبه گردید. سپس به مدت ۵ دقیقه در دور 13000 rpm سانتریفوژ شد. مایع رویی دور ریخته شد و سپس به بافت ته نشین شده، 1 ml اتانول مطلق افزوده و چند بار وارونه گردید. لوله به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس به مدت ۵ دقیقه در 13000 rpm سانتریفوژ شد. بعد مایع رویی دور ریخته شد و پلت باقی مانده در دمای اتاق قرار گرفت تا خشک شود. این کار دوباره تکرار گردید تا پارافین به طور کامل از بافت، حذف و بافت تمیز و یکنواختی به دست آید.

تخمندان، پانکراس، معده و روده دیده شده است، اما در سرطان‌های کلیه، پروستات و تیروئید دیده نشده است. افزایش بیان UBD در سرطان معده با متاستاز همراه است و سطح mRNA (Messenger RNA) یوبیکوئیتین D و همچنین پروتئین آن به عنوان یک عامل غیر وابسته در بیماری شناخته شده است (۱۸). افزایش UBD با بیان p۵۳ مرتبط است که منجر به بیان UBD به طور غیر مستقیم و به دنبال آن تسریع پیشرفت سرطان معده می‌شود (۴، ۱۸). ارتباط بین بیان UBD با تمایز سلولی و مراحل پیشرفته‌ی تومور، بیانگر دخالت احتمالی UBD در پیشرفت کارسینوزن است.

به طور کلی، به نظر می‌رسد UBD به عنوان یک شاخص مهم در پیش‌بینی، تشخیص، بررسی پیشرفت سرطان روده و همچنین به عنوان یک عامل آگاهی دهنده‌ی عود مجدد، در بیماران مراحل II و III به دنبال جراحی عمل می‌کند. تا کنون، مطالعه‌ای در زمینه‌ی بررسی اهمیت بالینی و ارزشیابی نقش پیش‌آگهی دهنده‌ی UBD در سرطان روده بزرگ گزارش نشده است و تحقیقات بسیار کمی در این زمینه در دنیا صورت گرفته است. هدف از این مطالعه، شناسایی UBD به عنوان یک نشانگر زیستی جهت تشخیص اولیه در افراد مبتلا به سرطان روده توسط تکنیک RT-PCR (Reverse transcription-Polymerase chain reaction) بود. همچنین وجود و عدم وجود UBD در افراد مبتلا به سرطان روده مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

جمع‌آوری و نگهداری نمونه‌ها: در این مطالعه، ۳۰ نمونه بلوک پارافینه‌ی بافت افراد مبتلا به سرطان روده، پس از بررسی توسط متخصص پاتولوژی و

(Diethylpyrocarbonate) حل و در فریزر 80°C - نگهداری گردید.

سنتز cDNA (Complementary DNA): برای سنتز cDNA از کیت vivantis (2-steps RT-PCR Kit) استفاده شد. مراحل کار مطابق دستورالعمل کیت انجام شد. ابتدا مقدار $10\ \mu\text{l}$ RNA، به همراه $1\ \mu\text{l}$ از $10\ \text{mM}$ dNTP (deoxyribonucleotide) و $1\ \mu\text{l}$ Random hexamer مخلوط گردید. سپس به مدت ۵ دقیقه در 65°C قرار داده شد. مقدار $2\ \mu\text{l}$ از $2\ \text{X}$ MMULV و $10\ \mu\text{l}$ و 0.5 آنزیم (Moloney murine leukemia virus) M-MLV به هر واکنش اضافه شد و در نهایت با اضافه کردن آب، حجم نهایی به $20\ \mu\text{l}$ رسید. لوله‌ی نهایی به مدت ۱ ساعت در دمای 42°C انکوبه گردید.

پرایمرهای ویژه‌ی RT-PCR: توالی ژن β -actin که به عنوان شاهد داخلی مورد استفاده قرار گرفت و همچنین UBD از سایت NCBI (National Center for Biotechnology Information) به دست آمد و توسط برنامه‌ی Primer express پرایمرهای اختصاصی آن‌ها طراحی گردید. پرایمرها توسط NCBI و Gene Runner نیز (Basic local alignment search tool) شدند تا دقت و تخصصی بودن آن‌ها به طور کامل مورد ارزیابی قرار گیرد. توالی پرایمرها در جدول ۱ آمده است.

خرد کردن و هضم بافت: در این مرحله، ابتدا $100\ \mu\text{l}$ بافر هضم کننده (سیناژن-ایران) به تیوب محتوای بافت افزوده شد، سپس $20\ \mu\text{l}$ پروتیناز K (سیناژن-ایران $20\ \text{mg/ml}$) به این مخلوط افزوده شد و لوله به مدت ۱۵ دقیقه در دمای 56°C قرار گرفت و به دنبال آن، ۱۵ دقیقه در 80°C انکوبه گردید. سپس به مدت ۵ دقیقه در $8000\ \text{rpm}$ سانتریفوژ شد. مایع رویی به لوله‌ی جدید منتقل گردید.

استخراج RNA به کمک محلول RNX Plus (سینا کلون، ایران): مقدار $1000\ \mu\text{l}$ از محلول RNX به لوله‌ی جدید اضافه شد و سپس به مدت ۵ ثانیه ورتکس گردید. لوله به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. $200\ \mu\text{l}$ کلروفورم افزوده شد، ۱۵ ثانیه ورتکس گردید و سپس به مدت ۵ دقیقه روی یخ انکوبه، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در $15000\ \text{rpm}$ سانتریفوژ گردید. فاز رویی به لوله‌ی جدید انتقال داده شد و هم حجم آن ایزوپروپانول افزوده شد و سپس ۱۰ بار لوله وارونه گردید. لوله به مدت ۶ ساعت در 20°C نگهداری شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در $13000\ \text{rpm}$ سانتریفوژ شد و مایع رویی به آرامی و با وارونه کردن، تخلیه شد. به پلت حاصل، $1\ \text{ml}$ اتانول 75 درجه اضافه و 10 مرتبه وارونه گردید. دوباره به مدت ۸ دقیقه در $7500\ \text{rpm}$ سانتریفوژ شد. مایع رویی تخلیه شد و پس از خشک شدن پلت، رسوب در $50\ \mu\text{l}$ آب DEPC

جدول ۱. توالی پرایمرهای به کار رفته در RT-PCR (Reverse transcription-Polymerase chain reaction)

نام پرایمر	توالی	وزن مولکولی
UBD F	AATGCTTCCTGCCTCTGTGT	۳۳۹ bp
UBD R	TTTCACTTGTGCCACTGAGC	
β -actin F	AGAAAATCTGGCACCCACACC	۳۹۵ bp
β -actin R	CTCCTTAATGTACGCACGA	

UBD: Ubiquitin D

به حساب می‌آید. محصول RT-PCR به دست آمده از این ژن نیز ۳۹۵ جفت باز طول داشت.

مقایسه‌ی نتایج یوبیکوئیتین D در نمونه‌های طبیعی و نمونه‌های افراد مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ: نتایج آزمایش RT-PCR برای ژن β -actin به عنوان شاهد داخلی در تمامی آزمایش‌ها مثبت دیده شد که این مطلب نشان دهنده‌ی صحت و دقت روش استخراج RNA مورد استفاده و همچنین تأیید سنتز cDNA وجود mRNA در این نمونه‌ها می‌باشد.

در این مطالعه، ۳۰ نمونه‌ی بافت سرطانی و ۱۰ نمونه‌ی بافت سالم مورد مطالعه قرار گرفتند. از کل نمونه‌های مربوط به بیماران ۶۳ درصد از نمونه‌ها را مردان و ۳۷ درصد را زنان تشکیل دادند. از ۱۰ نمونه بلوک تهیه شده از افراد طبیعی، پاسخ آزمایش RT-PCR در تمام نمونه‌ها، منفی ارزیابی شد و از ۳۰ نمونه بلوک تهیه شده از افراد مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ، در ۱۸ نمونه (۹۵ درصد) آزمایش RT-PCR در مردان و در ۱۱ نمونه (۱۰۰ درصد) در زنان نیز پاسخ مثبت داشتند. از این تعداد، فقط ۱ نمونه (۵ درصد) در مردان منفی بود و هیچ نمونه‌ای در زنان منفی گزارش نشد.

همچنین با بررسی گروه‌های سنی در مردان و زنان، می‌توان به این امر اشاره داشت که سن سرطان در مردان نسبت به زنان کمتر است. نتایج در نمونه‌های مورد نظر در جدول ۲ و شکل‌های ۱ و ۲ آمده است. محصول RT-PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی TBE ۰/۵ X الکتروفورز گردید. شکل ۱ نتایج الکتروفورز محصول PCR رنگ‌آمیزی شده با سایبر گرین از نمونه‌ها را نشان می‌دهد.

مواد لازم جهت انجام آزمایش RT-PCR: هر واکنش شامل ۲ μ l cDNA الگو (cDNA ساخته شده)، ۲/۵ μ l از ۱۰ X PCR buffer، ۱ μ l از هر یک از دو پرایمر جلویی و عقبی ۱۰ mM، ۰/۷۵ μ l از ۱۰ mM dNTP، ۰/۵ μ l از ۵۰ mM MgCl_۲ (dATP، dCTP، dGTP و dTTP) و ۰/۴ μ l از ۵ u/ μ l Taq DNA polymerase بود و واکنش در حجم نهایی ۲۵ μ l تهیه شد. پروتکل دمایی به صورت دانتوراسیون در دمای ۹۵ °C به مدت ۳ دقیقه به دنبال آن ۳۵ سیکل، به صورت دانتوراسیون در دمای ۹۵ °C به مدت ۳۰ ثانیه، چسبیدن در دمای ۶۱ °C به مدت ۳۰ ثانیه، پلیمریزاسیون در دمای ۷۲ °C به مدت ۵۰ ثانیه و در نهایت پلیمریزاسیون نهایی در دمای ۷۲ °C به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

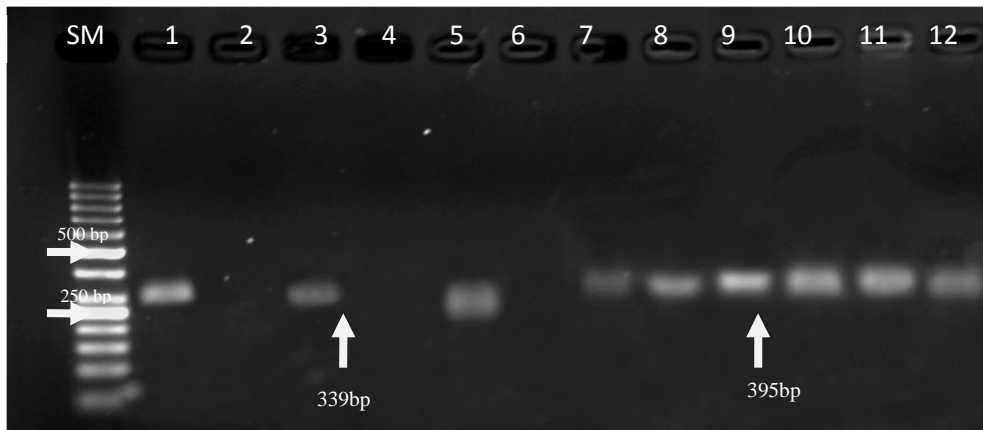
یافته‌ها

نتیجه‌ی بهینه‌سازی آزمایش RT-PCR برای ژن‌های UBD و β -actin: پس از بهینه‌سازی آزمایش RT-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، ژن آمپلیکون تکثیر یافته در کنار نمونه‌ی شاهد منفی و اندازه‌ی نشانگر بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی سایبر گرین (سیناژن-ایران) در بافر TBE (Tris/Borate/EDTA) ۰/۵ X الکتروفورز گردید. مشاهده می‌شود باند حاصل از محصول RT-PCR برای ژن یوبیکوئیتین D ۳۳۹ جفت باز طول داشت.

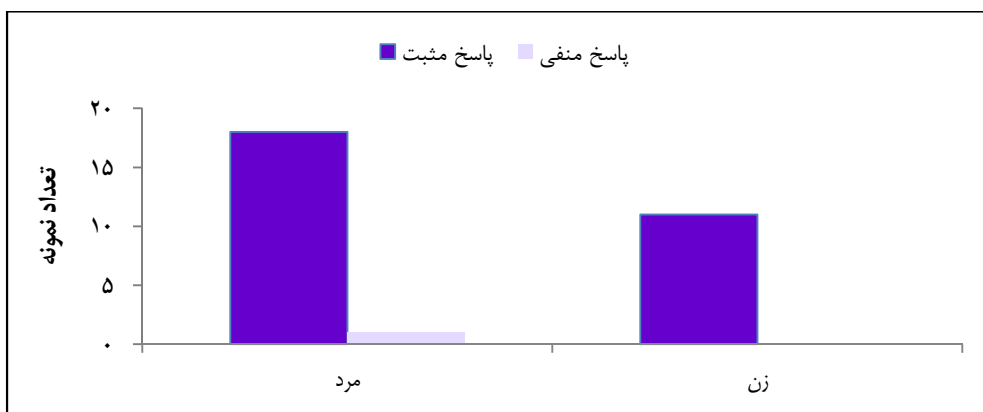
در این مطالعه از ژن β -actin به عنوان شاهد داخلی استفاده شد. از آن جایی که این ژن جزء ژن‌هایی است که بیان دائمی در سلول دارند، از این رو هدف مناسبی جهت بررسی به عنوان شاهد داخلی

جدول ۲. نتایج و شرایط نمونه‌های بیمار و سالم

گروه سنی	مرحله‌ی بیماری	پاسخ منفی بیماران تعداد (درصد)	پاسخ مثبت بیماران تعداد (درصد)	نمونه‌های بیمار تعداد (درصد)	نمونه‌های سالم تعداد (درصد)	جنسیت
۳۰-۸۰	I-IV	۱ (۵)	۱۸ (۹۵)	۱۹ (۶۳)	۷ (۷۰)	مرد
۴۲-۸۸	I-IV	۰ (۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۳۷)	۳ (۳۰)	زن



شکل ۱. SM نشانگر مولکولی ۵۰ bp DNA Ladder. (۶-۱) محصول RT-PCR (Reverse transcription-) Ubiquitin D (UBD) ژن (Polymerase chain reaction) در نمونه‌های بیمار، (۷-۱۲) محصول RT-PCR ژن β -actin (شاهد داخلی)



شکل ۲. نتایج بررسی Ubiquitin D (UBD) در نمونه‌های بیمار

بیماری مبتلا و بیش از ۵۵۰۰۰ از بین می‌روند (۸). در ایران نیز سالانه تعداد زیادی در اثر ابتلا به این بیماری جان خود را از دست می‌دهند. در طی ۱۰ سال گذشته، تعداد زیادی انکوژن و ژن‌های سرکوب کننده‌ی تومور برای هر کدام از مراحل ایجاد

بحث

سرطان روده چهارمین سرطان شایع در دنیا با برآورد ۷۸۳۰۰۰ مورد جدید در سال می‌باشد (۱). سرطان کولون علت اصلی مرگ و میر در ایالات متحده است. سالانه بیش از ۱۳۵۰۰۰ نفر در امریکا به این

کننده‌ی مسیر ژنتیکی سرطان کلون شناخته شده است. مطالعات نشان می‌دهد که UBD نقش مهمی در تنظیم تقسیم هسته‌ی سلول، بی‌ثباتی کروموزوم و همچنین آپوپتوز و پاسخ ایمنی بر عهده دارد (۱۹، ۱۴-۱۲).

ارتباط بین بیان UBD و تکثیر سلولی با پیشرفت مراحل تومور نشان دهنده‌ی آن است که ژن UBD ممکن است در پیشرفت سرطان مؤثر باشد. افزایش بیان UBD در سلول‌های سرطانی کبد و همچنین دستگاه گوارش گزارش شده است (۱۶). به علاوه، افزایش میزان بیان mRNA و UBD نیز در فیروبلاست و سرطان کبد نیز تأیید شده است (۱۷، ۱۳).

در این مطالعه، برای اولین بار mRNA ژن UBD در نمونه‌های پارافینه‌ی بافت روده‌ی بزرگ شناسایی شد. بلوک‌های پارافینه منبع اطلاعات ارزنده‌ای را در بخش پاتولوژی بیمارستان‌ها برای انجام مطالعات گسترده، فراهم می‌نمایند.

Yan و همکاران میزان پروتئین UBD در بافت افراد مبتلا به سرطان روده را با کمک تکنیک‌های qPCR و Tissue microarray (TMA)، و سترن بلات و رنگ‌آمیزی ایمونو هیستوشیمی مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد که افزایش میزان سیتوپلاسمی UBD به طور مستقیم به مراحل بیماری و ایجاد متاستاز بستگی دارد. آن‌ها همچنین بیان نمودند که میزان طول عمر در افراد مبتلا به سرطان روده با UBD منفی به مراتب بیشتر از افراد UBD مثبت می‌باشد (۲۰).

نتایج مطالعه‌ی Ren و همکاران نشان داد که میزان بیان FAT۱۰ از طریق گیرنده‌ی TNF (TNFR۱) یا NF- κ B (Tumor necrosis factor receptor

در مطالعه‌ی فان، افزایش بیان FAT۱۰ در سلول‌های کارسینومای کولون نسبت به سلول‌های مخاط طبیعی کولون با استفاده از ریز تشریح لیزری و ریز آرایه‌های cDNA به اثبات رسید. نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد که بیان FAT۱۰ در مکانیسم پیشرفت از پولیپ‌های خوش‌خیم به کارسینومای تهاجمی نقش مؤثری دارد (۲۳). Oliva و همکاران مهار افزایش بیان UBD توسط TNF- α و INF γ (Interferon-gamma) را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها بیان نمودند که درمان همراه با TNF- α و INF γ باعث کنترل بیشتر روند پیشرفت بیماری می‌شود (۲۴). مطالعات نشان می‌دهد که افزایش UBD ممکن است با رفتار تهاجمی و فرایندهای متاستاز سرطان روده‌ی بزرگ ارتباط داشته باشد. اما مکانیسمی که ممکن است بیان‌کننده‌ی آن باشد که UBD منجر به تومورزایی شود، هنوز مشخص نشده است. در آینده، آزمایش‌های مولکولی می‌تواند نقش مهم UBD را در پیشرفت سرطان روده‌ی بزرگ به طور کامل مشخص نماید، اما تا کنون

در این مطالعه، برای اولین بار mRNA ژن UBD در نمونه‌های پارافینه‌ی بافت روده‌ی بزرگ شناسایی شد. بلوک‌های پارافینه منبع اطلاعات ارزنده‌ای را در بخش پاتولوژی بیمارستان‌ها برای انجام مطالعات گسترده، فراهم می‌نمایند.

در این مطالعه، برای اولین بار mRNA ژن UBD در نمونه‌های پارافینه‌ی بافت روده‌ی بزرگ شناسایی شد. بلوک‌های پارافینه منبع اطلاعات ارزنده‌ای را در بخش پاتولوژی بیمارستان‌ها برای انجام مطالعات گسترده، فراهم می‌نمایند.

در این مطالعه، برای اولین بار mRNA ژن UBD در نمونه‌های پارافینه‌ی بافت روده‌ی بزرگ شناسایی شد. بلوک‌های پارافینه منبع اطلاعات ارزنده‌ای را در بخش پاتولوژی بیمارستان‌ها برای انجام مطالعات گسترده، فراهم می‌نمایند.

در این مطالعه، برای اولین بار mRNA ژن UBD در نمونه‌های پارافینه‌ی بافت روده‌ی بزرگ شناسایی شد. بلوک‌های پارافینه منبع اطلاعات ارزنده‌ای را در بخش پاتولوژی بیمارستان‌ها برای انجام مطالعات گسترده، فراهم می‌نمایند.

در این مطالعه، برای اولین بار mRNA ژن UBD در نمونه‌های پارافینه‌ی بافت روده‌ی بزرگ شناسایی شد. بلوک‌های پارافینه منبع اطلاعات ارزنده‌ای را در بخش پاتولوژی بیمارستان‌ها برای انجام مطالعات گسترده، فراهم می‌نمایند.

مورد بررسی قرار گیرند، موضوعی است که قابل بحث باقی مانده است (۲۷-۲۸).

این اولین گزارشی است که با شناسایی mRNA UBD بیان این ژن را در بافت کلون افراد مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ در ایران نشان داده است و نقش آن را در سلول‌های بافت کلون بررسی نموده است. نتایج این مطالعه می‌تواند در پیشرفت پیش‌آگهی از سرطان مؤثر واقع گردد.

نتایج این مطالعه نشان داد UBD می‌تواند نقش مهم و مؤثری در تشخیص اولیه‌ی سرطان روده‌ی بزرگ به عنوان یک نشانگر زیستی، مستقل از مرحله‌ی تومور، بر عهده داشته باشد. همچنین می‌توان به این امر اشاره نمود که افزایش میزان UBD ارتباط مستقیمی با مراحل II و III بیماری دارد. این مطالب اطلاعات اولیه در زمینه‌ی نقش UBD هستند و مطالعات گسترده‌تری برای تأیید دقیق نقش پیش‌آگهی دهنده‌ی این عامل، مورد نیاز است. نتایج این مطالعه نشان داد که در افراد بیمار ۹۷ درصد UBD بیان می‌شود و در افراد سالم این عدد به ۵ درصد کاهش می‌یابد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسؤولین باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق که در انجام این طرح ما را یاری و هزینه‌های این پروژه را تأمین نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

شاخص‌های مورد تأییدی برای پیش‌آگهی از سرطان روده‌ی بزرگ مشخص نشده است (۲۵).

بر اساس تحقیقات قبلی بیان شده است که UBD توسط p۵۳ تنظیم می‌گردد و کارکردن و یا کار نکردن آن را p۵۳ تعیین می‌کند و همچنین افزایش بیان UBD به کاهش بیان p۵۳ نسبت داده شده است (۲۶)؛ اما جهش در توالی برنامه‌نویسی UBD گزارش نشده است (۱۷). در این مطالعه، بیان UBD به عنوان یک شاخص ژنی که نقشی مهم و مؤثری در پیش‌آگهی از سرطان روده‌ی بزرگ، به ویژه برای پیش‌بینی بازگشت مجدد در بیماران مراحل II و III پس از جراحی مورد توجه قرار گرفته است. نتایج نشان داد که میزان mRNA مربوط به UBD در بافت‌های سرطانی و بافت‌های اطراف تومور افزایش یافته است. افزایش بیان UBD به ویژه در نمونه‌های افراد در مراحل II و III بیماری دیده شد.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم دسترسی به برخی اطلاعات از جمله تعداد غدد لنفاوی برداشته شده، متاستاز به کبد، نوع عمل جراحی و ... اشاره نمود که می‌توانند تأثیر مهمی در بقای بیماران مبتلا به سرطان روده داشته باشند. اگر چه تا کنون وضعیت غدد لنفاوی بین مراحل II و III و متاستاز به طور معمول به عنوان یک عامل پیش‌آگهی برای سرطان روده‌ی بزرگ در نظر گرفته شده است؛ اما این امر که باید غدد لنفاوی همیشه

References

- Huang WS, Tang R, Lin PY, Changchien CR, Chen JS, Chiang JM, et al. Impact of the cyclin D1 A870G polymorphism on susceptibility to sporadic colorectal cancer in Taiwan. *Dis Colon Rectum* 2006; 49(5): 602-8.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59(4): 225-49.
- Yaylim-Eraltan I, Arikian S, Yildiz Y, Cacina C, Ergen HA, Tuna G, et al. The influence of cyclin D1 A870G polymorphism on colorectal cancer risk and prognosis in a Turkish population.

- Anticancer Res 2010; 30(7): 2875-80.
4. Zhang S, Cui Y, Weng Z, Gong X, Chen M, Zhong B. Changes on the disease pattern of primary colorectal cancers in Southern China: a retrospective study of 20 years. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24(8): 943-9.
 5. Zhang LQ, Wang J, Shang JQ, Bai JL, Liu FY, Guan X, et al. Cyclin D1 G870A polymorphism and colorectal cancer susceptibility: a meta-analysis of 20 populations. *Int J Colorectal Dis* 2011; 26(10): 1249-55.
 6. Jiang SX, Wang XS, Geng CH, Wang GY. Altering trend of clinical characteristics of colorectal cancer: a report of 3,607 cases. *Ai Zheng* 2009; 28(1): 54-6.
 7. Paul-Samojedny M, Kokocinska D, Samojedny A, Mazurek U, Partyka R, Lorenz Z, et al. Expression of cell survival/death genes: Bcl-2 and Bax at the rate of colon cancer prognosis. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1741(1-2): 25-9.
 8. O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(19): 1420-5.
 9. Galandiuk S, Wieand HS, Moertel CG, Cha SS, Fitzgibbons RJ, Jr., Pemberton JH, et al. Patterns of recurrence after curative resection of carcinoma of the colon and rectum. *Surg Gynecol Obstet* 1992; 174(1): 27-32.
 10. Arber N, Hibshoosh H, Moss SF, Sutter T, Zhang Y, Begg M, et al. Increased expression of cyclin D1 is an early event in multistage colorectal carcinogenesis. *Gastroenterology* 1996; 110(3): 669-74.
 11. Kim HJ, Yu MH, Kim H, Byun J, Lee C. Noninvasive molecular biomarkers for the detection of colorectal cancer. *BMB Rep* 2008; 41(10): 685-92.
 12. Ren J, Kan A, Leong SH, Ooi LL, Jeang KT, Chong SS, et al. FAT10 plays a role in the regulation of chromosomal stability. *J Biol Chem* 2006; 281(16): 11413-21.
 13. Raasi S, Schmidtke G, Groettrup M. The ubiquitin-like protein FAT10 forms covalent conjugates and induces apoptosis. *J Biol Chem* 2001; 276(38): 35334-43.
 14. Canaan A, Yu X, Booth CJ, Lian J, Lazar I, Gamfi SL, et al. FAT10/diubiquitin-like protein-deficient mice exhibit minimal phenotypic differences. *Mol Cell Biol* 2006; 26(13): 5180-9.
 15. Duffy MJ, van DA, Haglund C, Hansson L, Holinski-Feder E, Klapdor R, et al. Tumour markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use. *Eur J Cancer* 2007; 43(9): 1348-60.
 16. Lee CG, Ren J, Cheong IS, Ban KH, Ooi LL, Yong TS, et al. Expression of the FAT10 gene is highly upregulated in hepatocellular carcinoma and other gastrointestinal and gynecological cancers. *Oncogene* 2003; 22(17): 2592-603.
 17. Lukasiak S, Schiller C, Oehlschlaeger P, Schmidtke G, Krause P, Legler DF, et al. Proinflammatory cytokines cause FAT10 upregulation in cancers of liver and colon. *Oncogene* 2008; 27(46): 6068-74.
 18. Ji F, Jin X, Jiao CH, Xu QW, Wang ZW, Chen YL. FAT10 level in human gastric cancer and its relation with mutant p53 level, lymph node metastasis and TNM staging. *World J Gastroenterol* 2009; 15(18): 2228-33.
 19. Lim CB, Zhang D, Lee CG. FAT10, a gene up-regulated in various cancers, is cell-cycle regulated. *Cell Div* 2006; 1: 20.
 20. Yan DW, Li DW, Yang YX, Xia J, Wang XL, Zhou CZ, et al. Ubiquitin D is correlated with colon cancer progression and predicts recurrence for stage II-III disease after curative surgery. *Br J Cancer* 2010; 103(7): 961-9.
 21. Ren J, Wang Y, Gao Y, Mehta SB, Lee CG. FAT10 mediates the effect of TNF-alpha in inducing chromosomal instability. *J Cell Sci* 2011; 124(Pt 21): 3665-75.
 22. Qing X, French BA, Oliva J, French SW. Increased expression of FAT10 in colon benign, premalignant and malignant epithelial neoplasms. *Exp Mol Pathol* 2011; 90(1): 51-4.
 23. Fan J, Yang X, Wang W, Wood WH, III, Becker KG, Gorospe M. Global analysis of stress-regulated mRNA turnover by using cDNA arrays. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(16): 10611-6.
 24. Oliva J, Bardag-Gorce F, French BA, Li J, McPhaul L, Amidi F, et al. Fat10 is an epigenetic marker for liver preneoplasia in a drug-primed mouse model of tumorigenesis. *Exp Mol Pathol* 2008; 84(2): 102-12.
 25. Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 2008; 135(4): 1079-99.
 26. Zhang DW, Jeang KT, Lee CG. p53 negatively regulates the expression of FAT10, a gene upregulated in various cancers. *Oncogene* 2006; 25(16): 2318-27.
 27. Johnson PM, Porter GA, Ricciardi R, Baxter NN. Increasing negative lymph node count is independently associated with improved long-term survival in stage IIIB and IIIC colon cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24(22): 3570-5.
 28. Wang J, Hassett JM, Dayton MT, Kulaylat MN. The prognostic superiority of log odds of positive lymph nodes in stage III colon cancer. *J Gastrointest Surg* 2008; 12(10): 1790-6.

Identifying Ubiquitin D in Paraffin-Embedded Tissues in Patients with Colorectal Cancer

Amir Izadi MSc¹, Elham Moslemi PhD², Seyed Mohammad Poorhosseini MD, PhD³,
Vahid Reza Yassaee PhD⁴, Hamid Reza Kheiri PhD⁵, Hamid Reza Elikai MSc⁶

Original Article

Abstract

Background: Colon cancer is one major cause for cancer-related deaths. Ubiquitin D (UBD) and its alike proteins are signal transduction pathways with several cellular functions including DNA repair control. There is relation between increase in ubiquitin D and increase in p53 expression in a way that in many cases, this growth has accelerated the cancer progress. This study aimed to detect ubiquitin D, as a marker for the early detection of colorectal cancer and disease progress in patients.

Methods: 30 samples of paraffin-embedded tissue blocks of patients with colorectal cancer and 10 normal tissue samples were studied. Reverse transcription-Polymerase chain reaction (RT-PCR) testing to detect ubiquitin D gene and b-actin gene as an internal control was obtained.

Findings: The size of RT-PCR product of ubiquitin D gene was 395 and the size of amplified b-actin was 350 bp. The RT-PCR of b-actin was positive in all samples. The RT-PCR products of 18 samples (95%) of male patients and 11 samples (100%) of female patients were positive. Only one sample had negative product.

Conclusion: Considering the results, we can conclude that ubiquitin D, as a useful marker that is independent of tumor stage, plays an important role in the detection of colorectal cancer and its study is really important in identification and detection of early stages of disease. Results showed that the expression of the ubiquitin D in patients is 97% and it reduces to 5% in healthy people.

Keywords: Ubiquitin D, Colorectal cancer, Reverse transcription-Polymerase chain reaction (RT-PCR)

Citation: Izadi A, Moslemi E, Poorhosseini SM, Yassaee VR, Kheiri HR, Elikai HR. **Identifying Ubiquitin D in Paraffin-Embedded Tissues in Patients with Colorectal Cancer.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(291): 972-81

1- Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, East Tehran Branch, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, East Tehran Branch, Tehran, Iran

3- Department of Medical Genetics, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Associate Professor, Genomic Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Assistant Professor, Department of Pharmaceutical Nanotechnology, School of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan AND Banej Exir Research Center, Tehran, Iran

6- Department of Hematology, Immunology Laboratory, Sajad Hospital AND Banej Exir Research Center, Tehran, Iran

Corresponding Author: Amir Izadi MSc, Email: amir_izad@yahoo.com

تأثیر استراتژی‌ها و عوامل کمورادیوتراپی بر بقای پنج ساله‌ی بیماران مبتلا به سرطان مری

دکتر سید کاظم میری‌نژاد^۱، دکتر محمد حسین صومی^۲، دکتر فرشاد سیدنژاد^۳، دکتر امیر قاسمی جنگجو^۳،
دکتر مرتضی قوجازاده^۴، دکتر محمد محمدزاده^۵، دکتر علیرضا ناصری^۳،
دکتر بهنام نصیری^۶، دکتر شهناز نقاشی^۷

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ایران یکی از مناطق با شیوع بالای سرطان مری در جهان است. بهبود بقا در عمل جراحی به دنبال درمان کمکی، به عنوان یک درمان استاندارد در بدخیمی دستگاه گوارش به طور گسترده‌ای پذیرفته شده است. کمورادیوتراپی تنها یک جایگزین مناسب برای جراحی در بیماران مبتلا به سرطان مری متاستاتیک و غیر قابل عمل می‌باشد. هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثرات کمورادیوتراپی و رادیوتراپی تنها و کمورادیوتراپی و رادیوتراپی کمکی بر میزان بقا بود.

روش‌ها: در یک مطالعه‌ی گذشته‌نگر مقطعی در شمال غرب ایران، پرونده‌ی ۳۳۱ بیمار مبتلا به سرطان مری که جهت درمان به مرکز رادیوتراپی بیمارستان امام رضا (ع) تبریز بین سال‌های ۸۹-۱۳۸۵ مراجعه نموده بودند، بررسی گردید. وضعیت سلامت بیماران با پیگیری تلفنی مشخص و میزان بقای بیماران و تأثیر مشخصات دموگرافیک، نوع درمان، دوز رادیوتراپی و نوع داروهای مورد استفاده در کمورادیوتراپی بر بقای بیماران با استفاده از روش Kaplan-Meier و Cox در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین بقا ۱۴/۲ (حدود اطمینان: ۱۶/۶-۱۲/۳۳) ماه و میزان بقای ۱، ۳ و ۵ ساله به ترتیب ۶۰، ۲۱ و ۱۶ درصد به دست آمد. در آنالیز تک متغیره، عوامل سن ($P < ۰/۰۰۱$)، مرحله‌ی بیماری ($P < ۰/۰۰۱$)، تمایز سلولی ($P = ۰/۰۲۰$)، نوع درمان ($P < ۰/۰۰۱$)، میزان دوز دریافتی اشعه ($P = ۰/۰۱۰$) و نوع داروی مورد استفاده در کموتراپی ($P = ۰/۰۱۰$) از عوامل پیش‌آگهی دهنده‌ی بقا بودند. در تجزیه و تحلیل چند متغیره، میزان اشعه‌ی دریافتی در رادیوتراپی از عوامل پیش‌بینی کننده‌ی میزان بقا شناخته شد.

نتیجه‌گیری: میزان بقا در بیماران مراجعه کننده پایین می‌باشد. بنابراین تشخیص زود هنگام بیماری و بهبود روش‌های درمانی با انجام کارآزمایی‌های بالینی جهت افزایش میزان بقای بیماران پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: میزان بقا، سرطان مری، کمورادیوتراپی

ارجاع: میری‌نژاد سید کاظم، صومی محمد حسین، سیدنژاد فرشاد، قاسمی جنگجو امیر، قوجازاده مرتضی، محمدزاده محمد، ناصری علیرضا، نصیری بهنام، نقاشی شهناز. تأثیر استراتژی‌ها و عوامل کمورادیوتراپی بر بقای پنج ساله‌ی بیماران مبتلا به سرطان مری. مجله دانشکده

پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۱): ۹۹۰-۹۸۲

۱- دانشجوی دکترای تخصصی پژوهشی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۲- استاد، گروه داخلی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۳- استادیار، گروه رادیولوژی و رادیوتراپی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۴- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۵- دانشیار، گروه رادیولوژی و رادیوتراپی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۶- متخصص رادیوتراپی، گروه رادیولوژی رادیوتراپی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۷- پژوهشگر، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

مقدمه

سرطان مری در کشور ما به علل ژنتیکی و یا محیطی مختلف، دارای شیوع بالایی می‌باشد (۱). بر خلاف کشورهای غربی که میزان بروز آدنوکارسینومای مری در حال افزایش می‌باشد، در ایران اسکواموس سل کارسینوما، نوع آسیب‌شناسی غالب می‌باشد (۱). متأسفانه بیماری اغلب بیماران در مراحل پیشرفته تشخیص داده می‌شود که منجر به نتایج درمانی ضعیف می‌گردد و بسیاری از مبتلایان در نهایت به علت بیماری سرطان فوت می‌کنند. جراحی و رادیوتراپی، درمان‌های اصلی برای کنترل موضعی محسوب می‌شوند. اگر چه جراحی یکی از درمان‌های اصلی سرطان مری است، اما میزان بقای کلی با جراحی به تنهایی ضعیف گزارش شده است (۲-۳).

اگر چه برخی از مطالعات نشان دهنده‌ی نتایج بهتر با درمان‌های ترکیبی نظیر نئو اجونت کمورادیوتراپی (۴)، یا درمان‌های کمکی بعد از جراحی (۵) نسبت به جراحی تنها هستند، اما برخی از مطالعات از بهبود میزان بقا با درمان‌های ترکیبی حمایت نکرده‌اند (۶-۷). بسیاری از بیماران به دلیل مشکلات طبی برای جراحی، عدم پذیرش خود بیمار و یا پیشرفته بودن سرطان، تحت درمان‌های غیر جراحی قرار می‌گیرند. هر چند رادیوتراپی تنها در حدود ۷۵ درصد موارد باعث تسکین علائم می‌شود (۸)، اما برای حصول درمان قطعی نتایج ضعیفی به دست آمده است (۹). درمان سرطان مری از مشکل‌ترین چالش‌های درمانی از دیدگاه جراحی و انکولوژی محسوب می‌شود و در مورد درمان مناسب اتفاق نظر وجود ندارد (۲-۳).

نتایج رادیوتراپی تنها در بسیاری از مطالعات

نامطلوب بوده است. بقای ۵ ساله‌ی بیماران که با رادیوتراپی تنها، با میزان اشعه‌ی دریافتی در حد ۵۰ گری با روش معمول درمان شده‌اند، در حد ۱۰-۰ درصد بوده است (۱۱-۱۰). ترکیب رادیوتراپی با جراحی نیز نتوانسته است باعث بهبود در بقای بیماران شود و تأثیر بر کنترل موضعی نامشخص است (۱۲). یکی از علت‌های شایع شکست درمان در سرطان مری، دست‌اندازی به سایر ارگان‌ها است (۱۳). در بسیاری موارد، هر چند که سرطان مری سابقه‌ی علائم طولانی نداشته باشد، در زمان تشخیص، پیشرفته و با متاستازهای منتشر پنهان همراه می‌باشد (۱۴، ۷).

به خاطر نقش بالقوه‌ی کموتراپی در کاهش گسترش دوردست بیماری، کموتراپی نیز به درمان‌های با پایه‌ی جراحی یا رادیوتراپی افزوده شده است؛ به طوری که یک مطالعه‌ی آینده‌نگر و تصادفی، توسط گروه رادیوتراپی انکولوژی (RTOG یا Radiation therapy oncology group) راه‌اندازی شد (پروتکل ۸۵۰۱-RTOG) که نتایج آن نشان می‌داد که کمورادیوتراپی همزمان می‌تواند میزان بقای کلی بیماران مبتلا به سرطان مری (بدون شواهدی از متاستاز) را در مقایسه با رادیوتراپی تنها بهبود بخشد (۱۵). روش کمورادیوتراپی و سپس جراحی دارای مزایای بالقوه‌ای، مانند کاهش دادن مرحله‌ی بیماری، افزایش احتمال برداشت تومور با مارژین شعاعی منفی و از بین بردن بیماری میکرومتاستاتیک می‌باشد (۱۲).

این مطالعه به منظور ارزیابی نتایج کمورادیوتراپی کمکی (با جراحی) و قطعی (بدون جراحی) در بیماران ارجاع شده به بخش رادیوتراپی انکولوژی بیمارستان امام رضا (ع) و تأثیر برخی از عوامل احتمالی در پیش‌آگهی آن انجام شد.

روش‌ها

در یک مطالعه‌ی گذشته‌نگر مقطعی، پرونده‌ی تمام بیمارانی که با تشخیص سرطان مری از اول سال ۱۳۸۵ تا انتهای سال ۱۳۸۹ به بخش رادیوتراپی بیمارستان امام رضا (ع) تبریز جهت انجام کمورادیوتراپی مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. طی تماس تلفنی با بیماران یا خانواده‌ی آنان، پس از توضیح طرح و اخذ رضایت از آنان، آخرین وضعیت سلامت بیماران و دیگر اطلاعات ضروری پیگیری گردید. از تعداد ۵۳۲ بیمار، دسترسی به ۴۶۰ بیمار ممکن گردید.

بیمارانی که در مرحله‌ی چهارم بیماری بودند و یا فقط برای انجام کمورادیوتراپی تسکینی مراجعه کرده بودند، از مطالعه کنار گذاشته شدند. هیچ کدام از بیماران مراجعه کننده در مرحله‌ی یک نبودند. در نهایت ۳۳۱ بیمار شامل ۱۵۱ نفر (۴۵/۶ درصد) زن و ۱۸۰ نفر (۵۴/۶ درصد) مرد با میانگین سنی $65/5 \pm 12/9$ انتخاب و اطلاعات دموگرافیک، مشخصات پاتولوژی تومور، اطلاعات مربوط به درمان‌های انجام گرفته و وضعیت سلامت بیماران (مرگ یا حیات) جمع‌آوری گردید.

اثر روش‌های مختلف درمانی (جراحی + کمورادیوتراپی، جراحی + رادیوتراپی، کمورادیوتراپی تنها و رادیوتراپی تنها) و همچنین اثر عوامل درمانی کمورادیوتراپی از جمله میزان کل اشعه‌ی دریافتی و نوع داروهای کموتراپی بر میزان بقای بیماران، مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. برای مرحله‌بندی بیماری، از سیستم TNM (Tumor node metastasis) استفاده شد. میزان بقای بیمار از زمان تشخیص با پاتولوژی نمونه‌ی آندوسکوپی تا مرگ یا پایان سال

۱۳۹۰ به ماه محاسبه شد. علت تمامی مرگ‌ها سرطان مری در نظر گرفته شد.

در نهایت تجزیه و تحلیل توصیفی داده‌ها روی اطلاعات دموگرافیک و بالینی، به صورت گزارش میانگین و انحراف معیار صورت پذیرفت. منحنی‌های بقا با استفاده از روش Kaplan-Meier و Life table محاسبه و با استفاده از آزمون لگاریتم رتبه‌ای (Log-rank test) مقایسه گردید. تحلیل چند Cox انجام شد. $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن آماری در نظر گرفته شد. کلیه‌ی آنالیزهای آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) صورت گرفت.

یافته‌ها

در بازه‌ی زمانی ۸۹-۱۳۸۵ (۵ ساله) ۵۳۲ بیمار با تشخیص سرطان مری ثبت شده بود که در مرحله‌ی پیگیری وضعیت سلامت ۴۶۰ بیمار قابل دسترسی بود و همچنین پس از حذف موارد خروج از مطالعه (بیمارانی که در مرحله‌ی چهارم بیماری بودند و یا فقط برای انجام کمورادیوتراپی تسکینی مراجعه کرده بودند)، ۳۳۱ بیمار وارد مطالعه شدند.

میانگین سنی بیماران $65/5 \pm 12/9$ سال (در محدوده‌ی ۹۰-۲۹ سال) بود. ۴۵/۵ درصد بیماران زن و ۵۴/۵ درصد بیماران مرد بودند. از نظر بافت‌شناسی، ۹۴/۷ درصد موارد سرطان سلول‌های سنگفرشی و بقیه‌ی موارد آدنوکارسینوما بود. بیشترین محل درگیری تومورال مری (۵۰/۸ درصد) مربوط به قسمت تحتانی بود. ۸۰/۷ درصد بیماران

کمورادیوتراپی یا رادیوتراپی تنها و بقیه‌ی اجونت کم رادیوتراپی دریافت کرده بودند (جدول ۱). میانگین اشعه‌ی دریافتی در کمورادیوتراپی $50/09 \pm 9/95$ (حداقل ۳۰ و حداکثر ۱۰۰) گری بود.

جدول ۱. مقایسه‌ی میزان بقا و میانه‌ی بقای متغیرهای مورد بررسی با روش Kaplan-Meier

متغیرها	زیر گروه‌ها	تعداد (درصد)	میزان بقا (درصد) یک ساله	میزان بقا (درصد) سه ساله	میزان بقا (درصد) پنج ساله	میانه‌ی بقا (با ضریب اطمینان ۹۵٪)	مقدار P (Log-rank)
سن	> 65	۱۳۹ (۴۲/۰)	۹۸	۳۲	۲۵	۲۰/۲۳ (۱۴/۳۰-۲۶/۱۵)	< ۰/۰۰۱
	≤ 65	۱۹۲ (۵۸/۰)	۵۵	۱۴	۱۰	۱۲/۵۷ (۱۰/۳۰-۱۴/۷۰)	
جنس	مرد	۱۸۰ (۵۴/۴)	۶۲	۲۲	۱۸	۱۳/۵۳ (۱۰/۰۶-۱۶/۹۹)	۰/۷۳۰
	زن	۱۵۱ (۴۵/۶)	۵۸	۲۱	۱۵	۱۴/۸۰ (۱۲/۴۰-۱۷/۱۹)	
هیستولوژی تومور	اسکواموس سل کارسینوما	۳۱۳ (۹۴/۷)	۶۰	۲۳	۱۸	۱۴/۲۳ (۱۲/۲۹-۱۶/۱۶)	۰/۶۲۰
	آدنوکارسینوما	۱۸ (۵/۳)	۶۱	۱۱	۰	۱۳/۰۰ (۱۰/۶۳-۱۵/۳۷)	
Stage*	II	۴۷ (۱۴/۲)	۸۴	۳۸	۳۲	۲۴/۶۰ (۱۵/۵۳-۳۳/۶۶)	< ۰/۰۰۱
	III	۴۸ (۱۴/۵)	۷۱	۲۹	۲۹	۲۲/۲۳ (۱۲/۱۸-۳۲/۲۷)	
تمایز تومور	غیر متاستاتیک	۲۳۶ (۷۱/۳)	۵۳	۱۶	۱۰	۱۲/۱۰ (۱۰/۳۴-۱۳/۸۶)	۰/۰۲۷
	خوب	۱۴۷ (۶۷/۰)	۶۵	۲۹	۲۳	۱۸/۴۰ (۱۲/۴۱-۲۴/۳۹)	
	متوسط	۱۲۱ (۳۷/۰)	۵۴	۲۰	۲۰	۱۲/۹۳ (۹/۶۹-۱۶/۱۷)	
	ضعیف	۱۳ (۶/۰)	۶۵	۰	۰	۱۵/۱۷ (۷/۴۳-۲۲/۹۱)	
محل تومور	فوقانی	۴۰ (۱۲/۲)	۵۶	۲۸	۲۰	۱۳/۴۷ (۱۰/۰۲-۲۵/۹۱)	۰/۶۰۰
	میانی	۱۲۱ (۳۷/۰)	۶۸	۲۴	۱۸	۱۶/۹۰ (۱۳/۸۰-۱۹/۹۹)	
	تحتانی	۱۶۶ (۵۰/۸)	۵۵	۱۶	۱۴	۱۲/۹۳ (۱۱/۰۲-۱۴/۸۳)	
	جراحی + کمورادیوتراپی	۵۴ (۱۶/۳)	۸۰	۳۵	۳۵	۲۷/۳۰ (۱۸/۸۴-۳۵/۷۵)	
نوع درمان	جراحی + رادیوتراپی	۱۰ (۳/۱)	۷۹	۳۷	۳۷	۲۸/۸۳ (۱۱/۰۶-۴۶/۵۹)	< ۰/۰۰۱
	کمورادیوتراپی تنها	۱۷۵ (۵۲/۸)	۵۹	۲۰	۱۴	۱۳/۹۳ (۱۱/۷۶-۱۶/۰۶)	
	رادیوتراپی تنها	۹۲ (۲۷/۸)	۴۹	۱۰	۰	۱۳/۹۳ (۷/۰۹-۱۲/۷۰)	
	دوز رادیوتراپی (گری)	< 50	۱۹۴ (۵۸/۶)	۵۳	۱۸	۱۲/۴۰ (۱۰/۳۸-۱۴/۴۱)	
رژیم کموتراپی	≥ 50	۱۳۷ (۴۱/۴)	۱۷	۲۵	۲۰	۱۸/۰۰ (۱۵/۰۴-۲۰/۶۵)	۰/۰۱۰
	۵ فلواوراسیل	۳۹ (۱۷/۰)	۶۵	۲۹	۲۹	۱۸/۴۰ (۱۰/۷۱-۲۶/۰۸)	
	سیس پلاتین	۲۱۳ (۱۰/۰)	۴۳	۲۲	۰	۱۱/۶۰ (۱۰/۳۹-۱۲/۸۰)	۰/۰۱۰
	۵ فلواوراسیل + سیسپلاتین	۱۶۳ (۷۱/۲)	۶۷	۲۳	۱۹	۱۶/۷۰ (۱۲/۸۲-۱۹/۳۱)	
	سایر	۴ (۱/۸)	۲۵	۰	۰	۸/۸۳ (۵/۰۷-۱۲/۵۸)	

* منظور از گروه غیر متاستاتیک، بیمارانی هستند که متاستاز دوردست ندارند، اما به دلیل اطلاعات ناکافی نمی‌توان آن‌ها را در Stage دو یا سه قرار داد.

تومور، تأثیری بر این پیش‌آگهی نداشتند (جدول ۱).

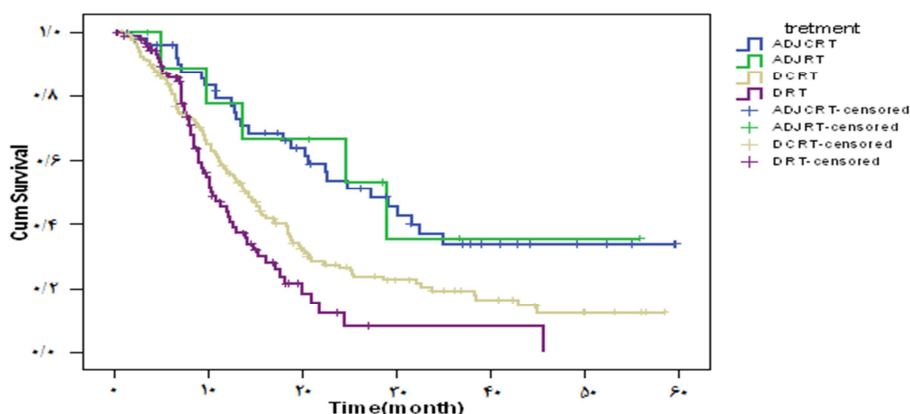
بیمارانی که کمورادیوتراپی کمکی دریافت کرده بودند، در مقایسه با بیمارانی که کمورادیوتراپی تنها دریافت کرده بودند، میزان بقای بهتری داشتند ($P < 0/001$) و همچنین در گروه بدون جراحی، نتایج نشان داد که کمورادیوتراپی نتایج بهتری از رادیوتراپی به تنهایی دارد (جدول ۲). در مقایسه‌ی چهار گروه درمانی، بیشترین میانه‌ی بقا در بیمارانی است که جراحی و کمورادیوتراپی را با هم دریافت کرده بودند (شکل ۱).

میزان بقای کل ۱ ساله، ۳ ساله و ۵ ساله به ترتیب ۶۰، ۲۱ و ۱۶ درصد بود. میانگین و میانه‌ی بقا در بیماران ۲۱/۶۹ (حدود اطمینان: ۲۹/۹-۲۴/۰۸) و ۱۴/۲ (حدود اطمینان: ۱۶/۶-۱۲/۳۳) ماه به دست آمد. بر اساس تجزیه و تحلیل تک متغیره، سن ($P < 0/001$)، مرحله‌ی بیماری ($P = 0/001$)، تمایز سلولی ($P = 0/020$)، نوع درمان‌های انجام گرفته ($P < 0/001$)، میزان اشعه‌ی دریافتی ($P = 0/010$) و نوع داروهای مورد استفاده در کموتراپی ($P = 0/010$) از عوامل مؤثر بر پیش‌آگهی بقا بودند. متغیرهای جنس، هیستولوژی تومور و محل

جدول ۲. مقایسه‌ی میزان بقای روش‌های مختلف درمانی با هم به روش Kaplan-Meier

نوع متغیر	تعداد (درصد)	میزان بقای یک ساله	میزان بقای سه ساله	میزان بقای پنج ساله	مقدار P (Log-rank)
نوع درمان					
کمورادیوتراپی بدون جراحی	۲۶۷ (۸۰/۷)	۵۵	۱۸	۱۱	$< 0/001$
کمورادیوتراپی + جراحی	۶۴ (۱۹/۳)	۸۰	۳۵	۳۵	
کمورادیوتراپی بدون جراحی					
کمورادیوتراپی تنها	۱۷۵ (۶۵/۵)	۵۹	۲۰	۱۴	۰/۰۳۰
رادیوتراپی تنها	۹۲ (۲۴/۵)	۴۹	۱۰	۰	
کمورادیوتراپی + جراحی					
جراحی + کمورادیوتراپی	۵۴ (۸۴/۴)	۸۰	۳۵	۳۵	۰/۰۹۰
جراحی + رادیوتراپی	۱۰ (۱۵/۶)	۷۹	۳۷	۳۷	

Survival Functions



شکل ۱. مقایسه‌ی میزان بقا در چهار گروه بیماران تحت درمان با روش‌های مختلف درمانی

جدول ۳. مقایسه‌ی تأثیر متغیرها با آنالیز چند متغیره‌ی Cox

متغیر	ضریب رگرسیون	خطای معیار	آماره‌ی آزمون	درجه‌ی آزادی	مقدار P	خطر نسبی
سن	۰/۳۱۲	۰/۱۸۶	۲/۸۱۴	۱	۰/۰۹۳	۱/۳۶۶
مرحله‌ی بیماری	۰/۱۳۶	۰/۱۱۶	۱/۳۸۳	۱	۰/۲۴۰	۱/۱۴۶
تمایز تومور	۰/۰۷۳	۰/۰۴۸	۲/۲۶۸	۱	۰/۱۳۰	۱/۰۷۶
نوع درمان	۰/۲۴۰	۰/۳۲۹	۰/۵۳۳	۱	۰/۴۶۰	۱/۲۷۱
مقدار اشعه‌ی دریافتی	۰/۳۸۵	۰/۱۷۲	۴/۸۸۵	۱	۰/۰۲۰	۰/۶۸۰
نوع داروی کموتراپی	۰/۰۶۲	۰/۱۲۲	۰/۲۶۰	۱	۰/۶۱۰	۱/۰۶۴

در مرحله‌ی بعدی، متغیرهایی که دارای مقدار احتمال معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۵۰$) بودند، تحت آنالیز آماری چند متغیره‌ی رگرسیون Cox قرار گرفتند که فقط میزان اشعه‌ی دریافتی در بیماران با نسبت شانس (Odds ratio) کمتر از یک، از جمله عوامل پیش‌بینی‌کننده‌ی بقا می‌باشد؛ به طوری که با افزایش میزان اشعه‌ی دریافتی، شانس افراد برای زنده ماندن افزایش می‌یابد (جدول ۳).

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان بقای کل ۱، ۳ و ۵ ساله به ترتیب ۶۰، ۲۱ و ۱۶ درصد بوده است که عوامل سن، مرحله‌ی بیماری، تمایز سلولی، نوع درمان‌های انجام گرفته، میزان اشعه‌ی دریافتی و نوع داروهای مورد استفاده در شیمی‌درمانی، از عوامل مؤثر بر پیش‌آگهی بقا بودند و از نظر استراتژی‌های درمان، بیماران که جراحی و کمورادیوتراپی را با هم دریافت کرده بودند، دارای بیشترین میزان بقا بودند.

در این مطالعه میزان بقای ۱، ۳ و ۵ ساله در مقایسه با مطالعات مشابه، پایین بود (۱۶-۱۸). متأسفانه افراد مبتلا به سرطان مری زمانی مراجعه می‌کنند و یا تشخیص داده می‌شوند که بیماری آن‌ها

دست‌اندازی به سایر ارگان‌ها داشته و یا به صورت موضعی پیشرفت داشته است و از درمان جراحی سود چندانی نمی‌برند (۱۹). در مطالعات انجام شده توسط قدیمی و همکاران (۱۹) و همچنین آچچلی و همکاران (۲۰)، عامل پیر بودن و داشتن سن بالا در زمان تشخیص، یکی از عوامل با پیش‌آگهی پایین بقا معرفی شد که در مطالعه‌ی حاضر نیز این نتیجه حاصل شده است. در این مطالعه، عامل نوع بافت‌شناسی تومور با میزان بقا رابطه‌ی معنی‌دار نداشت که این یافته با یافته‌های مطالعات انجام شده توسط Gwynne و همکاران (۱۶) و نیز Semrau و همکاران (۱۷) مطابقت دارد.

در مطالعات انجام شده توسط Semrau و همکاران (۱۷) و نیز Byun و همکاران (۲۱)، مرد یا زن بودن از عوامل مؤثر بر بقا نبوده است که در مطالعه‌ی حاضر نیز رابطه‌ی معنی‌دار یافت نشد.

در گزارش حاضر، مقدار اشعه‌ی دریافتی ≤ ۵۰ گری، یکی از عوامل مهم پیش‌آگهی خوب برای میزان بقا می‌باشد که توسط سایر مطالعات نیز قابل تأیید است (۲۱، ۱۷-۱۶). یکی از یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، تفاوت معنی‌دار در نوع درمان کمورادیوتراپی تنها با درمان رادیوتراپی تنها در بیماران با پیشرفت موضعی تومور بدون متاستاز دوردست و غیر قابل

استاندارد (جراحی و کمورادیوتراپی با هم) از مواردی است که میزان بقای بیماران این مطالعه را تحت تأثیر قرار داده است. سن بالای بیماران در زمان تشخیص نیز خود شاید مانع دیگری برای انجام درمان‌های استاندارد به دلیل عوارض کهولت سن باشد. بنابراین، تلاش برای تشخیص بیماری در مراحل ابتدایی بیماری و بهبود روش‌های درمانی با انجام کارآزمایی‌های بالینی برای ارتقای میزان بقای بیماران مبتلا به سرطان مری در آینده، پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر برگرفته از طرح پژوهشی به شماره‌ی ۱۸۰ مصوب مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی تبریز می‌باشد. بدین وسیله از حمایت مالی مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد و همچنین از همکاران و پزشکان محترم بخش رادیوتراپی بیمارستان امام رضا (ع) که در اجرای این مطالعه همکاری نمودند، نهایت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

عمل بود که میزان بقا در کمورادیوتراپی به طور واضح بیشتر بود. این یافته با یافته‌های سایر مطالعات همخوانی دارد (۱۷). Chang Liu و همکاران گزارشی مبنی بر تفاوت معنی‌دار در کمورادیوتراپی کمکی در مقابل رادیوتراپی کمکی تنها انتشار دادند که مطالعه‌ی حاضر نیز برتری میزان بقای کمورادیوتراپی کمکی را نشان می‌دهد (۲۲).

مطالعات گذشته‌نگر به طور واضح دارای محدودیت‌های نحوه‌ی ثبت پرونده‌ی بیماران می‌باشد که این مطالعه نیز از آن مستثنی نمی‌باشد؛ به طوری که در نتیجه‌ی عدم ثبت کامل اطلاعات مربوط به نحوه‌ی مرحله‌بندی سرطان و همچنین عوارض و توکسی‌سیتی‌ی رادیوتراپی و کموتراپی، بررسی کامل مقدور نشد. برای مقابله با این محدودیت در شرایط فعلی، ثبت دقیق پرونده توسط کادر علاقمند و مجرب و نیز انجام مطالعات کارآزمایی بالینی پیشنهاد می‌گردد. میزان بقا در بیماران مطالعه‌ی حاضر رضایت بخش نبود. تشخیص در مراحل پیشرفته‌تر بیماری و در نتیجه‌ی عدم امکان بهره‌مندی بیمار از درمان‌های

References

1. Islami F, Kamangar F, Aghcheli K, Fahimi S, Semnani S, Taghavi N, et al. Epidemiologic features of upper gastrointestinal tract cancers in Northeastern Iran. *Br J Cancer* 2004; 90(7): 1402-6.
2. Earlam R, Cunha-Melo JR. Oesophageal squamous cell carcinoma: I. A critical review of surgery. *Br J Surg* 1980; 67(6): 381-90.
3. Whyte RI, Orringer MB. Surgery for Carcinoma of the Esophagus: The Case for Transhiatal Esophagectomy. *Semin Radiat Oncol* 1994; 4(3): 146-56.
4. Walsh TN, Noonan N, Hollywood D, Kelly A, Keeling N, Hennessy TP. A comparison of multimodal therapy and surgery for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1996; 335(7): 462-7.
5. Xiao ZF, Yang ZY, Miao YJ, Wang LH, Yin WB, Gu XZ, et al. Influence of number of metastatic lymph nodes on survival of curative resected thoracic esophageal cancer patients and value of radiotherapy: report of 549 cases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62(1): 82-90.
6. Fok M, Sham JS, Choy D, Cheng SW, Wong J. Postoperative radiotherapy for carcinoma of the esophagus: a prospective, randomized controlled study. *Surgery* 1993; 113(2): 138-47.
7. Urba SG, Orringer MB, Turrisi A, Iannettoni M, Forastiere A, Strawderman M. Randomized trial of preoperative chemoradiation versus surgery alone in patients with locoregional esophageal carcinoma. *J Clin Oncol* 2001; 19(2): 305-13.
8. Albertsson M1, Ewers SB, Widmark H, Hambreus G, Lillo-Gil R, Ranstam J.

- Evaluation of the palliative effect of radiotherapy for esophageal carcinoma. *Acta Oncol* 1989; 28(2): 267-70
9. Earlam R, Cunha-Melo JR. Oesophageal squamous cell carcinomas: II. A critical view of radiotherapy. *Br J Surg* 1980; 67(7): 457-61.
 10. Sun DR. Ten-year follow-up of esophageal cancer treated by radical radiation therapy: analysis of 869 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 16(2): 329-34.
 11. Okawa T, Kita M, Tanaka M, Ikeda M. Results of radiotherapy for inoperable locally advanced esophageal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 17(1): 49-54.
 12. Brenner B, Ison DH, Minsky BD. Treatment of localized esophageal cancer. *Semin Oncol* 2004; 31(4): 554-65.
 13. Kavanagh B, Anscher M, Leopold K, Deutsch M, Gaydica E, Dodge R, et al. Patterns of failure following combined modality therapy for esophageal cancer, 1984-1990. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992; 24(4): 633-42.
 14. Bosset JF, Gignoux M, Triboulet JP, Tiret E, Manton G, Elias D, et al. Chemoradiotherapy followed by surgery compared with surgery alone in squamous-cell cancer of the esophagus. *N Engl J Med* 1997; 337(3): 161-7.
 15. Cooper JS, Guo MD, Herskovic A, Macdonald JS, Martenson JA, Jr., Al-Sarraf M, et al. Chemoradiotherapy of locally advanced esophageal cancer: long-term follow-up of a prospective randomized trial (RTOG 85-01). Radiation Therapy Oncology Group. *JAMA* 1999; 281(17): 1623-7.
 16. Gwynne S, Hurt C, Evans M, Holden C, Vout L, Crosby T. Definitive chemoradiation for oesophageal cancer--a standard of care in patients with non-metastatic oesophageal cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2011; 23(3): 182-8.
 17. Semrau R, Herzog SL, Vallbohmer D, Kocher M, Holscher AH, Muller RP. Prognostic factors in definitive radiochemotherapy of advanced inoperable esophageal cancer. *Dis Esophagus* 2012; 25(6): 545-54.
 18. Motoori M, Yano M, Ishihara R, Yamamoto S, Kawaguchi Y, Tanaka K, et al. Comparison between radical esophagectomy and definitive chemoradiotherapy in patients with clinical T1bN0M0 esophageal cancer. *Ann Surg Oncol* 2012; 19(7): 2135-41.
 19. Ghadimi MR, Rasouli M, Mahmoodi M, Mohammad K. Prognostic factors for the survival of patients with esophageal cancer in Northern Iran. *J Res Med Sci* 2011; 16(10): 1261-72.
 20. Aghcheli K, Marjani HA, Nasrollahzadeh D, Islami F, Shakeri R, Sotoudeh M, et al. Prognostic factors for esophageal squamous cell carcinoma--a population-based study in Golestan Province, Iran, a high incidence area. *PLoS One* 2011; 6(7): e22152.
 21. Byun SJ, Kim JH, Kim OB, Song HS. Concurrent chemoradiotherapy in locally advanced esophageal cancer. *Journal of the Korean Society for Therapeutic Radiology and Oncology* 2011; 29(1): 20-7.
 22. Liu HC, Hung SK, Huang CJ, Chen CC, Chen MJ, Chang CC, et al. Esophagectomy for locally advanced esophageal cancer, followed by chemoradiotherapy and adjuvant chemotherapy. *World J Gastroenterol* 2005; 11(34): 5367-72.

Influence of Chemoradiotherapy Strategies and Factors on the Five-Years Survival of Patients with Esophageal Cancer

Seyed Kazem Mirinezhad MD¹, Mohammad Hossein Somi MD², Farshad Seyednezhad MD³, Amir Ghasemi-Jangjoo MD³, Morteza Ghojzadeh PhD⁴, Mohammad Mohammadzadeh MD⁵, Ali Reza Naseri MD³, Behnam Naseri MD⁶, Shahnaz Naghashi MD⁷

Original Article

Abstract

Background: Iran is one of the areas with higher incidence of esophageal cancer in the world. The survival benefit of surgery followed by adjuvant therapy has been demonstrated and widely accepted as a standard therapy in other gastrointestinal malignancies. Definitive chemoradiotherapy (DCRT) is used for locally advanced esophageal cancer and for inoperable tumors, thus is an alternative to surgical treatment. The purpose of the current study was to evaluate the effects of definitive and adjuvant therapy on survival of patients with esophageal cancer.

Methods: This retrospective study was conducted in North-West of Iran during 2006-2011, included 331 consecutive patients with esophageal cancer referred to Radiation Oncology Therapy Center of Imam Reza (AS) Hospital in Tabriz, Iran. Health status of patients was followed by telephone contact. Survival rate and the impact of demographic characteristics, treatment modulatory and chemoradiotherapy factors in survival rate was analyzed using Kaplan-Meier Life Table and Cox regression test in SPSS software.

Findings: Median survival was 14.2 months (CI 95%: 16.6-12.33). The 1, 3 and 5-year overall survival rates of all patients were 60, 21 and 16%, respectively. The factors influencing survival rate were age at diagnosis ($P < 0.001$), stage of disease ($P < 0.001$), tumor differentiation ($P = 0.020$), treatment modulatory ($P < 0.001$), radiation dose ($P = 0.010$), and type of drugs used in chemotherapy ($P = 0.010$). Among those six significant variables, independent prognostic factor for survival determined via multivariate analysis, was the radiation dose.

Conclusion: The results of this study indicate that survival rates of esophageal cancer in our patients are poor. Early detection and improved treatment methods via clinical trials would help to extend the life of patients in the future.

Keywords: Survival, Esophageal cancer, Chemoradiotherapy

Citation: Mirinezhad SK, Somi MH, Seyednezhad F, Ghasemi Jangjoo A, Ghojzadeh M, Mohammadzadeh M, et al. **Influence of chemoradio therapeutic strategies and factors on the five years survival of Patients with Esophageal Cancer.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(291): 982-90

1- PhD By Research Student, Liver and Gastrointestinal Disease Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

2- Professor, Liver and Gastrointestinal Disease Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

3- Assistant Professor, Department of Radiology and Radiotherapy, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

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

5- Associate Professor, Department of Radiology and Radiotherapy, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

6- Radiotrapist, Department of Radiology and Radiotherapy, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

7- Researcher, Liver and Gastrointestinal Disease Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Corresponding Author: Shahnaz Naghashi MD, Email: sh_naghashi@yahoo.com

ارزیابی اثرات پیشگیرانه‌ی مخمر غنی شده با سلنیوم بر بافت‌شناسی کبد و فعالیت آنزیم‌های آن پس از القای سرطان کولورکتال در رت

جمیله عابدی^۱، دکتر امیر توکمه‌چی^۲، دکتر وحید نجاتی^۳، دکتر رحیم حب نقی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سرطان کولورکتال از شایع‌ترین علت‌های مرگ ناشی از سرطان در دنیا می‌باشد. مطالعات زیادی پیرامون به کارگیری پروبیوتیک‌ها و سلنیوم در پیشگیری از سرطان‌ها انجام شده است. مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی تغییرات آنزیم‌های کبدی رت شامل آلانین آمینو ترانسفراز (ALT یا Alanine transaminase)، آسپارات آمینو ترانسفراز (AST یا Aspartate transaminase) و آلکالین فسفاتاز (ALP یا Alkaline phosphatase) در سرطان کولون القا شده توسط دی متیل هیدرازین و اثرات پیشگیرانه‌ی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* (اشکال ساده و غنی شده با سلنیوم) انجام گرفت.

روش‌ها: ۴۰ سر موش صحرایی ماده در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۰۰ g به پنج گروه شاهد سالم، شاهد مبتلا به سرطان، مخمر، سلنیوم و مخمر غنی شده با سلنیوم تقسیم شدند. کلیه‌ی حیوانات به جز شاهد سالم، داروی سرطان‌زای دی متیل هیدرازین را دو بار در هفته به مدت پنج هفته و با دوز ۴۰ mg/kg دریافت کردند، اما گروه سالم فقط سرم فیزیولوژی دریافت کردند. گروه سلنیوم، سلنیوم محلول در آب را به مقدار ۴ mg/ml، گروه مخمر همزمان با دی متیل هیدرازین *Saccharomyces cerevisiae* را با تراکم $10^8 \times 5$ CFU/ml و گروه آخر، مخمر غنی شده با سلنیوم را به همین مقدار از طریق گاواژ روزانه دریافت کردند. در پایان هفته‌ی ۴۰، حیوانات تشریح، نمونه‌های خونی تهیه و میزان آنزیم‌ها سنجیده شد.

یافته‌ها: میانگین سطح آنزیم‌ها در گروه شاهد مبتلا به سرطان از همه بالاتر بود و در سایر گروه‌ها، کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). لازم به ذکر است بیشترین کاهش در سطح آنزیمی، مربوط به گروهی بود که مخمر غنی شده با سلنیوم را دریافت کردند.

نتیجه‌گیری: سطح آنزیم‌های کبدی در سرطان کولون القا شده با دی متیل هیدرازین افزایش می‌یابد. استفاده از مخمر غنی شده با سلنیوم، سبب کاهش میزان آنزیم‌های ALT، AST و ALP می‌گردد. مخمر غنی شده با سلنیوم از ایجاد تغییرات بافتی در کبد به هنگام دریافت ماده‌ی سرطان‌زا پیشگیری می‌کند.

واژگان کلیدی: رت، سرطان کولون، دی متیل هیدرازین، آنزیم‌های کبدی، سلنیوم، ساکارومایسس سرویسیه

ارجاع: عابدی جمیله، توکمه‌چی امیر، نجاتی وحید، حب نقی رحیم. ارزیابی اثرات پیشگیرانه‌ی مخمر غنی شده با سلنیوم بر بافت‌شناسی کبد و فعالیت آنزیم‌های آن پس از القای سرطان کولورکتال در رت. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۱):

۹۹۱-۱۰۰۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- استادیار، گروه پاتوبیولوژی و کنترل کیفی، پژوهشکده‌ی آتیمیا و آیزیان، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۴- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

مقدمه

سرطان کولورکتال (Colorectal cancer) از شایع‌ترین علت‌های مرگ ناشی از سرطان در دنیا می‌باشد. این بیماری چهارمین سرطان شایع در ایران است که یک پنجم تمام سرطان‌ها را شامل می‌شود (۱). سرطان کولورکتال به دو دسته‌ی ارثی و غیر ارثی طبقه‌بندی می‌شود که ۶۵-۹۵ درصد از نوع غیر ارثی می‌باشد. مطالعات زیادی ارتباط بین عوامل تغذیه و سرطان روده‌ی بزرگ را ثابت کرده است. برای مثال، می‌توان به میزان بالای چربی در رژیم غذایی به خصوص چربی حیوانی، گوشت قرمز، کتواستروئیدها (محصولات متابولیکی کلسترول)، محصولات پیرولیز (ترکیبات حاصل از کباب کردن یا سرخ کردن گوشت)، مصرف روزانه‌ی الکل، مصرف داروهای غیر استروئیدی اشاره داشت (۲). در مقابل، تغذیه‌ی با چربی پایین، کلسیم بالا و مصرف روزانه‌ی سبزیجات در رژیم غذایی، خطر ابتلا به سرطان کولورکتال را کاهش می‌دهد (۳).

از آن جایی که سرطان یک فرایند چند مرحله‌ای است، در مراحل ابتدایی پیشرفت آن به صورت کند است و در زمان طولانی اتفاق می‌افتد، اما در ادامه به صورت خیلی سریع پیشرفت می‌کند. هدف اصلی در پیشگیری از سرطان توسط مواد طبیعی یا مصنوعی، تأثیر بر فرایند سرطان‌زایی از طریق کند کردن و یا مهار این فرایند و یا معکوس کردن آن می‌باشد (۴).

روش‌های متعددی برای درمان سرطان کولورکتال استفاده می‌شود که نوع روش درمانی بر اساس مرحله‌ی بیماری و پیشرفت آن متفاوت می‌باشد. یکی از رایج‌ترین روش‌های درمانی برای تومورهای

متاستاتیک استفاده از داروهای مختلف ضد التهابی و نیز داروهای شیمی درمانی است. اما عدم موفقیت کامل در درمان این بیماری به دلایل مختلفی است که مقاوم شدن همزمان سلول‌های سرطانی نسبت به داروهای مختلف، از مهم‌ترین این دلایل می‌باشد؛ همچنین این روش‌های درمانی دارای عوارضی هستند. بنابراین پیشگیری از این عارضه با رژیم غذایی و ترکیبات طبیعی، می‌تواند در بروز یا کاهش شدت بیماری نقش مهمی داشته باشد (۲).

پروبیوتیک‌ها دسته‌ای از میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف به میزان کافی، اثرات مفیدی بر سلامتی می‌گذارند. پروبیوتیک‌ها خاصیت ضد سرطانی دارند و این عمل را با خنثی‌سازی اثر آسیب رساننده‌های ژنی در روده انجام می‌دهند (۵). پروبیوتیک‌ها غلظت آنزیم‌های مدفوعی و نمک‌های صفراوی را کم می‌کنند و با کاهش جذب موثاژن‌های مضر که عامل سرطان کولون هستند، نقش مؤثری در پیشگیری از این بیماری دارند. یکی از عواملی که می‌تواند در کنترل سرطان کمک کننده باشد، تقویت سیستم ایمنی است. امروزه یکی از مهم‌ترین موارد مطرح در زمینه‌ی تقویت سیستم ایمنی پروبیوتیک‌ها می‌باشند (۶). به کارگیری پروبیوتیک‌ها در پیشگیری از بیماری‌ها و بهبود وضعیت سلامتی انسان و دام، پیشینه‌ی چندین هزار ساله دارد (۷). مطالعات نشان داده است که *Saccharomyces cerevisiae* کشته شده با حرارت، توانایی ایجاد آپوپتوز و مرگ سلولی را در رده‌های سرطانی پستان (MCF-۷ و ZR-۶۵، HCC-۷۰) دارد (۶).

سلنیوم اثر حفاظتی در برابر عوامل مختلف

روش‌ها

روش آماده‌سازی مخمر و غنی‌سازی با سلنیوم

مخمر مورد استفاده در این تحقیق از مرکز کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های صنعتی ایران (PTCC ۵۲۶۹) تهیه شد. همچنین نمک سلنیت سدیم (Na_2SeO_3) از شرکت سیگما (آمریکا) تهیه گردید. غنی‌سازی مخمر بر اساس روش استاندارد Yin و همکاران انجام شد (۱۲). ابتدا محیط کشت مخمر حاوی عصاره‌ی مخمر (۲ درصد)، گلوکز (۵ درصد) و K_2HPO_4 (۱ درصد) تهیه شد. سپس pH آن برابر با ۵/۸ تنظیم شد. در نهایت، محیط کشت به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. در مرحله‌ی بعد، به دو ظرف مجزای حاوی ۹۰ ml محیط کشت در شرایط استریل ۱۰ mg مخمر افزوده و اجازه داده شد مخمر در دمای $27/4^\circ\text{C}$ به مدت ۱۲ ساعت در انکوباتور شیکردار رشد نمایند.

بعد از ۱۲ ساعت به یکی از محیط کشت مخمرها مقدار $90 \mu\text{l}$ سلنیت سدیم با غلظت 10 mg/ml اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون در شرایط قبلی ادامه یافت. ظرف دیگر، بدون اضافه کردن سلنیوم به حالت خالص و به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. سپس هم مخمر غنی شده با سلنیوم و هم مخمر ساده به صورت جدا و با 3000 دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و دو مرتبه با سرم فیزیولوژی استریل شستشو داده شد. سپس با سرم فیزیولوژی استریل رقیق و با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج 660 nm در نور جذبی $1/57$ تنظیم گردید تا تراکم $10^8 \times \text{CFU/ml}$ از سلول مخمر به دست آید.

تهیه‌ی حیوانات و گروه‌بندی آن‌ها

حیوانات مورد استفاده در این مطالعه، ۴۰ سر موش

کارسینوژن دارد. همچنین این عنصر اثر معکوس در پیشرفت سرطان در مراحل ابتدایی دارد (۸). هر چند مکانسیم فعالیت ضد سرطانی این عنصر به طور کامل شناخته نشده است، اما می‌توان گفت این عنصر به عنوان آنتی اکسیدان و دفع کننده‌ی سموم و محافظ سیستم ایمنی است و در جلوگیری از رشد سلول‌های توموری و مهار رگ‌زایی نقش دارد (۹). سلنیوم یکی از اجزای مهم دو آنزیم تتورودکسین ردوکتاز و گلوکوتایون پراکسیداز است که این آنزیم‌ها در بدن به عنوان آنتی اکسیدان عمل می‌کنند (۹).

مطالعات انجام گرفته توسط Rayman نشان می‌دهد که مصرف مخمر غنی شده با سلنیوم (شکل آلی این عنصر)، می‌تواند در مقایسه با سلنیوم معدنی، میزان این عنصر را به مقدار طبیعی در سرم خون برساند (۱۰).

در ارزیابی آسیب کبدی، سنجش سطوح آنزیم‌هایی نظیر (Alanine aminotransferase)، ALT (Alkaline phosphatase)، ALP و AST (Aspartate aminotransferase) به طور وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرد. وقوع نکروز یا آسیب غشای سلول باعث رها شدن این آنزیم‌ها به خون می‌شود. سطوح افزایش یافته‌ی این آنزیم‌های سرمی، حاکی از نشت سلولی و نشان‌گر آسیب ساختار و اختلال عملکرد غشاهای سلولی در کبد می‌باشد (۱۱).

هدف از این مطالعه بررسی تغییرات آنزیم‌های کبدی در سرطان کولون القا شده و تأثیر دی متیل هیدرازین، پروبیوتیک *Saccharomyces cerevisiae*، سلنیوم و ترکیب *Saccharomyces cerevisiae* با سلنیوم بر سطح این آنزیم‌ها می‌باشد.

صحرایی ماده‌ی نژاد ویستار بودند که از خانه‌ی حیوانات دانشکده‌ی علوم، دانشگاه ارومیه تهیه شدند. موش‌ها در محدوده‌ی سنی ۵-۴ هفته و وزنی ۲۵۰-۲۰۰ g قرار داشتند. آن‌ها در اتاق با درجه حرارت ۲۵-۲۰ °C و با شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. پس از سه هفته سازگاری حیوانات با شرایط محیط، به صورت تصادفی به پنج گروه ۸ تایی تقسیم شدند.

گروه اول به عنوان شاهد سالم در نظر گرفته شد و گروه دوم، سوم، چهارم و پنجم جهت القای کارسینوم کولون، ماده‌ی سرطان‌زای ۱ و ۲ دی متیل هیدرازین را با دوز ۴۰ mg/kg وزن بدن و به صورت زیر جلدی، دو بار در هفته و به مدت ۵ هفته دریافت کردند. گروه دوم همزمان با دریافت ماده‌ی سرطان‌زا، سلنیوم را به صورت محلول در آب خوراکی و به مقدار ۴ mg/l دریافت کردند (۹).

همزمان با دی متیل هیدرازین، گروه سوم مخمر *Saccharomyces cerevisiae* را با 5×10^8 CFU/ml و گروه چهارم مخمر غنی شده با سلنیوم را به همین غلظت و میزان از طریق گاواژ روزانه دریافت کردند. گروه پنجم به عنوان شاهد مبتلا به سرطان تنها ماده‌ی سرطان‌زا را دریافت کردند. حیوانات گروه اول (شاهد سالم) با سرم فیزیولوژی گاواژ شدند. مدت تیمار در این گروه‌ها ۱۰ هفته ادامه یافت که همزمان با اولین تزریق دی متیل هیدرازین شروع شد و تا ۵ هفته بعد از آخرین تزریق ادامه یافت. جهت ایجاد کارسینوم کولون، رت‌ها تا هفته ۴۰ با آب و غذای معمولی تغذیه شدند.

صحرایی ماده‌ی نژاد ویستار بودند که از خانه‌ی حیوانات دانشکده‌ی علوم، دانشگاه ارومیه تهیه شدند. موش‌ها در محدوده‌ی سنی ۵-۴ هفته و وزنی ۲۵۰-۲۰۰ g قرار داشتند. آن‌ها در اتاق با درجه حرارت ۲۵-۲۰ °C و با شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. پس از سه هفته سازگاری حیوانات با شرایط محیط، به صورت تصادفی به پنج گروه ۸ تایی تقسیم شدند.

گروه اول به عنوان شاهد سالم در نظر گرفته شد و گروه دوم، سوم، چهارم و پنجم جهت القای کارسینوم کولون، ماده‌ی سرطان‌زای ۱ و ۲ دی متیل هیدرازین را با دوز ۴۰ mg/kg وزن بدن و به صورت زیر جلدی، دو بار در هفته و به مدت ۵ هفته دریافت کردند. گروه دوم همزمان با دریافت ماده‌ی سرطان‌زا، سلنیوم را به صورت محلول در آب خوراکی و به مقدار ۴ mg/l دریافت کردند (۹).

القای سرطان

ماده‌ی کارسینوژن دی متیل هیدرازین (DMH) یا

سنجش آنزیم‌ها

سنجش آنزیم‌های ALT، AST و ALP با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالیزور مدل BT۳۰۰۰ اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) یا (One-way analysis of variance)، نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون Tokey استفاده شد. در تمام بررسی‌ها، سطح معنی‌دار بودن آزمون‌ها $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

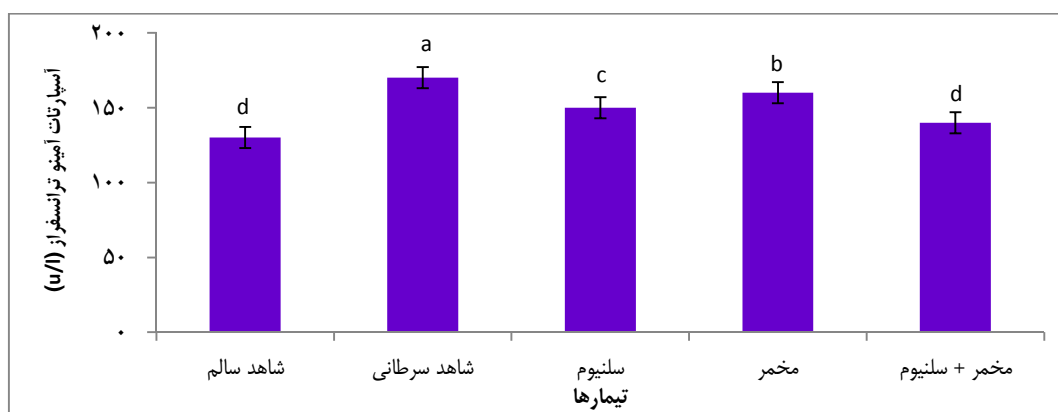
یافته‌ها نشان داد که سطح آنزیم آسپاراتات (AST) در هر چهار گروه دریافت‌کننده‌ی دی متیل هیدرازین نسبت به گروه شاهد سالم افزایش یافته است که این

مخمر غنی شده با سلنیوم را همراه با کارسینوژن دریافت کرده بودند، کاهش بیشتری نسبت به هر دو تیمار (مخمر و سلنیوم) نشان داد و کاهش معنی‌داری ($P < 0/050$) نسبت به گروه شاهد مبتلا به سرطان داشت. هر چند سطح آنزیم به اندازه‌ی آن در گروه شاهد سالم نرسید، اما تفاوت معنی‌داری ($P < 0/050$) نیز با آن نداشت.

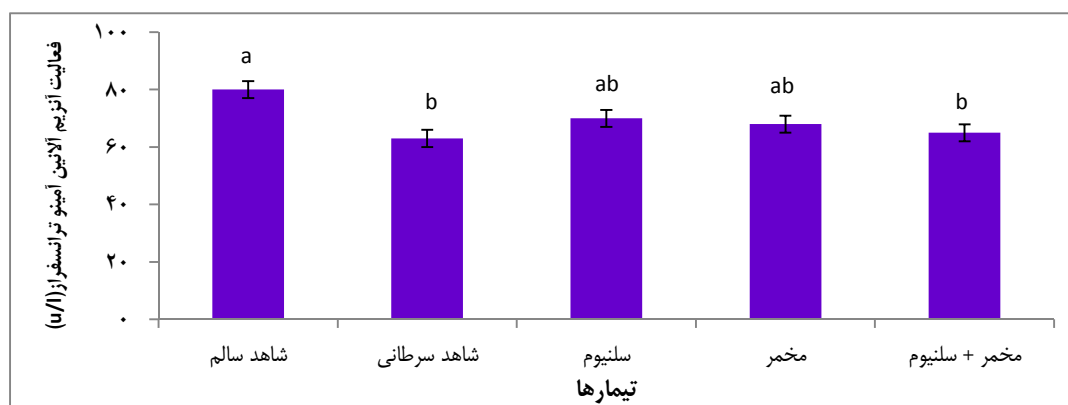
در بررسی فعالیت آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) سرم، افزایش سطح آن در گروه شاهد مبتلا به سرطان نسبت به گروه شاهد سالم مشاهده شد (شکل ۲).

افزایش در گروه دوم که تنها دی‌متیل هیدرازین دریافت کردند، معنی‌دار بود. شکل ۱ نشان می‌دهد تیمار با پروبیوتیک توانسته است تأثیر معنی‌دار ($P < 0/050$) بر کاهش سطح آنزیم نسبت به گروه شاهد مبتلا به سرطان داشته باشد. هر چند که این میزان کاهش به سطح شاهد سالم نرسیده است و تفاوت معنی‌دار ($P < 0/050$) بین این دو گروه است.

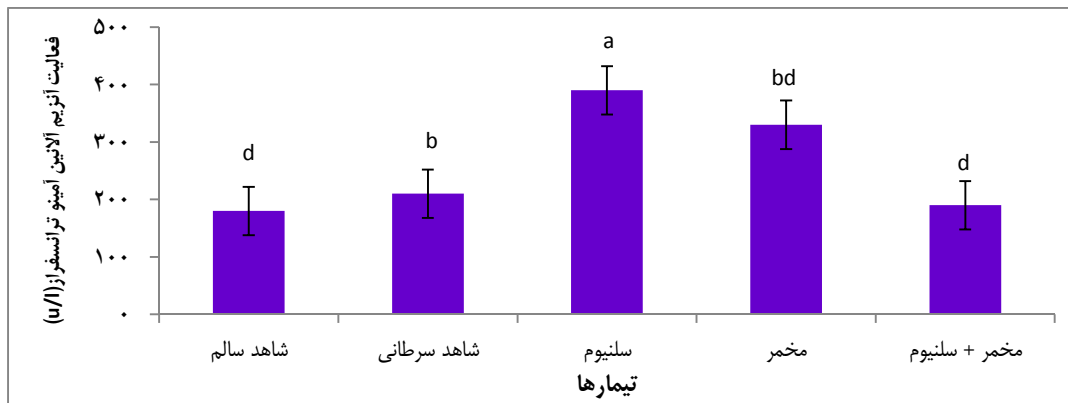
سطح آنزیم در گروه سلنیوم نیز تفاوت معنی‌داری ($P < 0/050$) را با شاهد مبتلا به سرطان نشان داد و این کاهش بیشتر از گروه مخمر بود. گروه پنجم که



شکل ۱. سطح آنزیم AST (Aspartate transaminase) سرم تیمارهای مختلف. حروف متفاوت نشان دهنده‌ی وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0/050$ می‌باشد.



شکل ۲. سطح آنزیم ALT (Alanine transaminase) سرم تیمارهای مختلف. حروف متفاوت نشان دهنده‌ی وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0/050$ می‌باشد.



شکل ۳. سطح آنزیم ALP (Alkaline phosphatase) سرم تیمارهای مختلف. حروف متفاوت نشان دهنده‌ی وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0/050$ می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژیکی بافت کبد

برای بررسی این احتمال که در اثر استفاده از دی متیل هیدرازین در کبد، تغییرات بافت شناسی ایجاد شده است، مقطع‌گیری از کبد سه گروه شاهد سالم، مخمر غنی شده با سلنیوم و گروه شاهد مبتلا به سرطان انجام شد. نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژی بافت کبد حاکی از آسیب دیدگی کبد در موش‌های مبتلا به سرطان بود. این آسیب دیدگی، به صورت تشکیل کانون‌های آماسی فراوان در نقاط مختلف کبد این گروه بود. همان‌طور که شکل ۴ نشان می‌دهد، در کبد موش سالم فضای پورت و فضاهای سینوزوئیدی به صورت طبیعی دیده می‌شود (الف)، اما در کبد موش شاهد مبتلا به سرطان، سلول‌ها تحلیل رفته‌اند و فضاهای سینوزوئیدی گسترده‌تر شده‌اند. وجود کانون‌های آماسی در فضای پورت مشاهده می‌گردد (ج)، همچنین در کبد موش شاهد مبتلا به سرطان، سلول‌های غیر طبیعی و تغییر یافته هر چند به تعداد کم دیده می‌شود (ب). در کبد موش تیمار شده با ترکیب مخمر غنی شده با سلنیوم، نسبت به موش شاهد مبتلا به سرطان، کاهش

سطح آنزیم در گروه‌هایی که به همراه دی متیل هیدرازین، مخمر، سلنیوم و مخمر غنی شده با سلنیوم را دریافت کردند، نسبت به شاهد مبتلا به سرطان کاهش و نسبت به شاهد سالم افزایش داشت، اما هیچ کدام از این تغییرات معنی‌دار نبود. ($P < 0/050$)

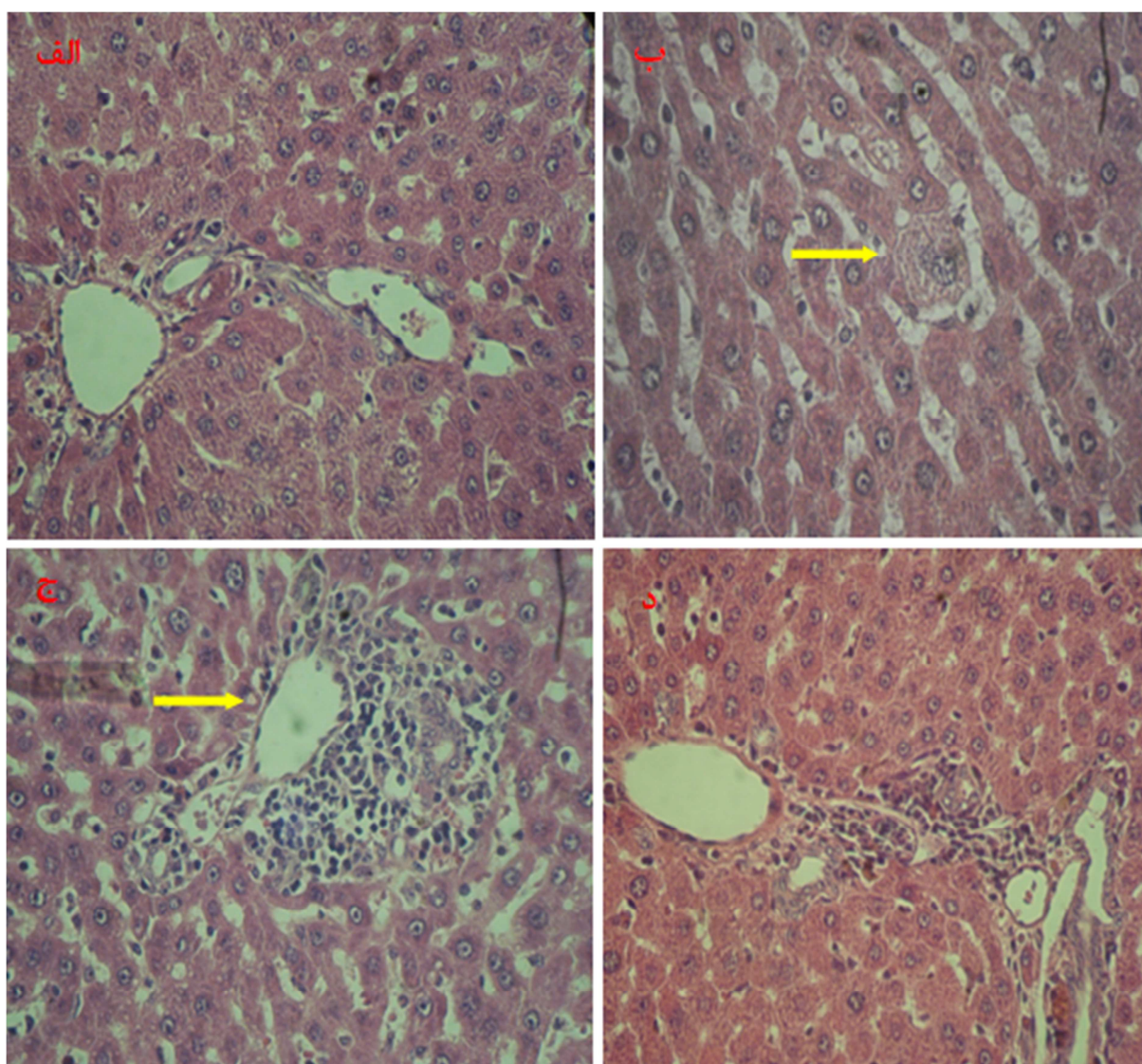
نتایج آنالیز بیوشیمیایی آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) طبق شکل ۳ نشان داد که سطح آنزیم به طور معنی‌داری ($P < 0/050$) در گروه شاهد مبتلا به سرطان نسبت به گروه تحت تیمار افزایش یافته است. همچنین گروه تیمار شده با سلنیوم، تفاوت معنی‌داری ($P < 0/050$) با شاهد سالم و بقیه‌ی گروه‌ها نشان داد؛ به طوری که میزان افزایش آن از گروه شاهد مبتلا به سرطان نیز بیشتر بود.

گروه‌های تیمار شده با مخمر و مخمر غنی شده با سلنیوم، کاهش قابل توجهی نسبت به گروه شاهد مبتلا به سرطان نشان دادند؛ به طوری که سطح این آنزیم در گروه تغذیه شده با مخمر غنی شده، نزدیک به شاهد سالم بود و تفاوت معنی‌داری ($P < 0/050$) با گروه شاهد سالم نشان نداد.

در کانون‌های آماسی دیده می‌شود و فضای پورت به طور تقریبی سالم است و فضاهای سینوزوئیدی تا حدودی در حالت طبیعی است و تحلیل رفتن سلول‌ها نسبت به موش شاهد مبتلا به سرطان کمتر است (د).

این مطالعات بافتی نشان می‌دهد که استفاده از

ترکیب مخمر غنی شده با سلنیوم تأثیر چشمگیری در جلوگیری از تشکیل کانون‌های آماسی و تخریب کبدی در برابر مواد سرطان‌زا دارد و تغذیه با این ترکیب (مخمر غنی شده با سلنیوم) از آسیب سلول‌های کبدی در برابر ماده‌ی کارسینوژن دی متیل هیدرازین تا حدی زیادی کاسته است.



شکل ۴. برش بافتی کبد: کبد موش شاهد سالم فضای پورت سالم و فضاهای سینوزوئیدی طبیعی (الف)، کبد موش شاهد مبتلا به سرطان، افزایش فضاهای سینوزوئیدی و وجود کانون‌های آماسی هم در فضای پورت و هم در سینوزوئید. فلش قسمت (ب) نشان دهنده‌ی سلول تغییر یافته و غیر طبیعی، در قسمت (ج) فلش نشان دهنده‌ی کانون آماسی در فضای پورت است. کبد موش تیمار شده با ترکیب سلنیوم و مخمر که نسبت به شاهد مبتلا به سرطان در کانون‌های آماسی دیده کاهش می‌شود و فضای پورت سالم است (د).

بحث

فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم برای ارزیابی عملکرد آن مورد استفاده قرار می‌گیرند و افزایش در فعالیت آن‌ها، مربوط به نابودی هپاتوسیت‌ها یا آسیب کبدی صرف نظر از علت آن می‌باشد (۱۳). وقوع نکروز یا آسیب غشای سلول، باعث رها شدن این آنزیم‌ها به گردش خون می‌شود. افزایش سطح AST، آسیب کبد هنگام ابتلا به بعضی بیماری‌ها نظیر هپاتیت‌های ویروسی، انفارکتوس قلبی و صدمات عضلانی را نشان می‌دهد. ALT که تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز می‌کند، برای کبد اختصاصی است و پارامتر مناسب‌تری برای تشخیص آسیب کبد می‌باشد (۱۴).

بر خلاف ALT که به طور عمده در کبد یافت می‌شود، AST در بسیاری از بافت‌های دیگر از جمله قلب، عضلات اسکلتی، کلیه و مغز یافت می‌شود و از این رو کمتر به عنوان یک عامل اختصاصی در بیماری‌های کبدی مطرح است. به طور تقریبی در تمام آسیب‌های کبدی سطح این دو آنزیم بالا می‌رود و بالاترین مقدار در نکروز شدید کبد برای مثال در ضایعات کبدی ناشی از سموم و کلاپس دراز مدت خون رخ می‌دهد (۱۳).

افزایش سطح سرمی ALP به دلیل افزایش تولید در حضور فشار فزاینده‌ی صفراوی است (۱۴). این افزایش غلظت به طور معمول بیانگر اختلال در عملکرد سیستم صفراوی است.

نتایج این مطالعه نشان داد که سطح هر سه آنزیم در گروه شاهد مبتلا به سرطان نسبت به شاهد سالم افزایش دارد. هر چند که این افزایش در ALT معنی‌دار نبود، اما دو آنزیم دیگر افزایش معنی‌داری را

نشان دادند ($P < 0/050$). این می‌تواند به دلیل تأثیر سمیت DMH کبد و یا از بین رفتن ثبات غشای هپاتوسیت‌ها باشد. این ماده‌ی سرطان‌زا در کبد و کولون توسط سیتوکروم $p450$ به متابولیت فعال Methyldiazuniom تبدیل می‌شود که این متابولیت فعال باعث ایجاد جهش می‌گردد. سپس این متابولیت فعال با اتصال به DNA باعث ایجاد جهش‌های O^۶-متیل گوانین در DNA می‌شود (۲). دادخواه و همکاران نشان دادند که DMH باعث اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد می‌شود. همچنین گزارش کردند میزان فعالیت آنزیم‌های متابولیزه‌کننده‌ی مواد سمی در کبد و کولون در اثر DMH افزایش می‌یابد (۲).

سطح آنزیم ALT در هر سه گروه تیمار شده با مخمر، سلنیوم و مخمر غنی شده با سلنیوم در مقایسه با گروه شاهد مبتلا به سرطان کاهش نشان داد؛ اما این کاهش معنی‌دار نبود ($P < 0/050$). در گروه تحت تیمار با مخمر غنی شده با سلنیوم، کاهش بیشتری نسبت به دو گروه دیگر دیده شد.

در سنجش آنزیم AST تفاوت معنی‌داری ($P < 0/050$) بین گروه شاهد سالم و مبتلا به سرطان وجود داشت، که این افزایش در ضایعات کبدی دیده می‌شود. هر چند در سایر گروه‌های تیمار شده با DMH این افزایش دیده می‌شود، اما میزان افزایش آن در گروه تیمار شده با مخمر و سلنیوم و مخمر غنی شده با سلنیوم کمتر از گروه شاهد مبتلا به سرطان است و این کاهش در گروه تیمار شده با مخمر غنی شده با سلنیوم، نسبت به شاهد مبتلا به سرطان معنی‌دار است ($P < 0/050$).

نتایج بیوشیمیایی حاصل از سنجش آنزیم ALP

بالا ممکن است یک عنصر ضروری برای بدن باشد. یکی از نقش‌های سلنیوم به عنوان یک ماده‌ی مغذی پیشگیری کننده از سرطان است (۱۸).

در بررسی آنزیم AST کاهش معنی‌دار بین گروه سلنیوم با گروه شاهد سالم مشاهده شد و در آنزیم ALT نیز کاهش در سطح آنزیم در گروه سلنیوم دیده شد؛ هر چند این کاهش معنی‌دار نبود ($P < 0/050$). این تأثیر ممکن است به علت داشتن خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و نقش مهم آن در حذف رادیکال‌های آزاد باشد که باعث تعدیل آنزیم‌های کبدی می‌شود. اما نتایج مربوط به آنزیم ALP نشان داد که گروه تغذیه شده با سلنیوم نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری دارد. این می‌تواند به علت اثر جانبی و ایجاد سمیت دارویی بر روی سلول‌های کبدی و یا انسداد مجاری صفروای در اثر مصرف سلنیوم معدنی باشد. همچنین افزایش می‌تواند دلایل دیگری نیز داشته باشد، برای مثال پازوکی و همکاران بیان کردند که غلظت سرمی آلکالین فسفاتاز می‌تواند هم منشأ کبدی و هم منشأ غیر کبدی داشته باشد، برای مثال در برخی بیماری‌های استخوانی و برخی بدخیمی‌ها افزایش می‌یابد. گاهی تومورها قادر به تولید آلکالین فسفاتاز هستند (۱۳).

در هر سه آنزیم سنجیده شده، سطح کاهش در گروه مخمر غنی شده با سلنیوم نسبت به سایر تیمارها بیشتر است و این کاهش در AST هم نسبت به گروه شاهد مبتلا به سرطان و هم نسبت به تیمار مخمر معنی‌دار بود ($P < 0/050$). در آنزیم ALP این کاهش معنی‌دار نسبت به هر سه گروه (شاهد مبتلا به سرطان، مخمر و سلنیوم) مشاهده شد؛ به طوری که نزدیک به شاهد سالم بود و تفاوت معنی‌داری با سالم نداشت.

نیز افزایش معنی‌دار ($P < 0/050$) بین گروه‌های شاهد سالم و شاهد مبتلا به سرطان و کاهش در حد معنی‌داری ($P < 0/050$) در گروه مخمر و مخمر غنی شده با سلنیوم را نشان داد. اما در گروه تیمار شده با سلنیوم، افزایش سطح آنزیم حتی بیشتر از شاهد مبتلا به سرطان مشاهده شد.

Ng و همکاران نشان دادند پروبیوتیک‌ها از جذب سموم جلوگیری می‌کنند و با کاهش جذب آمونیاک و سموم، سبب کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو می‌شوند (۸). در نتیجه، به درمان بیماری‌های کبدی کمک می‌کنند و از ابتلا به بیماری‌های کبدی نیز پیشگیری می‌کنند. همچنین Shida و همکاران بیان کردند که پروبیوتیک‌ها می‌توانند موجب کاهش میزان سرطان‌ها، بیماری‌های عفونی، بهبود بیماری‌های التهابی روده و همچنین جلوگیری از آلرژی‌ها در مدل‌های تجربی حیوانی و انسان شوند (۱۵). کاهش در سطح سرمی آنزیم‌های کبدی در گروه‌های تیمار شده با پروبیوتیک‌ها نتیجه‌ی افزایش پاسخ ایمنی و کاهش استرس‌های ناشی از بیماری‌ها در کبد می‌باشد (۱۶). در مطالعه‌ی حاضر نیز تیمار با مخمر توانست سطح هر سه آنزیم را نسبت به گروه شاهد مبتلا به سرطان کاهش دهد.

Sumar و Foster گزارش کردند که ارتباط اکولوژیک بین میزان سلنیوم موجود در گیاهان و میزان مرگ و میر سرطان‌ها در ایالات متحده، دلالت بر اثرات ضد سرطانی این عنصر دارد. البته باید توجه داشت که سلنیوم در میزان بالا می‌تواند سمی باشد و خطر بروز سرطان را افزایش دهد (۱۷).

Schwarz و Foltz برای اولین بار پیشنهاد کردند که سلنیوم با وجود ویژگی‌های سمیت در غلظت‌های

نیز حجم خون وارد شده به سینوزوئیدها را تحت تأثیر قرار دهد. در ضمن، ورود محصولات سرطانی از سیستم باب به کبد می‌تواند توجه‌کننده‌ی حضور سلول‌های التهابی در فضاهای پورت کبد و سینوزوئیدها باشد. پروبیوتیک‌ها با کاهش جذب سموم، سبب کاهش التهاب و آسیب کبدی می‌شوند و از بیماری‌های کبدی پیشگیری می‌کنند (۱۹).

Yu و همکاران استفاده از مکمل سلنیوم را برای پیشگیری از سرطان اولیه‌ی کبدی و همچنین سایر بیماری‌های کبدی نظیر هپاتیت B مؤثر دانستند (۲۰). همچنین به گفته‌ی این پژوهشگران، سلنیوم با اثر بر روی سیستم ایمنی و شرکت در پاسخ‌های اولیه و ثانویه‌ی ایمنی و جلوگیری از مسمومیت سلولی، از آسیب بافت کبد در آغاز سرطان کبدی جلوگیری می‌کند. Chen و همکاران گزارش کردند که ترکیبات استخراج شده از مخمر با مهار رشد سلولی و تنظیم چرخه‌ی سلولی باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی کبد انسانی می‌شوند (۲۱).

Yu و همکاران همچنین اثربخشی سلنیوم غنی شده در مخمر را برای پیشگیری از آسیب کبدی در مراحل ابتدایی سرطان کبدی گزارش کردند (۲۰). نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد که استفاده از مخمر غنی شده با سلنیوم می‌تواند از اثرات آسیب DMH بر روی بافت کبد و سلول‌های کبدی بکاهد. با استفاده از ترکیب مخمر غنی شده با سلنیوم، تأثیر چشمگیری در جلوگیری از تشکیل کانون‌های آماسی و تخریب کبدی در برابر ماده‌ی سرطان‌زا مشاهده شد.

تحت شرایط مناسب مخمرها قادر هستند مقادیر زیادی از ریز عنصرها مثل سلنیوم را در خود جذب کنند. ریز عنصرها در اشکال آلی سمیت کمتری

کبد یکی از اندام‌های اصلی جانوران است. برای بررسی‌های پاتولوژیک کبد مناسب است؛ زیرا ضایعات پاتولوژیک ناشی از مواد شیمیایی و سمی در آن ایجاد می‌شود. کبد نقش مهمی در متابولیسم و دفع مواد زاید شیمیایی و فلزات سنگین ایفا می‌کند و غلظت این مواد سمی در کبد بیشتر از سایر ارگان‌های بدن است. بنابراین سلول‌های کبدی اولین هدف مواد سمی هستند.

برای بررسی این احتمال که در اثر استفاده از دی متیل هیدرازین در کبد تغییرات بافت شناسی ایجاد شده است، مقطع‌گیری از کبد سه گروه شاهد سالم، مخمر غنی شده با سلنیوم و گروه شاهد مبتلا به سرطان انجام شد. نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژی بافت کبد حاکی از آسیب دیدگی در موش‌های مبتلا به سرطان بود که این آسیب دیدگی به صورت تشکیل کانون‌های آماسی فراوان در نقاط مختلف کبد این گروه می‌باشد. نتایج بررسی‌ها نشان داد که استفاده از داروی کارسینوژن باعث آسیب در بافت کبد شده است؛ به طوری که کانون‌های آماسی هم در فضای پورت و هم در سایر قسمت‌های کبد مشاهده می‌شود. در توضیح آن باید گفت این ضایعات در کبد اگر چه به طور مستقیم مرتبط با تغییرات نئوپلاستیک نمی‌باشند؛ اما می‌تواند به صورت غیر مستقیم بازتابی از سرطان در کولون باشد.

با توجه به این‌که یکی از عروق تأمین‌کننده‌ی خون‌رسانی کبد، سیستم باب کبدی است و این شبکه‌ی عروقی، خون سیاهرگی حاوی مواد غذایی را از لوله‌ی گوارشی به کبد حمل می‌کند، هر گونه توده‌ی اضافی فشارنده به این سیستم، می‌تواند بر خون‌رسانی کبد تأثیر بگذارد، تغذیه‌ی هپاتوسیت‌ها و

مخمر غنی شده با سلنیوم سبب کاهش آنزیم های ALT، AST و ALP می‌گردد. مهم‌ترین توجیه آن است که سلنیوم غنی شده در مخمر به فرم سلنو متیونین است که در مقایسه با سایر شکل‌های سلنیوم بهتر جذب می‌شود و قابلیت دسترسی زیستی (Bioavailability) بالاتری دارد. مطالعات بافتی نیز نشان داد که استفاده از ترکیب مخمر با سلنیوم تأثیر چشمگیری در جلوگیری از تشکیل کانون‌های آماسی و تخریب کبدی در برابر مواد سرطان‌زا دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از حمایت‌های مالی دانشکده‌ی علوم دانشگاه ارومیه ابراز می‌دارند.

دارند. مخمرها قادر به تجمع مواد معدنی مختلف و تشکیل گیرنده‌های آلی در غلظت‌های خیلی بالاتر از حالت طبیعی هستند (۲۲).

Utterback و همکاران گزارش کردند سلنومخمر موجب افزایش بیشتری در سلنیوم تخم‌مرغ در مقایسه با سلنیت سدیم می‌شود. یکی از علل بالا بودن سلنیوم با استفاده از سلنومخمر این است که سلنیوم موجود در سلنومخمر به طور عمده به شکل سلنومیتونین می‌تواند در ساختمان پروتئین‌ها وارد شود. در حالی که منابع غیر آلی سلنیوم مانند سلنیت سدیم در دسترس نیستند (۲۳).

بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که سطح آنزیم‌های کبدی در سرطان کولون القا شده با دی متیل هیدرازین افزایش می‌یابد. استفاده از

References

- Mahdavinia M, Bishehsari F, Ansari R, Norouzbeigi N, Khaleghinejad A, Hormazdi M, et al. Family history of colorectal cancer in Iran. *BMC Cancer* 2005; 5: 112.
- Dadkhah A, Fatemi F. Effects of anti tomuric property of black cumin on induced colon cancer with dimethyl hydrazine in rat. *Proceedings of the 1st Province Seminar of the latest Findings of the Clinical Lab Scinces*; 2009 May 5; Qom, Iran. p. 1-32. [In Persian].
- Manju V, Nalini N. Chemopreventive efficacy of ginger, a naturally occurring anticarcinogen during the initiation, post-initiation stages of 1,2 dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Clin Chim Acta* 2005; 358(1-2): 60-7.
- Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595: 1-75.
- Wollowski I, Reckemmer G, Pool-Zobel BL. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(2 Suppl): 451S-5S.
- Ghoneum M, Matsuura M, Braga M, Gollapudi S. *S. cerevisiae* induces apoptosis in human metastatic breast cancer cells by altering intracellular Ca²⁺ and the ratio of Bax and Bcl-2. *Int J Oncol* 2008; 33(3): 533-9.
- Fuller R, Gibson GR. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1997; 222: 28-31.
- Sakoda LC, Graubard BI, Evans AA, London WT, Lin WY, Shen FM, et al. Toenail selenium and risk of hepatocellular carcinoma mortality in Haimen City, China. *Int J Cancer* 2005; 115(4): 618-24.
- Karunasinghe N, Ferguson LR, Tuckey J, Masters J. Hemolysate thioredoxin reductase and glutathione peroxidase activities correlate with serum selenium in a group of New Zealand men at high prostate cancer risk. *J Nutr* 2006; 136(8): 2232-5.
- Rayman MP. The use of high-selenium yeast to raise selenium status: how does it measure up? *Br J Nutr* 2004; 92(4): 557-73.
- Drotman RB, Lawhorn GT. Serum enzymes as indicators of chemically induced liver damage. *Drug Chem Toxicol* 1978; 1(2): 163-71.
- Yin H, Fan G, Gu Z. Optimization of culture parameters of selenium-enriched yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) by response surface methodology (RSM). *LWT - Food Science and*

- Technology 2010; 43(4): 666-9.
13. Harrison TR. Harrison's principles of internal medicine: Diseases of the liver and bile ducts. Trans. Pazooki B, Moradi Moghaddam A, Nariman Sadad AS. Tabriz, Iran: Zoghi Publication; 1991.
 14. Muriel P, Garciapina T, Perez-Alvarez V, Mourelle M. Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. *J Appl Toxicol* 1992; 12(6): 439-42.
 15. Shida K, Suzuki T, Kiyoshima-Shibata J, Shimada S, Nanno M. Essential roles of monocytes in stimulating human peripheral blood mononuclear cells with *Lactobacillus casei* to produce cytokines and augment natural killer cell activity. *Clin Vaccine Immunol* 2006; 13(9): 997-1003.
 16. Ziaei H, Karimi Tarshizi AM, Bashtani M, Naimipour H, Zeinali A. The effect of antibiotics on alternative compounds inhibit humoral and some parameters of broiler chickens. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 2000; 16(2): 142-53. [In Persian].
 17. Foster LH, Sumar S. Selenium in health and disease: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1997; 37(3): 211-28.
 18. Schwarz K, Foltz CM. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. 1951. *Nutrition* 1999; 15(3): 255.
 19. Ng SC, Hart AL, Kamm MA, Stagg AJ, Knight SC. Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15(2): 300-10.
 20. Yu SY, Zhu YJ, Li WG. Protective role of selenium against hepatitis B virus and primary liver cancer in Qidong. *Biol Trace Elem Res* 1997; 56(1): 117-24.
 21. Chen J, Song X, Zhang H, Qu YB, Miao JY. Sophorolipid produced from the new yeast strain *Wickerhamiella domercqiae* induces apoptosis in H7402 human liver cancer cells. *Appl Microbiol Biotechnol* 2006; 72(1): 52-9.
 22. Ren Z, Zhao Z, Wang Y, Huang K. Preparation of selenium/zinc-enriched probiotics and their effect on blood selenium and zinc concentrations, antioxidant capacities, and intestinal microflora in canine. *Biol Trace Elem Res* 2011; 141(1-3): 170-83.
 23. Utterback PL, Parsons CM, Yoon I, Butler J. Effect of supplementing selenium yeast in diets of laying hens on egg selenium content. *Poult Sci* 2005; 84(12): 1900-1.

Preventive Impacts of Selenium-Enriched Yeast on Liver and Enzyme Activity after Inducing Colorectal Cancer in Rat

Jamileh Abedi¹, Amir Tukmechi PhD², Vahid Nejati PhD³, Rahim Hobbenaghi PhD⁴

Original Article

Abstract

Background: Colorectal cancer is the most common cause of death in the world. More studies were done on using the probiotics and selenium for cancer prevention. In this research, liver enzymes (such as alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase) changes were assessed following dietary administration of *Saccharomyces cerevisiae* (simple and selenium-enriched forms) in the rat with colorectal cancer induced by dimethyl hydrazine.

Methods: Forty female rats, with 200-250 g initial body weight, were divided into five groups as healthy control, cancer control, simple form of yeast, selenium and selenium-enriched yeast. All animals received carcinogenic agent (40 mg/kg body weight) twice weekly for five weeks, except healthy controls which only received normal saline. Selenium group received 4 mg/ml of selenium nitrate in water; *Saccharomyces cerevisiae* was administered at the concentration of 5×10^8 CFU/ml with dimethyl hydrazine in yeast group; the last group received selenium-enriched yeast at the same concentration. At the end of forty weeks after Dimethyl hydrazine injection, all animals were euthanized and blood samples were taken for enzymes assay.

Findings: Although the mean of enzymes activity were higher at cancer control, other groups significantly showed lower enzymes activity ($P < 0.05$). The most decrease of enzyme activity was seen in animals that received selenium-enriched yeast.

Conclusion: The level of liver enzymes activity increases in colorectal cancer induced by dimethyl hydrazine in rat. Selenium-enriched yeast administration in rat could decrease the enzymes level and prevent tissue damage after carcinogenic agent injection.

Keywords: Colorectal cancer, Dimethyl hydrazine, Liver enzymes, Rat, *Saccharomyces cerevisiae*, Selenium

Citation: Abedi J, Tukmechi A, Nejati V, Hobbenaghi R. Preventive Impacts of Selenium-Enriched Yeast on Liver and Enzyme Activity after Inducing Colorectal Cancer in Rat. J Isfahan Med Sch 2014; 32(291): 991-1003

1- MSc Student, Department of Biology, School of Science, Urmia University, Urmia, Iran

2- Assistant Professor, Department of Pathobiology and Quality Control, Artemia and Aquatic Research Institute, Urmia University, Urmia, Iran

3- Associate Professor, Department of Biology, School of Science, Urmia University, Urmia, Iran

4- Associate Professor, Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Corresponding Author: Amir Tukmechi PhD, Email: atokmachi@gmail.com

بررسی کمی اثر رفع انقباضی فراکسیون‌های حاصل از عصاره گیاه Pycnocycla spinosa Decne Ex. Boiss بر انقباضات ایلئوم رت با استفاده از روش Bioassay

دکتر حسن صدرایی^۱، دکتر مصطفی قنادیان^۲، دکتر غلامرضا اصغری^۳، مسعود جاهد^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: عصاره گیاه اندام هوایی گیاه *Pycnocycla spinosa* (*P. spinosa*) دارای اثرات ضد اسپهال و آنتی اسپاسمودیک است و اثر ضد اسپهال آن از نظر کمی و کیفی بسیار به لوپرامید نزدیک است. هدف از این مطالعه، شناسایی فراکسیون فعال جدا شده از عصاره گیاه *P. spinosa* با استفاده از روش Bioassay بر روی انقباضات ایلئوم رت است.

روش‌ها: از اندام هوایی گیاه *P. spinosa* به روش ماسیراسیون عصاره متانولی تهیه و سپس فراکسیون‌های آن بر اساس پلاریته جدا و اثر ضد انقباضی آن‌ها بر روی اسپاسم عضلانی ایجاد شده توسط $KC\ 1$ روی بافت جدا شده ایلئوم تعیین و با عصاره تام مقایسه شد. سپس اثر آنتی اسپاسمی فراکسیون مؤثرتر انتخاب و با عصاره گیاه اندام هوایی و نیز گروه شاهد مقایسه گردید. انقباضات بر اساس حداکثر دامنه انقباضات ثبت شده اندازه‌گیری شد و بر اساس درصد پاسخ اولیه بیان گردید. منحنی غلظت پاسخ برای هر گروه آزمایش رسم گردید و مقدار IC_{50} (غلظتی از عصاره که موجب ۵۰ درصد حداکثر اثر مهار می‌شود) محاسبه شد.

یافته‌ها: از میان هفت فراکسیون جدا شده از عصاره گیاه *P. spinosa*، اولین فراکسیون که غیر پلارترین ترکیبات را نسبت به سایر فراکسیون‌ها دارا می‌باشد، قوی‌ترین اثر رفع انقباضی را دارد.

نتیجه‌گیری: عصاره گیاه *P. spinosa* حاوی ترکیبات فعال متعددی است، اما قدرت آن‌ها با هم متفاوت است. در این تحقیق، قوی‌ترین ترکیبات در فراکسیون اول وجود دارند و از این رو شناسایی ساختار شیمیایی ترکیب موجود در این فراکسیون توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: *Pycnocycla spinosa*، ایلئوم، عصاره، $KC\ 1$ ، فراکسیون، IC_{50}

ارجاع: صدرایی حسن، قنادیان مصطفی، اصغری غلامرضا، جاهد مسعود. بررسی کمی اثر رفع انقباضی فراکسیون‌های حاصل از عصاره گیاه *Pycnocycla spinosa* Decne Ex. Boiss با استفاده از روش Bioassay بر انقباضات ایلئوم رت. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۱): ۱۰۰۶-۱۰۰۴

* این مقاله حاصل پایان‌نامه دوره دکتری مرفه‌ای داروسازی به شماره ۱۸۹۰۹۳ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی و مرکز تحقیقات علوم دارویی و کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: asghari@pharm.mui.ac.ir

نویسنده مسئول: دکتر غلامرضا اصغری

مقدمه

گیاه *Pycnocycla spinosa* (*P. spinosa*) گیاهی از خانواده‌ی چتریان می‌باشد که به صورت وحشی در ایران رشد می‌کند (۱). عصاره‌ی هیدروالکلی اندام هوایی گیاه حاوی ترکیبات شبه آکالوئیدی، شبه فلاونوئیدی و ساپونینی می‌باشد (۲). این عصاره‌ی هیدروالکلی دارای اثرات شل کننده‌ی ایلئوم می‌باشد (۲-۳). همچنین تحقیقات نشان می‌دهد که عصاره‌ی هیدروالکلی اندام هوایی گیاه انقباضات سایر عضلات صاف از جمله مثانه و رحم را نیز مهار می‌کند (۴-۵). اما غلظت مورد نیاز عصاره برای ایجاد اثر رفع انقباضی روی رحم، ۱۰ برابر غلظت مورد استفاده ایلئوم است؛ در نتیجه، عصاره‌ی هیدروالکلی اندام هوایی گیاه دارای اثر رفع انقباضی انتخابی روی ایلئوم می‌باشد (۵).

علاوه بر این، عصاره‌ی هیدروالکلی اندام هوایی گیاه اثرات ضد اسهال هم دارد (۳، ۶) که این اثرات ضد اسهال در مقایسه با دی‌سیکلوپین بیشتر و مشابه لوپرامید است (۶). همچنین عصاره‌ی گیاه *P. spinosa* در دوزهایی که اسهال را کنترل می‌کند، فاقد اثرات سوء روی سیستم قلبی-عروقی می‌باشد (۷). تحقیقات انجام شده بر روی بذر گیاه نیز نشان می‌دهد که مصرف عصاره‌ی هیدروالکلی آن می‌تواند انقباضات عضلانی ایلئوم و رحم را مهار کند (۵).

هر چند در مطالعات قبلی، اثر ضد انقباضی عصاره‌ی گیاه *P. spinosa* بررسی شده است، اما منجر به جداسازی و شناسایی فراکسیون و یا ترکیبات فعال اصلی نگردید (۸-۹، ۲). روش *Bioassay* راهکاری برای شناسایی فراکسیون فعال فارماکولوژی استخراج شده از ترکیبات گیاهی است. به دلیل اثرات ضد اسپاسم شناخته شده‌ی عصاره‌ی گیاه *P. spinosa*، بر

روی عضلات صاف امکان انجام آزمون زیستی (*Primary assays*) کمی بر روی انقباضات ایلئوم امکان پذیر است. هدف از این پژوهش، مقایسه‌ی اثر عصاره‌ی گیاه *P. spinosa* با فراکسیون‌های جدا شده از آن جهت زمینه‌سازی شناسایی ترکیب یا ترکیبات خالص از طریق تکنیک *Bioassay* بود.

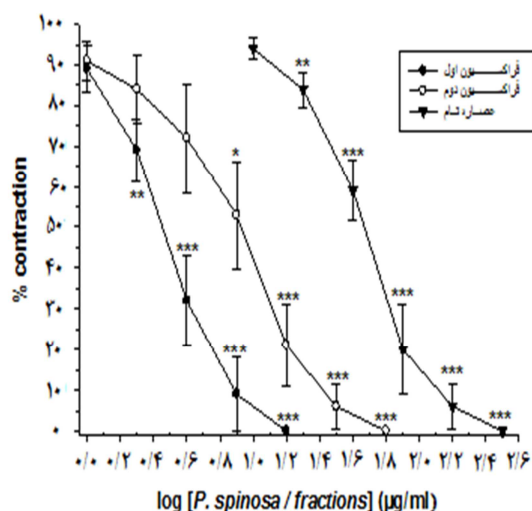
روش‌ها

تهیه‌ی عصاره و فراکسیون‌های فعال: گیاه سگ‌دندان خاردار (*Pycnocycla spinosa* Decne. ex Boiss.) از دامنه‌ی کوه صفا واقع در جنوب اصفهان جمع‌آوری و گونه‌ی آن شناسایی گردید. از اندام هوایی گیاه *P. spinosa* پس از طی مراحل جمع‌آوری، آسیاب کردن و خشک کردن با استفاده از روش پرکولاسیون عصاره‌ی متانولی تهیه شد (۱۰). سپس از طریق کروماتوگرافی ستونی با استفاده از سیستم حلال هگزان-متانول و با افزایش پلاریته‌ی حلال، ترکیبات بر اثر تغییر پلاریته استخراج گردید و هفت فراکسیون حاوی ترکیبات تهیه شد. پلارترین ترکیبات فراکسیون هفتم و غیر پلارترین آن‌ها در اولین فراکسیون جداسازی شدند. اثرات آنتی اسپاسمودیک عصاره‌ی تام و هر یک از فراکسیون‌ها در طول تحقیقات در *In-vitro* بررسی گردید تا معلوم گردد کدام فراکسیون حاوی قوی‌ترین ترکیب مؤثره است. بررسی اثرات اسپاسمودیک: آزمایش‌های فارماکولوژی مطابق روش قبل (۵-۲) انجام گرفت. به طور خلاصه، ایلئوم جدا شده‌ی رت در حمام بافت قرار داده شد و انقباضات توسط 80 mM KC1 ایجاد گردید. سپس اثرات آنتی اسپاسمی غلظت‌های مختلف تهیه شده از عصاره‌ی گیاه و هر یک از

انجام آزمون آماری و رسم نمودار از برنامه‌ی کامپیوتری ۱۱-Sigmaplot استفاده شد.

یافته‌ها

ایلتوم جدا شده در حمام بافت انقباضات خودبه‌خودی مختصری نشان می‌داد. کلرید پتاسیم در غلظت ۸۰ mM موجب انقباض ممتد (تونیک) بافت ایلتوم گردید. این انقباضات در طول آزمایش در بافت‌های شاهد کماکان پایدار بود. عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه *P. spinosa* به صورت وابسته به غلظت (۱۰-۳۲ $\mu\text{g/ml}$) انقباض ناشی از KCl را مهار کرد (شکل ۱).



شکل ۱. اثر رفع انقباضی عصاره‌ی گیاه *Pycnocycla spinosa* در مقایسه با فراکسیون‌های جدا شده‌ی ۱ و ۲ بر روی انقباضات ناشی از کلرید پتاسیم (۸۰ mM) در بافت ایزوله‌ی ایلتوم رت. محور عمودی، میانگین درصد انقباضات را نسبت به شاهد قبل از افزودن دارو در هر بافت نشان می‌دهد و محور افقی لگاریتم غلظت دارو است. هر علامت میانگین پاسخ ۶ بافت مختلف است و خطوط عمودی واقع بر روی آن نشان دهنده‌ی انحراف معیار است. ستاره‌ها اختلاف آماری بین هر غلظت یا معادل حجمی حامل (Dimethyl sulfoxide یا DMSO) را نشان می‌دهد ($P < 0.001$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.05$ ، *آزمون t).

فراکسیون‌های جدا شده روی انقباضات سنجیده شد و این اثر با گروه شاهد مقایسه گردید. غلظت‌های استفاده شده مطابق مطالعات قبلی با ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ شروع شد و در صورت نیاز افزایش یافت. اثر معادل حجمی حامل (DMSO یا Dimethyl sulfoxide) بر روی انقباضات ناشی از KCl سنجیده شد. هر گروه آزمایش، حداقل بر روی ۶ بافت متفاوت انجام گرفت.

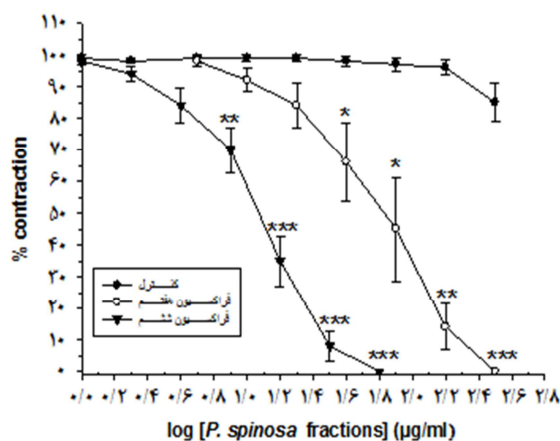
دارو و محلول‌ها: محلول تیروئید (Tyrode's solution) حاوی ۱۳۶/۹ mM NaCl ، ۱/۵ mM CaCl_2 ، ۲/۶۸ mM KCl ، ۱۱/۹ mM NaHCO_3 و ۵/۵۵ mM MgCl_2 در آب مقطر تهیه گردید و به طور مداوم با اکسیژن گازدهی شد. محلول ۲ M کلرید سدیم در آب مقطر تهیه گردید. عصاره و فراکسیون‌ها ابتدا به صورت غلظت ۱۰ mM در آب DMSO تهیه گردید و سپس با آب مقطر رقیق گردید. کلیه‌ی مواد شیمیایی از شرکت Merck بودند.

اندازه‌گیری انقباضات و آنالیز آماری: انقباضات بر اساس حداکثر دامنه‌ی انقباضات ثبت شده اندازه‌گیری شد و بر اساس درصد پاسخ اولیه بیان گردید. منحنی غلظت پاسخ برای هر گروه آزمایش رسم گردید و مقدار IC_{50} (غلظتی از عصاره که موجب ۵۰ درصد حداکثر اثر مهاری می‌شود) محاسبه گردید. میانگین و انحراف معیار برای هر گروه از نتایج محاسبه و مقایسه‌ی درون گروهی با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA یا Analysis of variance) انجام گرفت. مقایسه‌ی درون گروهی با استفاده از آزمون آماری t صورت گرفت. اختلافاتی که در آن $P < 0.05$ بود، معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای

از میان ۷ فراکسیون جدا شده، همگی دارای فعالیت رفع انقباضی روی ایلئوم رت بودند؛ اما مهار انقباضات با غلظت‌های متفاوتی مشاهده گردید (جدول ۱).

از میان این فراکسیون‌ها، فراکسیون اول از همه قوی‌تر بود (شکل‌های ۱ و ۲). فراکسیون هفتم از همه ضعیف‌تر بود؛ به طوری که قدرت آن از عصاره‌ی تام هم کمتر بود (شکل ۳).

فعالیت رفع انقباضی سایر فراکسیون‌ها متوسط، اما بهتر از عصاره‌ی تام بود (شکل‌های ۱، ۲ و ۳). غلظت مؤثره‌ی این فراکسیون‌ها که موجب ۵۰ درصد حداکثر پاسخ مهاری می‌شود (IC_{50}) در جدول ۱ آمده است.

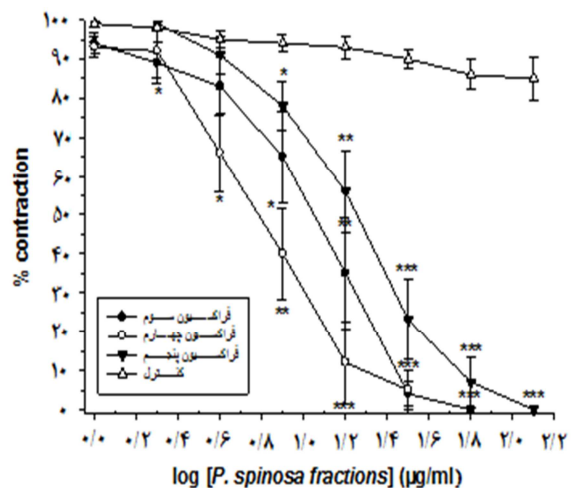


شکل ۳. اثر رفع انقباضی فراکسیون‌های ۶ و ۷ جدا شده از عصاره‌ی گیاه *Pycnocycla spinosa* بر روی انقباضات ناشی از کلرید پتاسیم (۸۰ mM) در بافت ایزوله‌ی ایلئوم رت. محور عمودی میانگین درصد انقباضات را نسبت به شاهد قبل از افزودن دارو در هر بافت نشان می‌دهد و محور افقی لگاریتم غلظت دارو است. هر علامت میانگین پاسخ ۶ بافت مختلف است و خطوط عمودی واقع بر روی آن، نشان دهنده‌ی انحراف معیار است. ستاره‌ها اختلاف آماری بین هر غلظت یا معادل حجمی حامل (DMSO یا Dimethyl sulfoxide) را نشان می‌دهد ($P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$). نوسانات مشاهده شده در بافت‌های شاهد از نظر آماری معنی‌دار نیست (آزمون ANOVA).

جدول ۱. مقایسه‌ی مقدار IC_{50} (غلظتی از دارو که موجب ۵۰ درصد حداکثر پاسخ مهاری می‌شود) عصاره‌ی گیاه

Pycnocycla spinosa و فراکسیون‌ها

ماده	IC_{50} (میانگین \pm انحراف معیار) (n = 6)
عصاره‌ی تام گیاه ($\mu\text{g/ml}$)	$85/0 \pm 14/5$
فراکسیون ۱ ($\mu\text{g/ml}$)	$3/5 \pm 0/7$
فراکسیون ۲ ($\mu\text{g/ml}$)	$11/0 \pm 3/1$
فراکسیون ۳ ($\mu\text{g/ml}$)	$15/0 \pm 3/9$
فراکسیون ۴ ($\mu\text{g/ml}$)	$8/0 \pm 2/9$
فراکسیون ۵ ($\mu\text{g/ml}$)	$14/0 \pm 2/4$
فراکسیون ۶ ($\mu\text{g/ml}$)	$24/0 \pm 6/7$
فراکسیون ۷ ($\mu\text{g/ml}$)	$84/0 \pm 20/0$



شکل ۲. اثر رفع انقباضی فراکسیون‌های ۳، ۴ و ۵ جدا شده از عصاره‌ی گیاه *Pycnocycla spinosa* بر روی انقباضات ناشی از کلرید پتاسیم (۸۰ mM) در بافت ایزوله‌ی ایلئوم رت. محور عمودی میانگین درصد انقباضات را نسبت به شاهد قبل از افزودن دارو در هر بافت نشان می‌دهد و محور افقی لگاریتم غلظت دارو است. هر علامت میانگین پاسخ ۶ بافت مختلف است و خطوط عمودی واقع بر روی آن، نشان دهنده‌ی انحراف معیار است. ستاره‌ها اختلاف آماری بین هر غلظت یا معادل حجمی حامل (DMSO یا Dimethyl sulfoxide) را نشان می‌دهد ($P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$). نوسانات مشاهده شده در بافت‌های شاهد، از نظر آماری معنی‌دار نیست (آزمون ANOVA).

بحث

استفاده از بافت جدا شده برای سنجش اثرات داروها یکی از روش‌های مؤثره برای سنجش رابطه‌ی غلظت پاسخ داروها به شمار می‌رود. این روش به صورت گسترده‌ای برای داروهای مؤثر بر انقباضات عضلات استفاده می‌شود و امکان سنجش قدرت داروها برای مقایسه با هم را فراهم می‌آورد. در این تحقیق از این روش برای شناسایی فراکسیون‌های دربردارنده‌ی ترکیبات فعال دارویی موجود در عصاره‌ی گیاه *P. spinosa* استفاده گردید. بر خلاف آنالیز مولکولی، جداسازی ترکیبات مؤثره با هزینه‌ی کمتر و با سرعت بیشتری امکان پذیر است. علاوه بر این، در این روش امکان شناسایی ترکیبات گیاهی مؤثره‌ی ناشناخته هم امکان پذیر است. با استفاده از این روش، نشان داده شد که گیاه *P. spinosa* حاوی ترکیبات متعددی با فعالیت فارماکولوژی رفع انقباض روی ایلئوم رت

است. از این میان، ۵ فراکسیون بیشترین فعالیت رفع انقباضی را داشتند و اثر آن‌ها از عصاره‌ی تام هم بیشتر بود. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره‌ی گیاه *P. spinosa* دارای ترکیبات فعال متعدد با قدرت متفاوتی است. قوی‌ترین ترکیب در فراکسیون اول وجود دارد. از این رو توصیه می‌شود که فرایند خالص‌سازی بر روی این فراکسیون مؤثره ادامه یابد تا ماده‌ی خالص آن جدا گردد و از طریق روش‌های مدرن طیف سنجی (NMR, Mass & IR) ساختار آن شناسایی گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به دلیل تأمین مالی این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Mozaffarian V. Dictionary of Iranian plant names. Tehran, Iran: Farhang Moaser Publication; 1996. p. 443-4. [In Persian].
2. Sadraei H, Asghari G, Hekmatti AA. Antispasmodic effect of three fractions of hydroalcoholic extract of *Pycnocycla spinosa*. J Ethnopharmacol 2003; 86(2-3): 187-90.
3. Sadraei H, Asghari G, Naddafi A. Relaxant effect of essential oil and hydro-alcoholic extract of *Pycnocycla spinosa* Decne. exBoiss. on ileum contractions. Phytother Res 2003; 17(6): 645-9.
4. Sadraeia H, Asgharib Gh, Arabzadeha A. Effect of hydroalcoholic extract of *Pycnocycla spinosa* on rat isolated bladder contraction. Iran J Pharm Res 2004; 4: 237-41.
5. Sadraei H, Asghari Gh, Andishah M. Antispasmodic effects of *Pycnocycla spinosa* seed and aerial part extracts on rat ileum and uterus smooth muscle contractions. DARU J Pharm Sci 2008; 16(3): 160-3.
6. Sadraei H, Asghari G, Shams M. Antidiarrheal Action of Hydroalcoholic Extract of *Pycnocycla spinosa* in Comparison with Loperamide and Dicyclomine. Iran J Pharm Res 2011; 10(4): 835-41.
7. Hajhashemi V, Asghari Gh, Hajhashemi V, Nezami M. Evaluation of cardiovascular effect of *Pycnocycla spinosa* Decne. exBoiss. var. *spinosa* extract in anaesthetized rat. DARU J Pharm Sci 2006; 14(1): 11-4.
8. Behzad S. Isolation based on the biological effects of compounds containing contractile effect of *Pycnocycla spinosa* Decne. ex.Boiss [Pharm D Thesis]. Isfahan, Iran: School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences; 2007. [In Persian].
9. Arasteh S. Phytochemical investigation of *Pycnocycla spinosa* Decne. ex.Boiss root [Pharm D Thesis]. Isfahan, Iran: School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences; 2007. [In Persian].
10. Samuelsson G. Drugs of natural origin. 4th ed. Stockholm, Sweden: Swedish Pharmaceutical Press; 1999. p. 48-9.

Bioassay Guided Fractionation of the Effect of *Pycnocycla Spinosa* Extract on Contraction of Rat Ileum

Hasan Sadraei PhD¹, Mostafa Ghanadian PhD², Gholamreza Asghari PhD³, Masoud Jahed⁴

Original Article

Abstract

Background: Hydroalcoholic extract from aerial part of *Pycnocycla spinosa* have shown to possess antispasmodic and anti-diarrhoeal activities. Anti-diarrhoeal effect of the extract, both quantitatively and qualitatively, are very close to loperamide. The aim of this research was identification of active fraction separated from extract of *Pycnocycla spinosa* via applying bioassay method on contraction of rat ileum.

Methods: From aerial part of *Pycnocycla spinosa* methanolic, extract was prepared and then medium polar fractions were separated. The antispasmodic activities of separated fractions were assessed on rat isolated ileum contraction induced by KCl and compared with total extract. After that, the most active fraction was identified for further comparison with control group. Contractions were measured as maximum recorded amplitude and express as percent of initial contraction. Full concentration response curve was plotted for each group of experiment and the IC₅₀ value (inhibitory concentration of extract causing 50% of maximum response) was calculated.

Findings: From nine fractions isolated from *Pycnocycla spinosa* extract, the third fraction identified as the most active fraction which contained the active substance(s). Five fractions had a medium activity and two fractions were ineffective.

Conclusion: This research demonstrated that *Pycnocycla spinosa* possessed a number of active substances with different potencies. The most potent substance was in the third fraction and therefore, purification and identification of this substance is recommended.

Keywords: *Pycnocycla spinosa*, Ileum, Extract, KCl, Fractions, IC₅₀

Citation: Sadraei H, Ghanadian M, Asghari Gh, Jahed M. **Bioassay Guided Fractionation of the Effect of *Pycnocycla Spinosa* Extract on Contraction of Rat Ileum.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(291): 1004-9

* This paper is derived from a Pharm D thesis No. 189093 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- Associate Professor, Department of Pharmacology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Professor, Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Student of Pharmacy, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences AND Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Gholamreza Asghari PhD, Email: asghari@pharm.mui.ac.ir

ارتباط میان سطح سرمی منیزیم و پروفایل چربی در بیماران تحت دیالیز صفاقی و همودیالیز

دکتر هوشنگ سندگل^۱، دکتر دادخدا اله صوفی^۲، دکتر حمید نصری^۳

مقاله کوتاه

چکیده

مقدمه: برخی مطالعات نشان داده است که منیزیم بر ایجاد و گسترش فرایند آترواسکلروزیس با ایجاد تغییر در فرایندهای التهابی آسیب ناشی از اکسیداسیون سلولی، افزایش سطح LDL (Low-density lipoprotein) سرمی و تحریک عوامل رشد دخالت می‌کند. منیزیم به طور مستقیم در بالا بردن سنتز لیپوپروتئین‌ها اثر ندارد، اما ممکن است در تنظیم آنزیم‌های مسؤوّل سنتز لیپوپروتئین‌ها در سطح کبدی دخالت داشته باشد که بیشتر باعث تغییر متابولیسم تری گلیسیریدها می‌گردد. این مطالعه با هدف بررسی سطح سرمی منیزیم و پروفایل چربی در بیماران تحت دیالیز صفاقی و همودیالیز انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی، ۱۱۰ بیمار تحت دیالیز صفاقی و همودیالیز در سال ۱۳۹۲ در زاهدان بررسی شدند. نمونه‌گیری به صورت آسان و در دسترس بود و بیماران در دو گروه تحت دیالیز صفاقی و تحت همودیالیز قرار گرفتند. ارتباط منیزیم و سطح لیپیدهای خون بیماران بررسی شد.

یافته‌ها: ۵۱ نفر از بیماران (۴۶/۴ درصد) مرد و ۸۹ نفر (۵۳/۶ درصد) زن بودند و میانگین سنی آنان $۱۴/۷ \pm ۴۶/۱$ سال بود. در بیماران تحت دیالیز صفاقی، ضریب همبستگی بین منیزیم و کلسترول فقط در گروه مصرف کننده‌ی داروهای آنتی لیپید معنی‌دار بود ($P = ۰/۰۰۳$). میزان سطح منیزیم با LDL-C (Low-density lipoprotein cholesterol) در بیماران تحت دیالیز صفاقی فقط در گروه مصرف کننده‌ی داروهای آنتی لیپید ارتباط داشت ($P = ۰/۰۳۶$). در بیماران تحت دیالیز صفاقی که این داروها را مصرف نمی‌کردند، سطح منیزیم با VLDL (Very low density lipoprotein) و تری گلیسیرید ارتباط داشت ($P < ۰/۰۰۱$). ارتباط بین سطح منیزیم سرم و کلسترول و همچنین VLDL، در بیماران تحت همودیالیز در زیر گروهی که آنتی لیپید مصرف نمی‌کردند، معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۰۱$). در همین زیر گروه، سطح منیزیم با میزان تری گلیسیرید نیز ارتباط داشت ($P < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: سطح سرمی منیزیم با پروفایل لیپید بیماران تحت دیالیز ارتباط و همبستگی دارد و اختلالات متابولیسم لیپیدها باعث ایجاد خطرات آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی در این بیماران می‌گردد.

واژگان کلیدی: منیزیم، لیپید، دیالیز صفاقی، همودیالیز

ارجاع: سندگل هوشنگ، اله صوفی دادخدا، نصری حمید. ارتباط میان سطح سرمی منیزیم و پروفایل چربی در بیماران تحت دیالیز

صفاقی و همودیالیز. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۱): ۱۰۱۷-۱۰۱۰

۱- دانشیار، گروه نفرولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

۲- دستیار، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

۳- استاد، گروه نفرولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

مقدمه

درمان جایگزینی کلیه، یک اصطلاح کلی در مورد روش‌های مختلفی است که در درمان بیماران مراحل نهایی نارسایی کلیه به کار می‌رود و شامل همودیالیز، دیالیز صفاقی و پیوند آلوگرافت کلیه است (۱). نقش دیالیز صفاقی به عنوان یک روش درمان جایگزینی کلیه به اثبات رسیده است. هدف دیالیز، حفظ وضعیت اسید و باز و الکترولیت‌های بدن، حذف مواد زائد متابولیک و رسیدن به وضعیت طبیعی بدن می‌باشد (۱۴-۲).

منیزیم عنصری در بدن است که برای کار بیشتر سیستم‌های آنزیمی لازم است و دومین کاتیون اصلی داخل سلولی می‌باشد و در تبدیل انرژی‌زایی ATP (Adenosine Triphosphate) به ADP (Adenosine diphosphate) نقش اساسی ایفا می‌کند. مقدار منیزیم بدن حدود ۲۰۰۰ meq است که نصف آن داخل استخوان می‌باشد. کمتر از ۱ درصد منیزیم در مایع بین سلولی قرار دارد. غلظت طبیعی منیزیم پلاسما ۱/۳-۲/۲ meq/l است که ۲۰ درصد آن متصل به پروتئین می‌باشد. غلظت منیزیم در گلبول قرمز نمایشگر غلظت داخل سلولی منیزیم است. شخص سالم روزانه نیاز به ۲۰-۳۰ meq/l منیزیم دارد که از طریق دستگاه گوارش جذب می‌شود. افزایش سطح آن در نارسایی کلیه مصرف داروهای ضد اسید و هیپوتیروئیدی دیده می‌شود. کاهش سطح خونی منیزیم در سوء تغذیه و سوء جذب دیده می‌شود (۱۵).

برخی مطالعات نشان داده است که منیزیم بر ایجاد و گسترش فرایند آترواسکلروزیس با ایجاد تغییر در فرایندهای التهابی آسیب ناشی از اکسیداسیون سلولی، افزایش سطوح LDL-C

(Low-density lipoprotein cholesterol) سرمی و تحریک عوامل رشد دخالت می‌کنند. منیزیم به طور مستقیم در بالا بردن سنتز لیپوپروتئین‌ها اثر ندارد، اما ممکن است در تنظیم آنزیم‌های مسؤل سنتز لیپوپروتئین‌ها در سطح کبدی دخالت داشته باشد که بیشتر باعث تغییر متابولیسم تری گلیسیدها می‌گردد (۲۱-۱۶).

مهم‌ترین مکان ترشح منیزیم کلیه‌ها هستند؛ به همین دلیل انتظار می‌رود در بیماران با نارسایی کلیه، افزایش سطح سرمی منیزیم مشاهده شود (۲۲).

یکی از عوامل اصلی بروز بیماری‌های قلبی-عروقی در بیماران تحت دیالیز، وجود ناهنجاری‌های لیپیدی شامل هایپر تری گلیسیریدمی، هایپر کلسترولمی و پایین بودن غلظت HDL-C (High-density lipoprotein cholesterol) است (۲۸-۲۳).

شیوع مرگ قلبی در بیماران تحت دیالیز و پیوند کلیه نسبت به افراد طبیعی ۲۰-۴ برابر بالاتر است (۲۴). هایپر لیپیدمی به عنوان یک عامل خطر مهم برای آترواسکلروز عروق در بیماران تحت دیالیز نقش ایفا می‌کند و با هایپر تری گلیسیریدمی مشخص می‌شود (۲۹). نوع دیگری از دیس لیپیدمی شامل کاهش میزان HDL-C و افزایش لیپوپروتئین a سرم و اغلب بدون افزایش LDL-C می‌باشد (۳۱-۲۹). لیپوپروتئین a یک عامل غیر وابسته برای بیماری‌های کاردیوواسکولار است (۳۲، ۷). مطالعات نشان داده است که افزایش سطح لیپوپروتئین نیز با مرگ ناشی از بیماری‌های قلبی-عروقی ارتباط دارد (۳۵-۳۲).

داده‌های گزارش شده از ایالات متحده نشان داد که ۴۲/۵ درصد از بیماران تحت همودیالیز، ۴۱/۷ از

بیماران تحت دیالیز صفاقی و هم برای گروه بیماران تحت همودیالیز شرکت کننده در طرح انجام شد). نمونه‌ی خون جهت سنجیدن سطح منیزیم پروفایل چربی‌ها گرفته شد. اطلاعات وارد نرم‌افزار آماری SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) شد و پس از آنالیز آماری، با استفاده از آزمون‌های آماری t و همبستگی Pearson، سطح منیزیم و سطح لیپیدهای خون مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت و در پایان، نتایج در هر گروه با گروه دیگر مقایسه شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۱۱۰ بیمار تحت دیالیز در دو گروه تحت دیالیز صفاقی و تحت همودیالیز شرکت داشتند که ۵۱ نفر (۴۶/۴ درصد) مرد و ۸۹ نفر (۵۳/۶ درصد) زن بودند و میانگین سنی بیماران $14/7 \pm 46/1$ سال بود. در جدول ۱، میانگین متغیرهای دموگرافیک در دو گروه با استفاده از آزمون t آمده است. در بیماران تحت دیالیز صفاقی، ضریب همبستگی بین منیزیم و کلسترول فقط در گروه مصرف کننده‌ی داروهای آنتی لیپید معنی‌دار بود ($P = 0/003$) و همچنین تنها در این گروه، میزان سطح منیزیم با LDL-C ارتباط داشت ($P = 0/036$). سطح منیزیم در گروهی از بیماران تحت دیالیز صفاقی که داروهای آنتی لیپید مصرف نمی‌کردند، با VLDL (Very low density lipoprotein) ارتباط داشت ($P < 0/001$). همچنین در همین گروه، سطح منیزیم با تری گلیسیرید ارتباط داشت ($P < 0/001$). ارتباط بین سطح منیزیم سرم و کلسترول در گروهی از بیماران تحت همودیالیز که آنتی لیپید مصرف نمی‌کردند، معنی‌دار بود ($P < 0/001$).

افراد تحت دیالیز صفاقی و ۳۱/۱ درصد از بیماران با پیوند کلیه، به علت بیماری‌های مغزی و قلبی-عروقی جان خود را از دست می‌دهند (۳۶). با توجه به این که مطالعات مختلفی بر روی ارتباط سطح سرمی منیزیم با پروفایل لیپید در بیماران تحت همودیالیز صورت گرفته است و هیچ مطالعه‌ی مشابهی در مورد دیالیز صفاقی انجام نشده است، این مطالعه طراحی گردید و می‌توان از نتایج آن پس از مقایسه با بیماران تحت همودیالیز و تجزیه و تحلیل اطلاعات، برای بهبود روند درمان بیماران استفاده نمود.

روش‌ها

این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی بر روی ۱۱۰ بیمار تحت دیالیز مراجعه کننده به بیمارستان امام علی (ع) و خاتم الانبیا (ص) زاهدان، انجام شد. بیماران در دو گروه تحت دیالیز صفاقی (۳۰ نفر) و گروه بیماران تحت همودیالیز (۸۰ نفر) قرار داشتند. بیمارانی که دیورتیک مصرف می‌کردند و عفونت حاد یا مزمن (پیلونفریت مزمن و سل)، سوء تغذیه ($BMI < 18/5$) یا Body mass index)، هیپوتیروئیدی و اسهال حاد و مزمن داشتند، از مطالعه حذف شدند. ابتدا بیماران تحت دیالیز صفاقی و همودیالیز که به طور مرتب تحت مراقبت بودند و از زمان درمان با دیالیز آنان حداقل ۳ ماه گذشته بود، به کلینیک فراخوانده شدند و پس از نام‌نویسی، فرم رضایت شرکت در طرح را تکمیل کردند.

سپس بیماران بر اساس داشتن سابقه‌ی هایپر لیپیدمی (تحت درمان بودن با داروهای آنتی لیپیدمی) به دو زیر گروه بیماران تحت درمان یا عدم درمان هیپرلیپیدمی تقسیم شدند (این کار هم برای گروه

همچنین در همین گروه، همبستگی بین منیزیم و VLDL در زیر گروهی که آنتی لیپید مصرف نمی‌کردند، معنی‌دار بود ($P < 0/001$). در همین زیر گروه، سطح منیزیم با تری گلیسیرید نیز ارتباط داشت ($P < 0/001$).

بحث

مطالعات مشابهی در ایران و خارج از کشور انجام شده است که در ادامه به بررسی و مقایسه‌ی یافته‌های آن‌ها با مطالعه‌ی حاضر پرداخته می‌شود. نصری و برادران طی مطالعه‌ای بر ارتباط مثبت بین سطح سرمی منیزیم و Lp (a) (Lipoprotein a) و همچنین تری گلیسیرید خون در بیماران تحت همودیالیز تأکید کردند (۳۷). در مطالعه‌ی حاضر نیز ارتباط منیزیم و تری گلیسیرید مشاهده شد و این در حالی است که در مطالعه‌ی نصری و برادران (۳۷) ارتباطی بین منیزیم و سطح کلسترول یافت نشد؛ در حالی که در مطالعه‌ی Robles و همکاران که بر روی ۲۵ نفر از بیماران تحت همودیالیز انجام شد، رابطه‌ی مثبت مستقیمی بین سطح منیزیم و توتال کلسترول و تری گلیسیرید مشاهده شد (۳۸). مطالعه‌ی Robles و همکاران (۳۸) از این نظر در مطالعه‌ی حاضر با گروه بیماران تحت دیالیز صفاقی که داروی آنتی لیپید

مصرف می‌کردند، همخوانی دارد.

در مطالعه‌ی انصاری و همکاران در زمینه‌ی روی ارتباط سطح سرمی منیزیم با دیس لیپیدی در بیماران تحت همودیالیز، مشاهده شد که بین افزایش سطح منیزیم خون و دیس لیپیدی در این بیماران ارتباط معنی‌داری وجود دارد. در این مطالعه، افزایش سطح منیزیم سرم با سطح Lp (a)، تری گلیسیرید و HDL-C رابطه‌ی مثبت مستقیم داشت؛ اما ارتباط معنی‌داری با سطح کلسترول نداشت (۳۹). در این مطالعه نیز همانند مطالعه‌ی حاضر سطح منیزیم با تری گلیسیرید ارتباط دارد.

برخی مطالعات نیز نشان داده است که منیزیم بر ایجاد و گسترش فرایند آترواسکلروزیس با ایجاد تغییر در فرایندهای التهابی، آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون سلولی، افزایش سطوح LDL-C سرمی و تحریک عوامل رشد دخالت می‌کنند. منیزیم به طور مستقیم در بالا بردن سنتز لیپوپروتئین‌ها اثر ندارد؛ اما ممکن است در تنظیم آنزیم‌های مسؤل سنتز لیپوپروتئین‌ها در سطح کبدی دخالت داشته باشد که بیشتر باعث تغییر متابولیسم تری گلیسیریدها می‌گردد (۴۰-۴۸). مهم‌ترین مکان ترشح منیزیم کلیه‌ها هستند؛ به همین دلیل، انتظار می‌رود در بیماران با نارسایی کلیه، افزایش سطح سرمی منیزیم دیده شود (۲۲-۳۶).

جدول ۱. میانگین متغیرهای دموگرافیک در دو گروه

متغیر	گروه	تعداد	میانگین \pm انحراف معیار	مقدار P
سن	دیالیز صفاقی	۳۰	۳۷/۲ \pm ۱۰/۹	۰/۰۰۱
	همودیالیز	۸۰	۴۹/۳ \pm ۱۴/۷	
مدت دیالیز	دیالیز صفاقی	۳۰	۳/۲ \pm ۱/۶	۰/۱۷۸
	همودیالیز	۸۰	۳/۹ \pm ۲/۹	
مدت دیابت	دیالیز صفاقی	۵	۷/۲ \pm ۲/۶	۰/۰۰۳
	همودیالیز	۲۲	۱۴/۱ \pm ۸/۱	

بقای بیماران مؤثر است.

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که سطح سرمی منیزیم با پروفایل لیپید بیماران تحت دیالیز ارتباط و همبستگی دارد و اختلالات متابولیسم لیپیدها باعث ایجاد خطرات آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی در این بیماران می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل پایان‌نامه‌ی دستیاری داخلی در دانشگاه علوم پزشکی زاهدان است.

یکی از عوامل اصلی بروز بیماری‌های قلبی-عروقی در بیماران تحت دیالیز، وجود ناهنجاری‌های لیپیدی شامل هایپر تری گلیسیریدمی، هایپر کلسترولمی و پایین بودن غلظت HDL-C است (۲۳-۴۶). هایپر لیپیدمی به عنوان یک عامل خطر مهم برای آترواسکلروز عروق در بیماران تحت دیالیز نقش ایفا می‌کند (۲۳-۴۹) و میزان سطح منیزیم سرم می‌تواند به عنوان عامل کمک کننده در ایجاد و گسترش فرایند آترواسکلروزیس نقش داشته باشد. بنابراین کنترل سطح منیزیم و سطح لیپیدهای خون، امری لازم و ضروری به نظر می‌رسد و در میزان

References

- Kazemeini SM, Nafar M, Aghighi M, Heidari A. The status of renal replacement therapy in Iran. *Hakim Res J* 2003; 6(1): 7-12. [In Persian].
- Nasri H. Elevated serum parathyroid hormone is a heart risk factor in hemodialysis patients. *J Parathyroid Dis* 2013; 1(1): 13-4.
- Ardalan MR, Sanadgol H, Nasri H, Baradaran A, Tamadon MR, Rafieian-Kopaei R. Impact of vitamin D on the immune system in kidney disease. *J Parathyroid Dis* 2013; 1(2): 17-20.
- Amiri M, Nasri H. Secondary Hyperparathyroidism in chronic kidney disease patients; current knowledge. *J Parathyroid Dis* 2014; 2(1): 1-2.
- Nasri H, Baradaran A. The influence of serum 25-hydroxy vitamin D levels on Helicobacter Pylori Infections in patients with end-stage renal failure on regular hemodialysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2007; 18(2): 215-9.
- Hajivandi A, Amiri M. World Kidney Day 2014: Kidney disease and elderly. *J Parathyroid Dis* 2014; 2(1):3-4.
- Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and hypertension: Possibility of hypertension therapy with antioxidants. *J Res Med Sci* 2014; 19(4): 358-67.
- Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Platelet counts and mean platelet volume in association with serum magnesium in maintenance hemodialysis patients. *J Ren Inj Prev* 2012; 1(1): 17-21.
- Nasri H. Correlation of serum magnesium with serum levels of 25-hydroxyvitamin D in hemodialysis patients. *J Parathyroid Dis* 2014; 2(1): 11-3.
- Nasri H, Kheiri S. Effects of diabetes mellitus, age, and duration of dialysis on parathormone in chronic hemodialysis patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2008; 19(4): 608-13.
- Baradaran A. Primary hyperparathyroidism and kidney; recent findings. *J Parathyroid Dis* 2014; 2(1): 5-6.
- Nasri H. The awareness of chronic kidney disease and aging; the focus of world kidney day in 2014. *J Nephropharmacol*.2014; 3(1): 1-2.
- Vogel RA. Coronary risk factors, endothelial function, and atherosclerosis: a review. *Clin Cardiol* 1997; 20(5): 426-32.
- Nasri H. Association of serum lipoprotein (a) with hypertension in diabetic patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2008; 19(3): 420-7.
- Amiri M, Nasri H. Secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease patients; current knowledge. *J Parathyroid Dis* 2014; 2(1): 1-2.
- Nissenon AR, Prichard SS, Cheng IK, Gokal R, Kubota M, Maiorca R, et al. Non-medical factors that impact on ESRD modality selection. *Kidney Int Suppl* 1993; 40: S120-S127.
- Nasri H. Impact of diabetes mellitus on parathyroid hormone in hemodialysis patients. *J Parathyroid Dis* 2013; 1(1): 9-11.
- Ghorbani A, Baradaran A. Magnesium and diabetes mellitus. *J Ren Inj Prev* 2012; 1(2): 46-7.
- Baradaran A. Lipoprotein(a), type 2 diabetes and nephropathy; the mystery continues. *J Nephropathol* 2012; 1(3): 126-9.

20. Collins AJ, Hao W, Xia H, Ebben JP, Everson SE, Constantini EG, et al. Mortality risks of peritoneal dialysis and hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 1999; 34(6): 1065-74.
21. Nasri H. Serum leptin concentration and left ventricular hypertrophy and function in maintenance hemodialysis patients. *Minerva Urol Nefrol* 2006; 58(2): 189-93.
22. Rafeian-Kopaei M, Nasri H. Serum lipoprotein (a) and atherosclerotic changes in hemodialysis patients. *J Ren Inj Prev* 2013; 2(2): 47-50.
23. van der Hel WS, van den Bergh WM, Nicolay K, Tulleken KA, Dijkhuizen RM. Suppression of cortical spreading depressions after magnesium treatment in the rat. *Neuroreport* 1998; 9(10): 2179-82.
24. Mubarak M, Nasri H. Antiphospholipid antibodies and systemic scleroderma. *Turk J Haematol* 2013; 30(4): 429-30.
25. Nasri H. Association of Ca \times PO $_4$ product with levels of serum C-reactive protein in regular hemodialysis patients. *J Ren Inj Prev* 2012; 1(2): 55-9.
26. Liao F, Folsom AR, Brancati FL. Is low magnesium concentration a risk factor for coronary heart disease? The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am Heart J* 1998; 136(3): 480-90.
27. Nasri H, Rafeian-Kopaei M. Significant difference of serum 25-hydroxyvitamin D level in male hemodialysis patients with our without diabetes; a single center study. *J Nephrofarmacol* 2012;1(2):15-6.
28. Ma J, Folsom AR, Melnick SL, Eckfeldt JH, Sharrett AR, Nabulsi AA, et al. Associations of serum and dietary magnesium with cardiovascular disease, hypertension, diabetes, insulin, and carotid arterial wall thickness: the ARIC study. *Atherosclerosis Risk in Communities Study. J Clin Epidemiol* 1995; 48(7): 927-40.
29. Nasri H. Helicobacter pylori infection and its relationship to plasma magnesium in hemodialysis patients. *Bratisl Lek Listy* 2007; 108(12): 506-9.
30. Laurant P, Hayoz D, Brunner H, Berthelot A. Dietary magnesium intake can affect mechanical properties of rat carotid artery. *Br J Nutr* 2000; 84(5): 757-64.
31. Mountokalakis TD. Magnesium metabolism in chronic renal failure. *Magnes Res* 1990; 3(2): 121-7.
32. Cressman MD, Heyka RJ, Paganini EP, O'Neil J, Skibinski CI, Hoff HF. Lipoprotein(a) is an independent risk factor for cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Circulation* 1992; 86(2): 475-82.
33. Baradaran A. Beyond mineral metabolism, the bright immunomodulatory effect of vitamin D in renal disease. *J Nephrofarmacol* 2012; 1(2):17-8.
34. O'Neal D, Lee P, Murphy B, Best J. Low-density lipoprotein particle size distribution in end-stage renal disease treated with hemodialysis or peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 1996; 27(1): 84-91.
35. Nasri H, Baradaran A. Association of serum lipoprotein(a) with ultrasonographically determined early atherosclerotic changes in the carotid and femoral arteries in kidney transplanted patients. *Transplant Proc* 2004; 36(9): 2683-6.
36. Rouhi H, Ganji F. Effects of N-acetyl cysteine on serum lipoprotein (a) and proteinuria in type 2 diabetic patients. *J Nephropathol* 2013; 2(1): 61-6.
37. Nasri H, Baradaran A. Correlation of serum magnesium with dyslipidemia in maintenance hemodialysis patients. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2004; 47(4): 263-5.
38. Robles NR, Escola JM, Albarran L, Espada R. Correlation of serum magnesium and serum lipid levels in hemodialysis patients. *Nephron* 1998; 78(1): 118-9.
39. Ansari MR, Maheshwari N, Shaikh MA, Laghari MS, Lal K, Ahmed K. Correlation of serum magnesium with dyslipidemia in patients on maintenance hemodialysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2012; 23(1): 21-5.
40. Fytily CI, Progia EG, Panagoutsos SA, Thodis ED, Passadakakis PS, Sombolos KI, et al. Lipoprotein abnormalities in hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Ren Fail* 2002; 24(5): 623-30.
41. Tamadon MR. Secondary hyperparathyroidism and chronic kidney disease. *J Parathyroid Dis.* 2013; 1(1):15-6.
42. Kimak E, Berger B, Solski J, Janicka L, Ksiazek A. Comparison of lipid and lipoprotein profiles in long-term chronic ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) in elderly patients with chronic renal failure (CRF). *Int Urol Nephrol* 2002; 33(1): 203-4.
43. Nasri H. Elevated serum parathyroid hormone is a heart risk factor in hemodialysis patients. *J Parathyroid Dis* 2013; 1(1):13-4.
44. Nasri H, Rafeian-Kopaei M. Serum anti-hepatitis B surface antigen in hemodialysis patients. *J Nephrofarmacol.* 2012; 1(1):3-5.
45. Ong-Ajyooth L, Sirisalee K, Shayakul C, Vareesangthip K, Vasuvattakul S, Vanichakarn S, et al. Comparison of lipid abnormalities in continuous ambulatory peritoneal dialysis and hemodialysis patients. *Transplant Proc* 1994;

- 26(4): 2077-9.
46. Keane WF, Mulcahy WS, Kasiske BL, Kim Y, O'Donnell MP. Hyperlipidemia and progressive renal disease. *Kidney Int Suppl* 1991; 31: S41-S48.
47. Oda H, Keane WF. Lipid abnormalities in end stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13(Suppl 1): 45-9.
48. de Gomez Dumm NT, Giammona AM, Touceda LA, Raimondi C. Lipid abnormalities in chronic renal failure patients undergoing hemodialysis. *Medicina (B Aires)* 2001; 61(2): 142-6.
49. Baradaran A, Behradmanesh S, Nasri H. Association of body mass index and serum vitamin D level in healthy Iranian adolescents. *Endokrynol Pol* 2012; 63(1): 29-33.

Correlation of Serum Magnesium and Blood Lipid Profile in Under-Peritoneal Dialysis and Hemodialysis Patients

Houshang Sanadsog MD¹, Dad-khoda Allah-Soufi MD², Hamid Nasri MD³

Short Communication

Abstract

Background: Lipid abnormalities, is one of the major causes of cardiovascular diseases in under-dialysis patients. This study aimed to assess the relationship of serum magnesium and blood lipid profile in patients under the peritoneal dialysis and hemodialysis.

Methods: This cross-sectional study was performed on 110 under-dialysis patients in Zahedan, Iran. Serum lipids and magnesium levels were measured. Data were analyzed using t and Pearson correlation tests.

Findings: The mean age of the patients was 46.1 ± 14.7 years. In under-peritoneal dialysis patients, who were not under the treatment of antilipid agents, the correlation of serum magnesium with triglyceride and very low-density lipoprotein cholesterol (VLDL) was significant ($P < 0.05$); whereas the correlation of serum magnesium with cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was significant only in subgroup who were under treatment of antilipid agents ($P < 0.05$). In under-hemodialysis group, the correlation of serum magnesium with cholesterol, triglyceride and was significant ($P < 0.05$).

Conclusion: This study showed that serum magnesium had correlation with serum lipid profile and could contribute to atherosclerosis and cardiovascular diseases in the patients under the peritoneal dialysis and hemodialysis.

Keywords: Magnesium, Lipids, Peritoneal dialysis, Hemodialysis

Citation: Sanadsog H, Allah-Soufi D, Nasri H. **Correlation of Serum Magnesium with Lipids Peritoneal Dialysis and Hemodialysis Patients.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(291): 1010-7

1- Associate Professor, Department of Nephrology, School of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

2- Resident, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

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

Corresponding Author: Hamid Nasri MD, Email: hamidnasri@med.mui.ac.ir

errors author should verify references against the original documents. The Reference should provide the following information as stated in the presented models as follows:

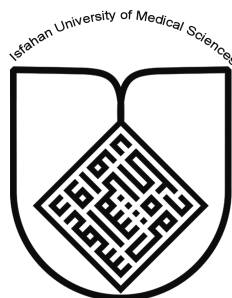
- a. **Article:** Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.
 - b. **Chapter in a book:** Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer.* New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.
 - c. **Book:** Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology.* 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.
14. **Proof Reading:** A computer printout is sent to the corresponding author for proof reading before publication in order to avoid any mistakes. Corrections should be marked clearly and sent immediately to the Journal office.
 15. **Abbreviations and symbols:** Use only standard abbreviations. **Avoid using them in the title and abstract.** The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.
 16. The **corresponding author:** Will be supplied with 1 free issue.
 17. **Ethical guidelines:** Ethical considerations must be addressed in the Materials and Methods. Please state that **informed consent** was obtained from all human adult participants and from the parents or legal guardians of minors. Include the name of the appropriate institutional review board that approved the project. Indicate in the text that the maintenance and care of experimental animals complies with National Institutes of Health guidelines for the humane use of laboratory animals, or those of your Institute or agency.
 18. **Conflicts of interest:** Authors must acknowledge and declare any sources of funding and potential conflicting interest, such as receiving funds or fees by, or holding stocks and shares in, an organization that may profit or lose through publication of your paper. Declaring a competing interest will not lead to automatic rejection of the paper, but we would like to be made aware of it.
 19. **Page charges:** There are no charges for publication in this Journal.
 20. **Copyright:** The entire contents of the Journal of Isfahan Medical School are protected under international copyrights. This Journal is for your personal noncommercial use. You may not modify copy, distribute, transmit, display, or publish any materials contained on the Journal without the prior written permission of it or the appropriate copyright owner.
 21. **Peer review process:** All manuscripts are considered to be confidential. They are peer-reviewed by at least 3 anonymous reviewers selected by the Editorial Board. The corresponding author is notified as soon as possible of the editor decision to accept, reject, or require modifications. If the manuscript is completely acceptable according to the criteria set forth in these instructions, it is scheduled for the next available issue.
 22. Journal has entire right for accept or reject any of received manuscripts.
 23. The editors, editorial board, sponsoring organization, and publisher do not accept responsibility for the statements expressed by authors in their contributions.
 24. **Communicating with the Editorial Office:** We encourage you to communicate with the JIMS Editorial Office and to check on the status of a manuscript via journal site: (<http://journals.mui.ac.ir/jims>) only. For more information you can contact with JIMS office via E-mail address (jims@med.mui.ac.ir).

INSTRUCTION TO AUTHORS

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

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Mojtaba Abtahi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
3. **Mohammad Esmail Akbari** MD, Professor of Thoracic Surgery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6. **Saeid Andalib Jortani** MD, Professor of Pathology, Lewis Weil University, USA
7. **Gholam Reza Askari** MD, PhD of Nutrition, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Assistant Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Majid Berekatain** MD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
10. **Ken Bassett** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
11. **Ahmad Chitsaz** MD, Associate Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12. **Afsoon Emami** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
13. **Ali Reza Emami** MD, Associate Professor of Infectious Diseases, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
14. **Shahin Emami** Biochemistry and Endocrinology, Saint Antoine Hospital, France
15. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
16. **Faramarz Esmail beigi** MD, Professor of Internal Medicine, School of Medicine, USA
17. **Ziba Farajzadegan** MD, Associate Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
18. **Hamid Fesharaki** Associate Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Marjane Foladi** PhD of Nursing, University of Florida, USA
20. **Aziz Gahari** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
21. **Ali Gheisari** MD, Professor of Cardiovascular Surgery, California, USA
22. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. **Ali Mohammad Hanjani** MD, Professor of Cardiology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
24. **Mina Hasanrezaei** MD, NeuroImmunology, School of Pharmacy, USA
25. **Saied Morteza Heidari** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. **Mansour karamooz** MD, Professor of Urology, California, USA
27. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics & Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
29. **Majid Khazaei** MD, PhD, Associate Professor of Medical Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
30. **Parvin Mahzooni** MD, Associate Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
31. **Majid Maleki** MD, Professor of Cardiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
32. **Mohammad Mardani** MD, Associate Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
33. **Atiye Moghisi** MD, Professor of Endocrinology, Endocrine and Metabolism Research Center, USA
34. **Mehdi Modares** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
35. **Hoshang Moein** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. **Fereydoun Nouhi** MD, Professor of Cardiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
37. **Mohammadreza Nourbakhsh** Associate Professor of Physiotherapy, USA
38. **Farzin Pourfarzad** Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands
39. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. **Hassan Razmju** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. **Mohammad Reza Safavi** MD, Assistant Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
42. **Reza Rouzbahani** MD, MPH, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
43. **Mansour Sholevar** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
44. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 291, 4th week, August 2014

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

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

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:

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

Telefax: +98 311 7922291

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

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

Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

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

Telefax: +98 311 6686302

E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexes

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

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

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